

Expertise scientifique collective CNRS-INRA

# Variétés végétales tolérantes aux herbicides

Effets agronomiques, environnementaux, socio-économiques

Rapport d'expertise

Michel Beckert, Yves Dessaux, Christophe Charlier, Henri Darmency, Claire Richard,  
Isabelle Savini, Anaïs Tibi (éditeurs)

Novembre 2011



**Responsables scientifiques :**

Michel Beckert - INRA, Président du centre de Clermont-Ferrand – Theix

Yves Dessaux - CNRS, ancien chargé de mission à l'Institut écologie et environnement (CNRS)

**Contacts:**

Michel Beckert : [michel.beckert@clermont.inra.fr](mailto:michel.beckert@clermont.inra.fr)

Yves Dessaux : [yves.dessaux@isv.cnrs-gif.fr](mailto:yves.dessaux@isv.cnrs-gif.fr)

Anaïs Tibi : [anaïs.tibi@paris.inra.fr](mailto:anaïs.tibi@paris.inra.fr)

**Directeur de la publication :**

Philippe Chemineau – INRA, Directeur de la délégation à l'Expertise scientifique, à la Prospective et aux Etudes (DEPE)

Le rapport d'expertise a été élaboré par les experts scientifiques sans condition d'approbation préalable par les commanditaires, le CNRS ou l'INRA. La synthèse a été validée par les auteurs du rapport.

Ces documents sont disponibles sur les sites web institutionnels du CNRS ([www.cnrs.fr](http://www.cnrs.fr)) et de l'INRA ([www.inra.fr](http://www.inra.fr)).

**Pour citer ce document :**

M. Beckert, Y. Dessaux, C. Charlier, H. Darmency, C. Richard, I. Savini, A. Tibi (éditeurs), 2011. *Les variétés végétales tolérantes aux herbicides. Effets agronomiques, environnementaux, socio-économiques*. Expertise scientifique collective, rapport, CNRS-INRA (France).



## Sommaire du rapport

|  |     |
|--|-----|
| Avant-propos.....  | 3   |
| Chapitre 1. Cadrage, éléments de contexte et structuration de l'ESCo.....  | 5   |
| Chapitre 2. Obtention de VTH et évaluation de leurs propriétés.....  | 27  |
| Chapitre 3. Utilisation des VTH et ses effets sur l'agroécosystème.....  | 109 |
| Chapitre 4. Conséquences de l'utilisation des VTH en termes de contamination chimique de l'environnement.....                                      | 277 |
| Chapitre 5. Conditions économiques, juridiques et sociales au développement des VTH.....   | 327 |
| Chapitre 6. Conclusions de l'ESCo.....   | 399 |
| Glossaire.....   | 413 |
| Index des abréviations.....  | 419 |
| Annexe 1. Cahier des charges de l'ESCo VTH.....  | 420 |
| Annexe 2. Classification HRAC des herbicides.....  | 424 |
| Annexe 3. Extraits de la Directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement..... | 427 |

## Avant-propos

L'arrivée après-guerre des herbicides chimiques de synthèse a considérablement facilité la conduite des cultures par la réduction de la concurrence des adventices permettant une augmentation du rendement et la mécanisation de la récolte. L'utilisation de traitements herbicides présente cependant un risque de phytotoxicité pour les plantes cultivées. L'industrie phytopharmaceutique recherchait donc des molécules sélectives désherbant avec une efficacité maximale tout en affectant le moins possible la culture. Depuis quelques années, une alternative à la recherche de nouvelles familles et molécules d'herbicides consiste en l'adaptation génétique des variétés cultivées aux substances actives existantes. Des sélectionneurs proposent ainsi, depuis une quinzaine d'années, des variétés tolérantes à un herbicide particulier (ou à une famille d'herbicides) – généralement à large spectre – qui peuvent être commercialisées sous la forme d'un kit variété-herbicide associé.

Les obtenteurs de ces variétés tolérantes à des herbicides (VTH) présentent le trait génétique de tolérance à un herbicide (TH) comme attractif pour l'agriculteur, notamment en termes de facilité d'utilisation et d'efficacité agronomique des herbicides associés. Ils soulignent également la possibilité de traiter une culture déjà développée, qui permet d'adapter le désherbage chimique à la flore adventice effectivement présente dans la parcelle, c'est-à-dire de ne traiter qu'en cas de besoin, et donc *a priori* moins que par traitement préventif systématique. Enfin, ils mettent également en avant au plan environnemental le fait que certains herbicides associés à ces variétés présenteraient un profil écotoxicologique plus favorable que les herbicides habituellement utilisés.

L'autorisation de la culture de VTH pose la question des modalités de l'évaluation de ces variétés dont le statut réglementaire diffère selon le mode d'obtention. Ces critères d'évaluation peuvent être définis au regard des divers impacts que peuvent avoir l'obtention et l'utilisation des VTH, tant du point de vue agronomique et environnemental qu'économique et juridique.

### Contexte de la demande d'expertise et questions posées à l'INRA et au CNRS

A l'échelle mondiale, les obtentions revendiquant le trait TH sont soit des variétés transgéniques, soit des variétés obtenues sans recours à la transgénèse, issues d'individus porteurs de mutations spontanées ou induites. En France, les VTH qui font actuellement l'objet de demandes d'inscription au Catalogue officiel des espèces et variétés sont obtenues à partir de la sélection de mutants spontanés ou induits. Bien que la mutagenèse soit considérée comme une méthode de modification génétique par la Directive européenne 2001/18/CE qui encadre la procédure d'autorisation de dissémination volontaire et de mise sur le marché des organismes génétiquement modifiés (OGM), les variétés obtenues par cette technique sont exclues de son champ d'application, et donc soumises aux mêmes procédures d'évaluation que les variétés obtenues par amélioration variétale conventionnelle. Par ailleurs, ces VTH issues de mutants naturels ou induits commencent à faire l'objet d'une contestation sociale comme en témoignent les récents événements de fauchage de tournesols mutants TH en 2009, 2010 et à l'été 2011.

Dans ce contexte, les pouvoirs publics et instances d'évaluation français s'interrogent sur les perspectives de développement des VTH issues de mutation spontanée ou induite. Les ministères en charge de l'Agriculture et de l'Ecologie souhaitent disposer d'éléments d'analyse sur leurs effets réels et de long terme, et leur compatibilité avec les politiques à visée environnementale, notamment le plan de réduction d'utilisation des pesticides (Ecophyto 2018). L'INRA et le CNRS ont réalisé à leur demande une expertise scientifique collective (ESCo<sup>1</sup> - Encadré 1) portant sur les impacts directs et indirects de l'utilisation du trait TH aux plans agronomique, environnemental, socio-économique et juridique – les impacts éventuels sur la santé humaine (et donc le volet toxicologique) étant exclus du champ de cette ESCo. Le CNRS, l'INRA, et les commanditaires, se sont accordés sur le cadrage de cet exercice formalisé dans le cahier des charges figurant en Annexe.

La question centrale de l'ESCo est celle de l'**efficacité agronomique de la stratégie TH**, usage couplé d'une VTH et de son herbicide associé, à court, moyen et long termes. Les effets de la culture de VTH vont dépendre du type d'herbicide auquel la variété est rendue tolérante, de l'espèce cultivée concernée et des systèmes de

---

<sup>1</sup> [http://www.inra.fr/l\\_institut/expertise](http://www.inra.fr/l_institut/expertise)

culture en jeu, mais également de l'ampleur de l'adoption de la VTH, qui est aussi fonction des conditions socio-économiques et juridiques.

L'expertise vise à éclairer les possibles effets de la culture de VTH dans un contexte européen, c'est-à-dire pour des variétés non transgéniques et des systèmes de culture et un cadre socio-économique particuliers. Mais l'ESCO, exercice fondé sur l'analyse des publications scientifiques certifiées, est tributaire de l'existence de travaux académiques consacrés au sujet. Or les VTH les plus étudiées et documentées sont des variétés transgéniques cultivées en Amérique du Nord, où les recherches bénéficient d'un recul de 15 ans de leur culture sur une part très importante des surfaces agricoles. L'effort de recherche consenti sur les variétés transgéniques tient aussi aux débats que suscite le développement des OGM. La transposition des résultats obtenus outre-Atlantique peut être immédiate pour certains résultats (par exemple des mécanismes biologiques), ou discutée pour d'autre en fonction du contexte européen.

# Chapitre 1.

## Cadrage, éléments de contexte et structuration de l'ESCo

**Auteurs :**

Isabelle Savini

Anais Tibi

## Sommaire

|  |    |
|--|----|
| Sommaire du rapport.....   | 2  |
| Avant-propos .....   | 3  |
| Chapitre 1.....  | 5  |
| Cadrage, éléments de contexte et structuration de l'ESCO .....                               | 5  |
| Auteurs : .....  | 5  |
| Sommaire.....  | 6  |
| 1.1. Méthodologie de l'ESCO .....  | 7  |
| 1.1.1. L'ESCO, principes et méthodes .....   | 7  |
| 1.1.2. Le groupe de travail de l'ESCO "variétés tolérantes aux herbicides" .....             | 8  |
| 1.1.3. Qualification des sources bibliographiques académiques et "grises" .....              | 9  |
| 1.2. Cadres de référence et périmètre de l'ESCO.....   | 11 |
| 1.2.1. Le trait TH : définition et origines.....   | 11 |
| 1.2.2. Les espèces végétales concernées.....   | 13 |
| 1.2.3. Les herbicides concernés.....   | 13 |
| 1.2.4. Les principales VTH actuellement commercialisées et leur adoption dans le monde ..... | 16 |
| 1.3. Structuration de l'analyse .....  | 20 |
| 1.3.1. Objectifs de l'ESCO.....  | 20 |
| 1.3.1. Méthode d'analyse adoptée par les experts (facteurs, mécanismes, impacts).....        | 20 |
| 1.3.2. Structure du rapport.....   | 21 |
| 1.3. Méthodologie de constitution du corpus bibliographiques .....                           | 23 |
| Références citées dans le Chapitre 1.....  | 26 |



## 1.1. Méthodologie de l'ESCO

La présente ESCo a été réalisée conjointement par le CNRS et l'INRA, en adoptant les principes et la méthode retenus par l'INRA. L'activité d'ESCO développée depuis 2002 à l'INRA se définit comme une activité d'analyse et d'assemblage de connaissances produites dans des champs très divers du savoir et pertinentes pour éclairer l'action publique. La mission d'expertise de la recherche en appui aux politiques publiques a été réaffirmée par la loi d'orientation de la recherche (2006). L'apport d'argumentaires scientifiques à l'appui de positions politiques est désormais une nécessité dans les négociations internationales. Or les connaissances scientifiques sont de plus en plus nombreuses, et produites dans des domaines très variés, difficilement accessibles en l'état aux décideurs.

### 1.1.1. L'ESCO, principes et méthodes

#### • La charte de l'expertise scientifique à l'INRA

Cette activité est encadrée par une charte INRA<sup>2</sup> qui énonce des principes d'exercice, dont le respect garantit la robustesse des argumentaires produits. Cette charte fonde l'exercice sur quatre principes : la compétence, la pluralité, l'impartialité et la transparence.

- La compétence se décline d'abord au niveau de l'institution INRA qui ne traite des questions d'expertise que dans son domaine de compétences. Ce principe de compétences s'applique aux experts qui sont qualifiés sur la base de leurs publications scientifiques, et également à la conduite des expertises dans le respect de la méthode définie par l'INRA.

- La pluralité s'entend comme l'approche pluridisciplinaire des questions posées qui associe les sciences de la vie et les sciences humaines et sociales pour une mise en perspective des connaissances. La pluralité des domaines de recherches et des points de vue disciplinaires vise à stimuler le débat et contribue à favoriser l'expression de la controverse et de l'exercice critique. La pluralité se manifeste également dans la diversité des origines institutionnelles des experts.

- Le principe d'impartialité est garanti par une déclaration d'intérêts remplie par chaque expert et qui permet de faire état de ses liens éventuels avec des acteurs socio-économiques, ainsi que par la pluralité du collectif d'experts.

- Enfin, le respect de la transparence se traduit dans la production de documents d'analyse et de synthèse mis à disposition de tous.

L'ESCO est une activité d'expertise institutionnelle, régie par la charte nationale de l'expertise à laquelle le CNRS et l'INRA ont adhéré en 2011.

#### • Définition et fonctionnement de l'ESCO

L'ESCO consiste à répondre à une question complexe posée par un commanditaire public en établissant un état des lieux des connaissances scientifiques académiques dont sont extraits et assemblés les éléments pertinents. Les questions adressées à l'INRA sont énoncées dans un cahier des charges qui est le résultat d'une itération entre les commanditaires et le groupe d'experts, fixant les limites et le contenu de l'expertise. Un comité de suivi, réuni à l'initiative des commanditaires, sert d'interface entre les experts et les commanditaires et est régulièrement informé de l'avancée des travaux.

Les experts rédigent chacun une contribution faisant état des références bibliographiques utilisées. L'ensemble des contributions forment le présent rapport d'expertise diffusé en ligne sur le site des instituts porteurs de l'exercice. Les experts sont responsables du rapport.

L'INRA s'engage sur les conditions dans lesquelles se déroule le processus d'expertise : qualité du travail documentaire de mise à jour des sources bibliographiques, transparence des discussions entre les experts, animation du groupe de travail et rédaction des documents de synthèse et de communication sous une forme qui concilie rigueur scientifique et lisibilité par un public large.

<sup>2</sup> [http://www.inra.fr/l\\_institut/expertise/eclairer\\_la\\_decision\\_publicue/charte\\_de\\_l\\_expertise\\_scientifique\\_collective](http://www.inra.fr/l_institut/expertise/eclairer_la_decision_publicue/charte_de_l_expertise_scientifique_collective)

L'ESCo ne fournit pas d'avis, ni de recommandations, ni de réponses pratiques aux questions qui se posent aux gestionnaires. Elle réalise un état des connaissances le plus complet possible des impacts liés à l'obtention et à l'utilisation des VTH, à travers une approche pluridisciplinaire associant sciences du vivant et sciences économiques et sociales. Elle met en relief les problématiques spécifiques à ces variétés.

A ce jour, sept ESCo ont été conduites par l'INRA : "Stocker du carbone dans les sols agricoles de France ?", "Pesticides, agriculture et environnement" avec le Cemagref, "Sécheresse et agriculture", "Les fruits et légumes dans l'alimentation", "Agriculture et biodiversité", "Douleurs animales", "Les comportements alimentaires"<sup>3</sup>.

### 1.1.2. Le groupe de travail de l'ESCo "variétés tolérantes aux herbicides"

Une quinzaine d'experts chercheurs français d'origines institutionnelles diverses (INRA, CNRS, Universités...) ont été mobilisés pour l'ESCo VTH. Leurs compétences relèvent de l'agronomie, de l'écologie, de la chimie des herbicides, de la génétique, de l'économie, de la sociologie, du droit... Le présent rapport d'expertise est étayé par un corpus bibliographique de plus de 1400 références, constitué par trois professionnels de l'information scientifique et technique (INRA et INIST-CNRS), et composé essentiellement d'articles scientifiques auxquels se sont ajoutés données statistiques, ouvrages, brevets et rapports techniques (Encadré 2). Les experts en ont extrait, analysé et assemblé les éléments pertinents pour éclairer les questions posées.

#### • Le collectif d'experts

*Responsables de la coordination scientifique*

Michel Beckert, INRA, Président du centre de Clermont-Ferrand – Theix

Yves Dessaux, ISV\*-CNRS, ancien chargé de mission à l'INEE\* (CNRS)

*Contributeurs<sup>4</sup>*

Gérard Arnold, CNRS, Chargé de recherche au Laboratoire Evolution, Génomes et Spéciation (LEGS), Gif-sur-Yvette – *Ecologie des pollinisateurs*.

Marc Barbier, INRA-SAD\*, Directeur de recherche dans l'unité Sciences en Société (SenS), Grignon – *Sociologie des risques*.

**Michel Beckert<sup>5</sup>**, INRA, Directeur de recherche, Clermont-Ferrand - Theix – *Génétique végétale, amélioration des plantes*.

**Christophe Charlier**, Université Nice-Sophia Antipolis, Maître de conférences au sein du Groupe de Recherche en Droit, Economie, Gestion (GREDEG), Valbonne – *Economie agricole et de l'environnement*.

Nathalie Colbach, INRA-EA\*, Directrice de recherche dans l'unité Biologie et Gestion des Adventices (BGA), Dijon – *Agronomie des systèmes de culture, gestion des adventices*.

François Coléno, INRA-SAD, Chargé de recherche dans l'unité Sciences, Action, Développement, Activités, Produits, Territoires (SAD-APT), Grignon – *Sciences de gestion, organisation des territoires agricoles*.

**Henri Darmency**, INRA-SPE\*, Directeur de recherche dans l'unité Biologie et Gestion des Adventices (BGA), Dijon – *Biologie et génétique des populations d'adventices*.

**Yves Dessaux**, CNRS, Directeur de recherche à l'Institut des sciences du végétal, Gif-sur-Yvette – *Ecologie microbienne du sol, biotechnologies*

Christian Gauvrit, INRA-SPE, Directeur de recherche dans l'unité Biologie et Gestion des Adventices (BGA), Dijon – *Phytopharmacie, résistances aux herbicides*.

<sup>3</sup> Les produits de ces exercices sont disponibles à l'adresse [http://www.inra.fr/l\\_institut/expertise/expertises\\_realisees](http://www.inra.fr/l_institut/expertise/expertises_realisees)

<sup>4</sup> Pour chaque expert sont indiqués l'organisme d'appartenance et les compétences thématiques mobilisées dans l'ESCo

<sup>5</sup> En gras : fonction de coordination

\* Entités INRA et CNRS : DEPE : Délégation à l'Expertise scientifique, à la Prospective et aux Etudes ; EA : Environnement et Agronomie ; INEE : Institut écologie et environnement ; INIST : Institut de l'information scientifique et technique ; ISV : Institut des sciences du végétal ; SAD : Sciences pour l'action et le développement ; SAE2 : Sciences sociales, agriculture et alimentation, espace et environnement ; SPE : Santé des Plantes et Environnement.

Christian Huyghe, INRA, Directeur de recherche, Lusignan – *Génétique végétale, amélioration des plantes*.

Jane Lecomte, Université Paris Sud, Professeur, Orsay – *Ecologie, biologie des populations*.

Valérie Le Corre, INRA-SPE, Chargée de recherche dans l'unité Biologie et Gestion des Adventices (BGA), Dijon – *Génétique des populations d'adventices, évolution des résistances aux herbicides*.

Stéphane Lemarié, INRA-SAE2\*, Directeur de recherche au sein du Laboratoire d'Economie Appliquée de Grenoble (GAEL), Grenoble – *Microéconomie, économie de l'innovation*.

Thierry Marteu, Université Nice-Sophia Antipolis, Maître de conférences au sein du Groupe de Recherche en Droit, Economie, Gestion (GREDEG), Nice – *Droit de la propriété intellectuelle*.

Patrick Mazellier, IUT de Périgueux, Professeur des universités au sein du Laboratoire d'Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (EPOC), Bordeaux – *Chimie environnementale, devenir des micropolluants dans l'eau*.

Isabelle Navarro, IRD, Chargée de recherche à l'Ecole Centrale Lyon, Laboratoire Ampère, Ecully – *Microbiologie*.

Mai-Anh Ngo, CNRS, Ingénieur de recherches au sein du Groupe de Recherche en Droit, Economie, Gestion (GREDEG), Valbonne – *Droit agroalimentaire*.

Francis Quétier, Université Evry, Enseignant-chercheur, Evry – *Génétique végétale, plasticité des génomes*.

**Claire Richard**, CNRS, Directrice de recherches au sein du Laboratoire de photochimie moléculaire et macromoléculaire (LPMM), Aubière – *Photochimie environnementale, dégradation des contaminants organiques*.

Cette liste n'inclut pas les chercheurs qui ont pu être sollicités par le groupe pour contribuer ponctuellement à la rédaction d'une section dans le rapport. Ces chercheurs sont cités dans les contributions écrites auxquelles ils ont apporté leur concours.

## • L'équipe projet

### *Conduite de l'exercice et logistique*

Fabienne Girard, INRA-DEPE\*, Paris : logistique

Isabelle Savini, INRA-DEPE, Paris : suivi du projet, rédaction et coordination éditoriale

**Anaïs Tibi**, INRA-DEPE, Paris : conduite du projet, rédaction et coordination éditoriale

Christine Vocoret, INRA-DEPE, Paris : logistique

### *Documentation : constitution du corpus et analyses bibliométriques*

Marie Devillers, INIST\*-CNRS, documentaliste, Vandœuvre-lès-Nancy.

**Eric Marchoux**, INRA, documentaliste, Lusignan.

Dominique Vachez, INIST\*-CNRS, documentaliste, Vandœuvre-lès-Nancy.

## 1.1.3. Qualification des sources bibliographiques académiques et "grises"

Les expertises scientifiques collectives s'appuient sur des sources dites "certifiées", essentiellement des publications scientifiques, mais pas seulement. Il convient donc de préciser ce qu'on entend par sources certifiées et quelles sont les caractéristiques de ces sources et les critères de certification.

La DEPE distingue sept types de sources bibliographiques. Les trois premières produisent des articles automatiquement inclus dans le corpus de l'ESCO :

1- publications scientifiques, originales ou de revues, provenant de revues scientifiques internationales à comité de lecture. Le comité de lecture constitue l'assurance de la certification.

2- publications en sciences humaines et sociales, originales ou de revues : journaux pas forcément tous répertoriés par l'Institute for Scientific Information (ISI®), mais inventoriés par le CNRS, IERIH ou l'AERES.

3- livres publiés par des éditeurs internationaux, dont on sait qu'ils disposent d'un comité de lecture efficace.

Cette liste est répertoriée explicitement par la DEPE<sup>6</sup>. Les publications faites dans des ouvrages non issus de cette liste ne sont pas certifiées et relèvent de la catégorie 4.

Bien qu'ils soient automatiquement inclus dans le corpus bibliographique initialement constitué par les documentalistes, les experts peuvent être amenés ne pas considérer certains de ces articles pour rédiger leur contribution, s'ils jugent qu'ils sont trop anciens pour que leurs conclusions soient encore valides, que la méthodologie de l'étude ne permet pas de donner des conclusions robustes, etc.

Les 4 types de sources suivantes ne sont pas automatiquement inclus dans le corpus de l'ESCo :

4- actes de congrès ainsi que les working papers (fréquents en SHS).

5- rapports de thèse et de mémoires soutenus par des étudiants français et/ou étrangers.

6- publications dites techniques, qui ne bénéficient pas de comité de lecture ou de révision par les pairs, et publications non indexées ISI.

7- enquêtes et documents issus d'actions collectives publiées (y compris sites Internet, blogs, etc.), mais qui n'ont pas fait l'objet d'une évaluation indépendante externe de(s) auteur(s).

C'est au groupe d'experts, sous la responsabilité des co-pilotes et avec l'aide des documentalistes, de certifier chaque référence considérée.

---

<sup>6</sup> Editions QUAE, CNRS Editions, Cambridge University Press, EDP Sciences, Editions Ellipses, Editions Hermann, Masson, Lavoisier (Tec & Doc), Presses Universitaires de France (PUF), CABI Publishing, Mundi-Prensa, Wageningen Academic Publishers, John Libbey Eurotext, Springer, Wiley-Blackwell, Karger, Elsevier, CRC Press, Maison des sciences de l'Homme, Odile Jacob, Belin.

## 1.2. Cadres de référence et périmètre de l'ESCo

### 1.2.1. Le trait TH : définition et origines

#### • La notion de "variété végétale tolérante à un herbicide" dans l'ESCo

Le terme VTH désigne des variétés de plantes cultivées caractérisées par la possession d'un trait génétique de tolérance (ou de résistance) à un herbicide ou certains herbicides (trait TH). Les cas suivants seront pris en compte systématiquement dans l'ESCo :

- trait revendiqué par les obtenteurs, donc soumis à évaluation au moment de la demande d'inscription,
- trait signalé par les obtenteurs, mais non soumis à évaluation lors de l'inscription.

Il existe d'autres cas que l'ESCo ne considère pas comme VTH, mais dont l'étude pourra être mobilisée comme sources d'info permettant d'éclairer des questions spécifiques :

- cas de **l'utilisation du trait TH en tant que marqueur** introduit avec le transgène d'intérêt (résistance aux maladies et ravageurs, composition adaptée à un usage particulier, dégradation retardée) pour faciliter le criblage des cellules ayant effectivement intégré le transgène.

Les travaux portant sur ces cas peuvent apporter un éclairage sur les questions d'impact de l'insertion de ce trait sur les performances de la plante.

- cas où **le trait TH est une caractéristique d'une espèce** ou d'un ensemble d'espèces, sur laquelle se fondent classiquement les programmes de désherbage. L'usage de désherbants anti-graminées sur des cultures dicotylédones, qui y sont naturellement résistantes, en est un exemple.

De tels cas peuvent permettre d'alimenter la réflexion sur les effets d'un couplage à grande échelle entre une culture et une molécule herbicide.

La notion de **variété tolérante à un herbicide** renvoie donc bien aux variétés cultivées dans lesquelles le trait TH a été introduit intentionnellement ; elle n'englobe pas la capacité propre d'une espèce à tolérer l'application d'un herbicide.

#### • "Tolérance" ou "résistance" ?

Les termes "tolérance" et "résistance" sont utilisés dans la littérature pour désigner la caractéristique d'une plante capable de survivre et de se reproduire après l'application d'un herbicide. Diverses définitions ont été proposées par des disciplines scientifiques différentes. Elles se fondent principalement sur la manière dont ce caractère est acquis ou sur les mécanismes biologiques de ce caractère.

Si le terme résistance est plutôt appliqué aux mauvaises herbes, le terme tolérance est généralement utilisé dans la description des variétés cultivées même lorsqu'il s'agit rigoureusement des mêmes mécanismes physiologiques. Si les deux termes sont utilisés fréquemment et parfois de manière indifférenciée, certaines disciplines scientifiques ont néanmoins proposé des définitions les distinguant. Les acceptations sont parfois opposées (Voir encadré 1-2).

Les obtenteurs des VTH utilisent le terme de "tolérance", repris pour cette raison dans l'ESCo pour désigner les variétés cultivées chez lesquelles le trait a été intentionnellement introduit. Les termes "résistance" ou "insensibilité" seront employés dans tous les autres cas (description des mécanismes, plantes sauvages présentant une résistance, microorganisme insensible à un herbicide, etc.).

#### • Origines du trait

L'individu porteur du caractère TH que l'on souhaite introduire dans une variété préexistante peut être :

- un mutant spontané capable d'hybridation avec l'espèce cultivée,
- un mutant induit par un traitement mutagène,
- un organisme (notamment phylogénétiquement éloigné de l'espèce cultivée) naturellement résistant à l'herbicide, qui nécessitera le recours aux techniques de transfert de gènes.

L'introduction du trait TH dans la variété s'effectue par une série de rétrocroisements visant à obtenir une lignée TH dont le génome comporte le moins de différences possibles avec la lignée préexistante.

## Encadré 1-2. "Tolérance" ou "résistance" à un herbicide ?

Henri Darmency, Valérie Le Corre

### En biologie des populations

Un premier couple de définitions, proposé en 1998 par la Weed Science Society of America, est basé sur le niveau taxonomique concerné (espèces / individus) et la notion d'évolution par sélection.

Le terme de **résistance** s'applique alors à des individus au sein d'une espèce. La résistance aux herbicides est la capacité héritée d'un petit nombre d'individus dans une espèce à survivre et se reproduire après exposition à une dose d'herbicide normalement létale pour le type sauvage. Chez les végétaux, la résistance peut résulter soit d'une mutation spontanée et être révélée sous l'effet de la pression sélective de l'herbicide, soit d'une mutation induite par des techniques de mutagenèse ou de génie génétique.

La **tolérance** est la capacité inhérente d'une espèce à survivre et se reproduire après exposition à un traitement herbicide. Cette définition implique qu'aucune sélection ou manipulation génétique n'a rendu la plante tolérante, et que le trait n'évolue pas sur des pas de temps compatibles avec l'évolution des pratiques agronomiques.

### En physiologie

Une seconde distinction, proposée par Baucom et Mauricio en 2004, est basée sur la nature du mécanisme et sur la notion de valeur sélective des individus porteurs du trait ("fitness" = nombre de descendants viables). Les termes y sont employés de la même manière qu'en écologie des interactions plantes-herbivores ou plantes-pathogènes.

La **résistance** à un herbicide est la capacité d'une plante à réduire ou supprimer les effets délétères qui peuvent lui être causés par cette substance, par exemple en la métabolisant ou en exprimant une protéine cible insensible.

La **tolérance** (ou compensation) est la capacité d'une plante à compenser les effets délétères d'un herbicide : la plante est capable de compenser les dommages infligés par l'herbicide (perte de biomasse par exemple) et, au terme de son cycle de vie, de produire au moins autant de semences (notion de fitness) qu'une plante non traitée. Comme la résistance, la tolérance peut être génétiquement variable entre individus d'une même espèce.

Dans la pratique cependant, la distinction entre résistance et tolérance semble délicate, car les mécanismes qui les sous-tendent sont potentiellement nombreux et difficiles à distinguer.

### En langage commun

A l'usage, le terme de résistance dénote un phénomène clair et net, alors que celui de tolérance renvoie à l'idée de progressivité ou de résistance moindre, dépendant des conditions du traitement (stade de la plante, conditions météorologiques, dose). Au champ, les agriculteurs et les techniciens n'utilisent que le terme "résistance" face à des adventices survivant au traitement herbicide, dont ils observent l'échec. Cet usage est repris parmi les experts et chercheurs, gouvernementaux, privés et industriels (par exemple, le groupe de travail de l'Association Française de Protection des Plantes sur ce sujet s'intitule GT Résistances). Le terme "insensible", ou plutôt "pas sensible", est réservé à l'état habituel de certaines espèces d'adventices non affectées par un herbicide donné. Pour le développement des VTH, les obtenteurs ont choisi d'utiliser le terme "tolérance", sans en expliciter les raisons.

L'objet de la demande initiale des commanditaires était les seules VTH obtenues par mutagenèse. Or les définitions précédentes et la difficulté de ne traiter que ce sous-ensemble des VTH à partir d'une littérature mondiale majoritairement orientée vers les VTH transgéniques, ont amené le groupe de travail à redéfinir l'objet de l'ESCo autour du **trait agronomique de la tolérance aux herbicides** (auxquels la famille botanique est normalement sensible), quelle que soit la manière dont il est introduit dans des variétés cultivées (méthodes de sélection traditionnelle, mutagenèse ou transgenèse).

Les **méthodes de sélection traditionnelle** s'entendent comme les procédés d'amélioration variétale uniquement basés sur des mécanismes mis en œuvre dans la nature : croisements sexués et sélection. Les termes "**modification génétique**" et "**OGM**" (organisme génétiquement modifié) sont utilisés au sens de la directive 2001/18 : ils recouvrent les modifications de l'ADN obtenues par mutagenèse, transgenèse ou fusion cellulaire, et les organismes qui en sont issus.

## 1.2.2. Les espèces végétales concernées

Les principales espèces végétales considérées dans l'ESCO sont les espèces de grandes cultures en climat tempéré qui ont fait l'objet de VTH : maïs, soja, blé, colza, tournesol, betterave, riz, chicorée/endive. Le tableau 1-1 récapitule les aires géographiques de culture de ces espèces végétales dans le monde, l'Union Européenne et la France, en 2009. Les figures 1-1 et 1-2 décrivent l'évolution et la répartition, sur le territoire français, des surfaces cultivées pour le maïs, le tournesol et le colza, les 3 espèces cultivées concernées à plus court terme par l'inscription de VTH aux Catalogues français et communautaire.

**Tableau 1-1.** Répartition des surfaces cultivées des principales espèces végétales considérées dans l'ESCO, aux échelles mondiale, européenne et française, en 2009

| Espèce                    | Surfaces cultivées   |  |  |
|---------------------------|--|--|--|
|                           | Monde<br>surface (ha)<br>principaux pays cultivateurs<br>(> 5% surface mondiale) | Union Européenne<br>surface (ha)<br>% surface mondiale | France<br>surface (ha)<br>% surface française terres<br>arables* |
| <b>blé</b>                | 225 622 452<br>Chine, Inde, Russie, UE, USA, Australie, Kazakhstan               | 25 629 514<br>(11,4%)                                  | <b>5 147 394</b><br>28,1%  |
| <b>maïs</b>               | 159 608 447<br>USA, Chine, Brésil, UE, Inde, Mexique                             | 8 399 475<br>(5,3%)                                    | <b>3 187 451</b><br>17,4%  |
| <b>riz</b>                | 158 300 068<br>Inde, Chine, Indonésie, Bangladesh, Thaïlande, Birmanie, Viêt Nam | 463 250<br>(0,3%)                                      | 23 888<br>0,1%   |
| <b>soja</b>               | 99 501 101<br>USA, Brésil, Argentine, Inde, Chine                                | 303 662<br>(0,3%)                                      | 43 746<br>0,2%   |
| <b>pomme de terre</b>     | 48 651 838<br>Chine, Russie  | 2 087 172<br>(4,3%)                                    | 162 593<br>0,9%  |
| <b>colza</b>              | 31 120 565<br>UE, Chine, Inde, Canada  | 6 488 848<br>(20,8%)                                   | <b>1 480 812</b><br>8,1%   |
| <b>tournesol</b>          | 23 716 835<br>Russie, UE, Ukraine, Argentine, Inde, Chine                        | 3 887 383<br>(16,4%)                                   | 724 848<br>3,9%  |
| <b>betterave sucrière</b> | 4 274 064<br>UE, Russie, USA, Allemagne, France, Turquie                         | 1 602 034<br>(37,5)                                    | 373 628<br>2%  |

Blé : inclut tendre et dur, de printemps et d'hiver; Maïs : inclut grain, semence, fourrage et ensilage; Colza : inclut de printemps et d'hiver.

\*Surface française des terres arables en 2009 : 18,33 millions d'hectares (Source : Agreste, Statistique agricole annuelle 2009)

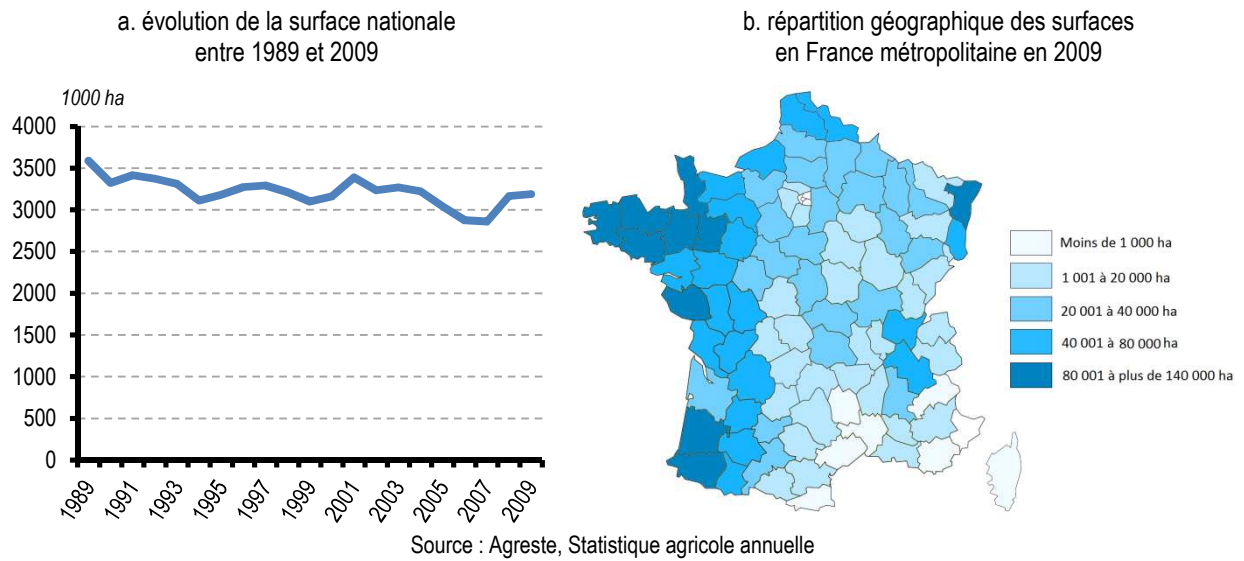
Source : FAO stats, interrogations en juillet 2011 - <http://faostat.fao.org>

## 1.2.3. Les herbicides concernés

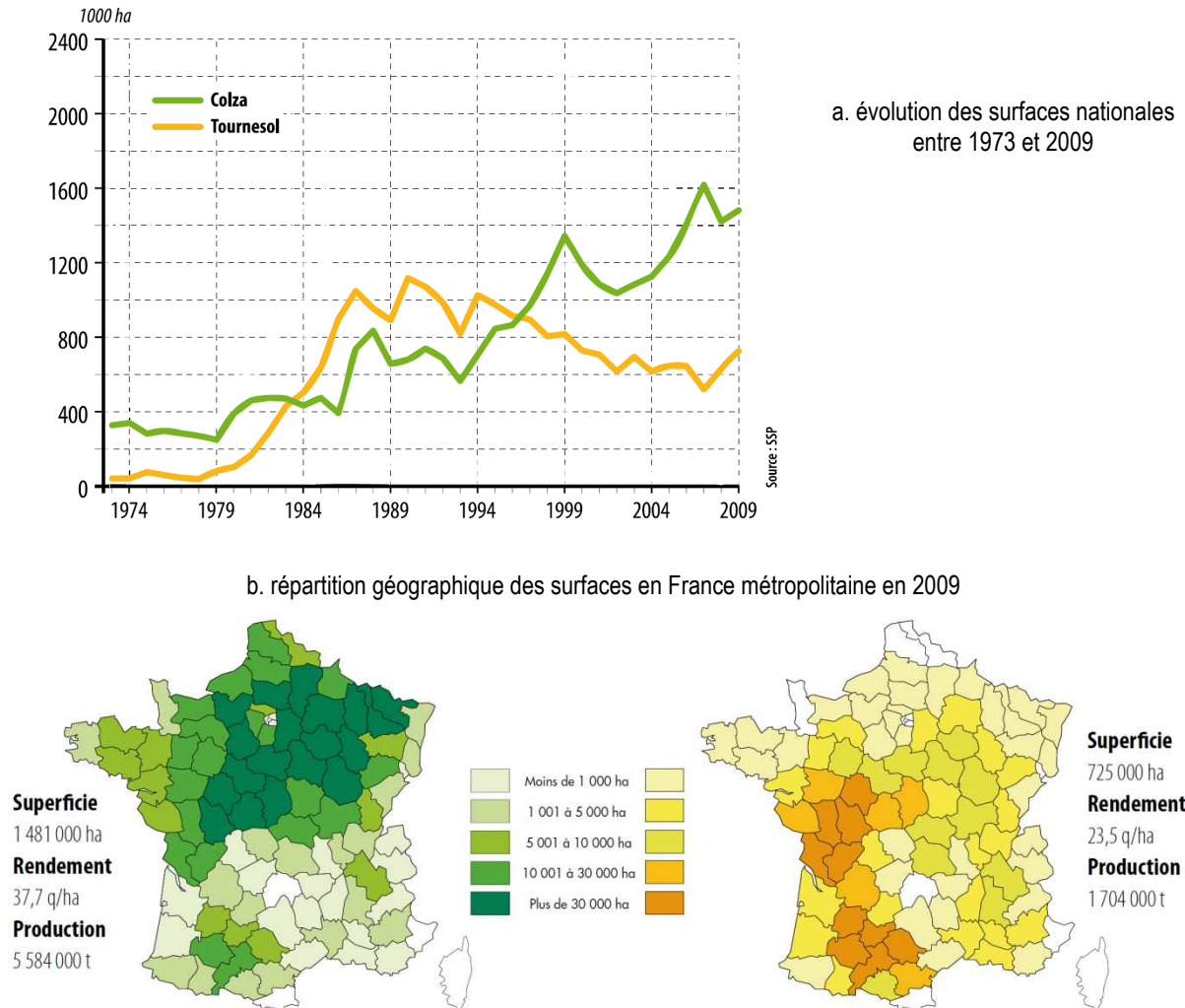
Les substances actives qui entrent dans la composition des herbicides sont classées par le Herbicide Resistance Action Committee (HRAC) sur la base de leurs modes d'action respectifs. Cette classification est reprise dans l'ESCO, et figure en annexe du présent rapport (cf. Annexe).

Les principaux herbicides utilisés avec des VTH se classent dans 7 familles de molécules, déjà préexistantes avant la commercialisation de VTH, et utilisées pour le désherbage de diverses cultures. Le tableau 1-2 récapitule pour ces 7 familles leur historique de commercialisation ainsi que leurs principaux usages en grandes cultures (hors VTH).

**Figure 1-1. Surface cultivée en maïs en France, entre 1989 et 2009**



**Figure 1-2. Surfaces cultivées en colza et en tournesol en France**



Source : Cetiom, Plaquette "Chiffres-clés 2009 Oléagineux France", mai 2010  
[http://www.cetiom.fr/fileadmin/cetiom/Chiffres\\_marches/onidol\\_chiffres\\_cles\\_2009.pdf](http://www.cetiom.fr/fileadmin/cetiom/Chiffres_marches/onidol_chiffres_cles_2009.pdf)



**Tableau 1-2.** Historique de commercialisation et d'utilisation des principales familles d'herbicides utilisées avec des VTH

| Familles d'herbicides (classe HRAC)                                      | Historique de commercialisation en France   | Mode de pénétration et niveau de migration des substances actives à l'intérieur de la plante | Principales utilisations en grandes cultures<br>Principales utilisations en grandes cultures de quelques herbicides actuellement autorisés en France   |   |
|--|---|--|--|---|
| Cyclohexane-diones (A)   | milieu des années 1970                      | pénétration foliaire<br>migration importante   | anti-graminées à large spectre utilisés dans une grande gamme de cultures<br>- cycloxydime : élimination des graminées (y compris repousses de céréales), grande sélectivité vis-à-vis des cultures dicotylédones. Notamment : betterave, colza, lin, pois, pomme de terre, soja, tournesol, riz (pré-semis)   |   |
| Sulfonyl-urées "SU" et Imidazolinones "IMI" (B)                          | fin des années 1970 / début des années 1980 | pénétration foliaire et racinaire<br>migration importante (herbicide systémique)             | contrôle d'un large spectre d'adventices dicotylédones et graminées dans les cultures de céréales, soja, maïs, betterave<br>"SU" :<br>- chloresulfuron : utilisé en mélange pour éliminer les dicots annuelles et vivaces dans le lin (applicable en post-levée de la culture)<br>- tribénuron-méthyle : antidicotylédones utilisé en avoine, seigle, blé, triticale, orge, tournesol et en mélange avec une autre sulfonyl-urée en post-levée des mêmes cultures (sauf tournesol)<br>"IMI" :<br>- imazamox : élimination des dicotylédones et graminées dans le soja, et en mélange dans les cultures de féverole, pois protéagineux, lentille (post-semis – pré-levée) |   |
| Triazines (C1)   | milieu des années 1950                      | pénétration racinaire<br>migration importante  | contrôle sélectif pré- et post-émergence des adventices dans les cultures de céréales, et les cultures non affectées par ces herbicides (cas de l'atrazine dans le maïs)   | Atrazine : large utilisation en maïs (variétés naturellement non affectées par cet herbicide) jusqu'à son interdiction en 2003  |
| Nitriles (C3)  | début des années 1960                       | pénétration foliaire<br>migration nulle (herbicide de contact)                               |  | Bromoxynil : antidicotylédones utilisé en maïs (utilisable en post-levée de la culture), millet, sorgho, lin, et aussi en mélange sur blé, orge, seigle, avoine, triticale. |
| Glycines (G)<br><i>seule molécule = glyphosate</i>                       | début des années 1970                       | pénétration foliaire<br>migration importante (herbicide systémique)                          | contrôle non sélectif des adventices en pré-semis ou post récolte des grandes cultures et zones incultes<br>Forte augmentation de l'utilisation dans les années 1990 (arrivée des variétés Roundup Ready®)<br>Molécule herbicide la plus utilisée depuis plus de 20 ans<br>traitements généraux : zones cultivées avant mise en culture, après récolte, avant récolte  |   |
| Acides phosphiniques (H)<br><i>seule molécule = glufosinate ammonium</i> | début des années 1980                       | pénétration foliaire<br>migration faible (herbicide de contact)                              | contrôle non sélectif des adventices en post-émergence<br>traitements généraux : zones cultivées, notamment avant la mise en culture   |   |

Sources : D'après Cobb et Reade, 2010 ; index phytosanitaire ACTA 2011

## 1.2.4. Les principales VTH actuellement commercialisées et leur adoption dans le monde

Sans faire la revue des VTH qui ont été ou sont actuellement commercialisées à l'échelle mondiale (cette question faisant l'objet du chapitre 2), 3 types de VTH sont actuellement majoritairement cultivés dans le monde. Ces variétés se distinguent par l'herbicide (ou la famille d'herbicides) auquel elles sont tolérantes.

A l'échelle mondiale, les VTH actuellement les plus développées (en termes d'offre aux agriculteurs et de surfaces cultivées) sont des variétés tolérantes à l'application d'un herbicide total qui permet d'éliminer théoriquement l'ensemble de la flore adventice en un seul passage. Ainsi, les variétés transgéniques tolérantes au glyphosate, qui constituent l'offre commerciale Roundup Ready® (RR®) développée par Monsanto, font l'objet de la majorité des publications scientifiques, et notamment des études visant à décrire leur adoption par les agriculteurs. Une autre offre de variétés transgéniques est développée par Bayer sous l'appellation LibertyLink® (LL®) : ces variétés sont tolérantes au glufosinate ammonium.

Par ailleurs, une large gamme de variétés non transgéniques (principalement de maïs, colza, riz, blé et tournesol) tolérantes à des herbicides sélectifs (de la famille des imidazolinones, classe B) sont proposées par BASF sous l'appellation commerciale Clearfield®.

Une seule comparaison chiffrée sur le long terme, entre adoption de variétés tolérantes à un herbicide total, variétés tolérantes à un herbicide sélectif et variétés non-TH, a été relevée dans la littérature.

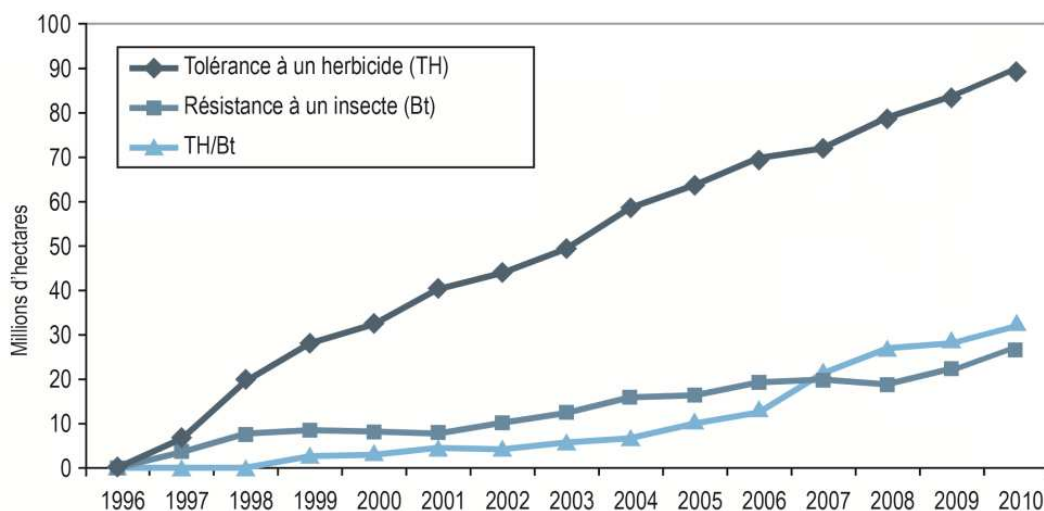
### • Adoption des VTH transgéniques tolérantes à un herbicide total

Les données qui étayent cette section proviennent de deux rapports faisant respectivement un état de l'adoption des variétés transgéniques dans le monde (Rapport ISAAA 2009), et un bilan de leur usage aux USA (Benbrook, 2009).

#### A l'échelle mondiale

Le trait TH est le trait le plus représenté chez les variétés transgéniques à l'échelle mondiale, et ce depuis leur introduction en 1996 (figure 1-3) : ces VTH représentaient 83% des cultures transgéniques en 2010 (soit environ 122 millions d'hectares (Mha) en incluant les variétés possédant un ou plusieurs autres caractères transgéniques), majoritairement situées aux USA, en Argentine et au Brésil.

**Figure 1-3.** Evolution des surfaces mondiales (Mha) en variétés transgéniques selon le trait d'intérêt, entre 1996 et 2010



Source : Rapport ISAAA, Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010. ISAAA

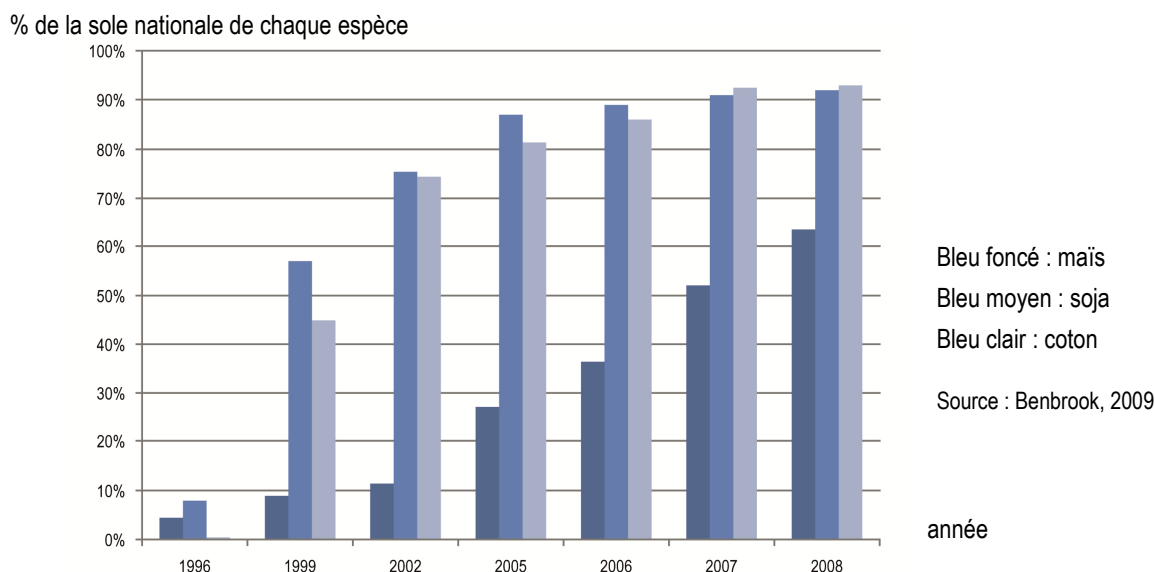
L'existence d'une offre en VTH transgéniques varie également selon les espèces cultivées. Les principales espèces pour lesquelles de telles VTH ont été obtenues sont le soja, le maïs, le coton et le colza.

Ces variétés sont tolérantes au glyphosate (offre RR®), plus rarement au glufosinate (offre LL®, seules concurrentes transgéniques actuelles des RR®). Le soja RR® est emblématique du succès commercial des VTH transgéniques établi sur une quinzaine d'années : en 2010, 81% des surfaces mondiales de soja étaient TH. Dans les 3 premiers pays cultivateurs, les variétés de soja RR® représentaient 99% des surfaces en Argentine, 93% aux Etats-Unis et environ 75% au Brésil.

#### *Dans certaines régions du monde*

Un récent bilan de 13 années de cultures transgéniques aux Etats-Unis décrit l'évolution de la part des VTH les plus représentées dans la sole nationale (figure 1-4).

**Figure 1-4.** Part de la sole cultivée en VTH transgéniques pour le maïs, le soja et le coton, aux Etats-Unis entre 1996 et 2008



Le soja, le coton et le maïs TH ont été introduits aux USA en 1996, représentant alors moins de 3 Mha. Leur culture a progressé très rapidement pour atteindre près de 53 Mha en 2008. Si le coton tolérant au bromoxynil a été cultivé depuis le milieu des années 1990 jusqu'en 2004 (date de fin de commercialisation), la très grande majorité des 3 VTH représentées en Figure 1-4 sont des RR®.

La betterave sucrière constitue par ailleurs un exemple d'adoption de VTH particulièrement rapide. La betterave RR® a connu l'adoption la plus rapide de toutes les variétés transgéniques aux USA, avec 59% d'adoption en 2008 (seconde année de culture), et 95% en 2010. Introduite la même année au Canada, elle y a connu un développement comparable (plus de 59% en 2008, 96% en 2009).

Enfin, une seule information concernant la culture de variétés tolérantes à un herbicide total en Europe a été relevée. Jusqu'en 2006, plus de 100 000 ha de soja RR® ont en effet été cultivés en Roumanie. A son entrée dans l'Union européenne en janvier 2007, la Roumanie a dû interrompre cette culture non approuvée pour la production dans l'Union.

#### **• Adoption des VTH issues de mutation spontanée ou induite, tolérantes à un herbicide sélectif**

Les variétés tolérantes à un herbicide sélectif ont connu jusqu'à présent une diffusion plus limitée. La majeure partie de ces VTH sont tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS : il s'agit de toute l'offre des variétés Clearfield® tolérantes aux imidazolinones (maïs, blé, riz, colza, tournesol) ainsi que du soja STS® tolérant aux sulfonyl-urées, dont les premières ont fait leur apparition sur le marché en 1992.

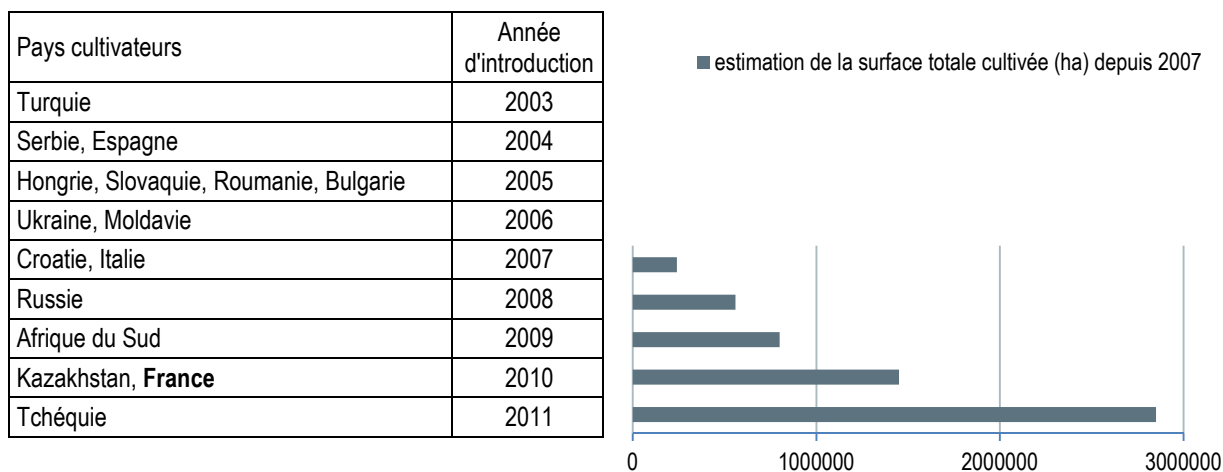
Les informations permettant de décrire et de quantifier leur adoption dans le temps et l'espace sont très rares. Une étude de marché citée dans le rapport de Benbrook (2009) estimait leur surface mondiale à environ 2,4 Mha en 2007, soit environ 2,5% des surfaces VTH tous modes d'obtention confondus.

Pour les Etats-Unis, des données USDA sur les variétés de blé semées sont disponibles pour quelques Etats : en 2011, les variétés Clearfield® représentent 32% des surfaces en blé tendre d'hiver dans l'Oregon, 23% dans l'Etat de Washington, 5% dans le Sud Dakota.

Pour l'**Europe**, les chiffres disponibles proviennent pour la plupart des sites internet des firmes obtentrices qui présentent une estimation des surfaces attendues ou effectivement cultivées. Les seules données chiffrées sur l'adoption actuelle concernent le tournesol tolérant aux inhibiteurs de l'ALS, sans qu'il soit possible de connaître la manière dont ces surfaces ont été mesurées ou estimées.

BASF indique ainsi sur son site commercial les surfaces cultivées en Tournesol Clearfield® depuis son introduction dans divers pays européens (Figure 1-6).

**Figure 1-6.** Années de lancement dans les pays de la zone Europe élargie et surfaces totales cultivées en tournesol Clearfield® depuis 2007



Source <http://www.agro.basf.fr/fr/common/tiles/static.jsp?page=825040&pageId=825040>

Le Cetiom<sup>7</sup> indique quant à lui que les tournesols TH Clearfield® tolérants à l'imazamox (Pulsar 40 - BASF) et Express Sun® tolérants au tribénuron méthyl (Express SX® - DuPont) ont couvert en Europe (Espagne, Turquie, Grèce et pays de l'Est) plus d'un million d'hectares en 2009 et près de 2 millions d'hectares en 2010.

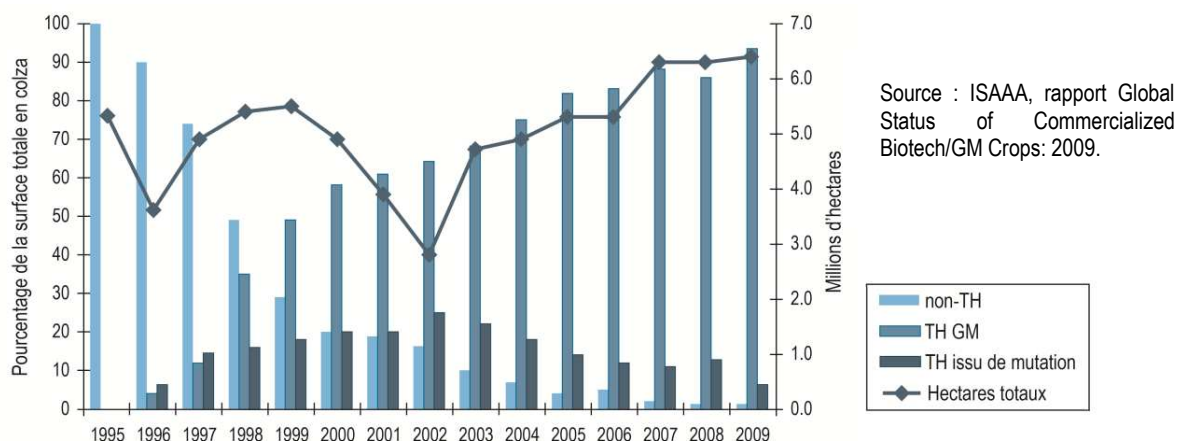
Pour la **France**, BASF et DuPont estiment que les variétés Clearfield® et Express Sun® ont couvert respectivement 20 000 et 15 000 ha en 2010, première année de culture de ces VTH après leur inscription au Catalogue communautaire, et 50 000 et 30 000 ha en 2011, soit environ 11% de la sole française de tournesol en 2011.

#### • Le cas du colza de printemps TH au Canada

Au Canada, l'offre de colza de printemps (canola) est variée. Depuis 1995 sont commercialisés 3 types de canola TH : tolérants au glyphosate (RR®), au glufosinate (LL®) et à un inhibiteur de l'ALS (Clearfield®). La Figure 1-7 présente les données de surfaces cultivées en canola au Canada entre 1995 et 2009, en distinguant ces divers types de variétés. Les modalités de collecte de ces données ne sont pas précisées.

<sup>7</sup> [http://www.tournesol-tolerant.cetiom.fr/gamme\\_varietale.htm](http://www.tournesol-tolerant.cetiom.fr/gamme_varietale.htm)

**Figure 1-7.** Pourcentages de colzas TH conventionnel, transgénique (RR® et LL®) et issu de mutation (Clearfield®) cultivés au Canada entre 1996 et 2009 (et surface totale en millions d'hectares)



Au Canada, le colza TH transgénique représente les plus grandes surfaces cultivées, et a connu une extension particulièrement forte. Depuis 2003, l'on constate une augmentation à la fois des superficies totales en colza, et de la part de VTH transgéniques dans ces surfaces. La Figure 1-7 met en évidence la forte diminution de la part du colza conventionnel (notamment entre 1995 et 2000) à l'arrivée des colzas TH, jusqu'à ne représenter en 2009 que 1% des surfaces de colza. Les VTH transgéniques et non-transgéniques apparues la même année ont connu un accroissement similaire entre 1996 et 1997. En revanche, leur dynamique d'adoption diffère dès 1998 : les VTH transgéniques ont connu une très forte adoption tandis que les VTH issues de sélection traditionnelle ou de mutagenèse semblent aujourd'hui connaître un déclin, après une adoption maximum en 2002. Si les chiffres semblent indiquer un glissement de l'offre VTH vers les variétés tolérantes à un herbicide total, aucune explication n'a été relevée dans la littérature.

## 1.3. Structuration de l'analyse

### 1.3.1. Objectifs de l'ESCo

L'objectif de cette ESCo est d'extraire les éléments de la littérature scientifique permettant d'examiner si les bénéfices revendiqués de ces VTH – notamment la réduction de l'emploi des herbicides – sont réels et durables, techniquement possibles et effectivement obtenus sur le terrain et à grande échelle, s'ils ne sont pas annulés ou contrecarrés par des effets indirects, et si les risques invoqués apparaissent actuellement scientifiquement fondés. Les effets possibles de l'emploi des VTH sont à étudier à différentes échelles temporelles et spatiales, notamment pour prendre en compte les effets cumulatifs et/ou secondaires, liés à l'emploi massif de la VTH et/ou de l'herbicide auquel elle est associée.

Dans le cadre de l'ESCo, l'analyse de la littérature scientifique disponible a visé l'identification et l'évaluation des effets potentiels liés aux conditions de production et d'utilisation des VTH. Ces impacts finaux, agronomiques, environnementaux, socio-économiques ou juridiques, peuvent résulter d'effets directs de l'emploi de la VTH et de l'herbicide associé, mais aussi d'effets plus indirects, liés par exemple aux modifications des pratiques culturales et des choix de production induites ou permises par les VTH. Ces impacts peuvent différer selon les caractéristiques des VTH, de l'herbicide qui leur est associé et des systèmes de culture concernés.

L'ESCo ayant pour objectif d'analyser les effets de l'utilisation des VTH, les systèmes de production considérés comme référentiel sont ceux qui sont susceptibles d'adopter ces variétés, c'est-à-dire les systèmes conventionnels dont la gestion des adventices repose au moins en partie sur l'utilisation d'herbicides, qu'ils soient engagés ou non dans une démarche de réduction des intrants. Lorsqu'ils intègrent la stratégie d'utilisation couplée d'une VTH et de son herbicide associé, ces systèmes seront désignés comme "**système TH**".

L'évaluation des impacts de l'utilisation des VTH est confrontée à des questions non spécifiques au cas de ces variétés, notamment celles des effets des herbicides sur l'environnement ou de l'agriculture sur la biodiversité (par exemple les effets de certaines pratiques culturales comme le non-labour). La présente ESCo ne traite donc pas ces questions de façon exhaustive, et renvoie à d'autres ESCo déjà réalisées, notamment les ESCo "Pesticides" et "Agriculture et biodiversité". Par ailleurs, les effets des VTH sur la santé humaine sont exclus du cadre de l'ESCo.

### 1.3.1. Méthode d'analyse adoptée par les experts (facteurs, mécanismes, impacts)

Les impacts des VTH dépendent des conditions d'utilisations de ces variétés et des herbicides qui y sont associés. *A priori*, il ne semble donc pas possible de réaliser une analyse généraliste applicable à l'ensemble des couples VTH-herbicide. Un certain nombre de "facteurs" susceptibles d'influer sur l'existence et le niveau des différents impacts, ont ainsi été identifiés pour structurer l'analyse.

Plus précisément, les facteurs potentiellement déterminants pour différencier les situations de risque sont les suivants :

- les **caractéristiques de l'herbicide** (mode d'action, écotoxicité...) et ses conditions d'application (doses, stade de développement de la culture, matériel de pulvérisation...),
- les **mécanismes biologiques de la résistance** (contournement de l'action de l'herbicide par les plantes),
- les **techniques d'obtention** de la VTH (utilisées actuellement ou envisageables),
- les **caractéristiques biologiques de l'espèce cultivée** concernée (biologie de la reproduction...),
- ses **caractéristiques technico-économiques** (place/fonction dans les rotations culturales, part dans les assolements régionaux, usage, poids dans les filières économiques...),
- les **caractéristiques du système de culture et de production** dans lequel s'insère la culture TH,
- les **conditions de diffusion de la VTH** (stratégie de la firme obtentrice, réglementation, stratégie de l'agrofourniture, coût des traitements...).

Chaque facteur influe sur l'existence et le niveau d'un impact par le biais d'un "mécanisme". Par exemple : les caractéristiques biologiques des espèces cultivées jouent sur la diffusion du trait TH via les mécanismes de croisements possibles entre plantes apparentées à la culture ; les caractéristiques physico-chimiques des herbicides influent la contamination chimique de l'environnement par le biais des mécanismes de transferts et transformation des herbicides dans le sol.

En résumé, l'analyse bibliographique réalisée par les experts croise chaque type d'impacts de la "fabrication" et de l'"utilisation" des VTH (impacts agronomiques, agro-environnementaux, environnementaux, socio-économiques et juridiques), avec ces "facteurs" potentiellement déterminants pour l'existence et le niveau des différents impacts (modes d'obtention des VTH, caractéristiques des herbicides utilisés...). A noter que tous les croisements ne sont pas pertinents. Par exemple, les caractéristiques biologiques de l'espèce cultivée ne jouent *a priori* aucun rôle dans l'effet des VTH en termes de contamination chimique de l'environnement).

Les mécanismes (biologiques, économiques...) qui font le lien entre facteurs et impacts, sont structurants pour l'analyse bibliographique.

### 1.3.2. Structure du rapport

Les résultats de l'analyse bibliographique sont structurés dans le rapport par niveau d'organisation étudié, qui diffère selon les types de mécanismes analysés et les disciplines mobilisées. C'est à l'issue de l'analyse de ces mécanismes que le groupe d'expert tire les conclusions en termes d'impacts agronomiques, agro-environnementaux, environnementaux, économiques, juridiques et sociaux.

*Rappel : le document de synthèse est structuré différemment et rapproche des éléments relevant de chapitres différents dans le rapport.*

Le **chapitre 2** se place à l'échelle de l'**organisme**, c'est-à-dire la plante cultivée TH ou l'adventice résistante à un herbicide. L'analyse de l'ensemble des mécanismes moléculaires et physiologiques liés à l'introduction du trait TH et au contournement de l'action herbicide par la plante vise à conclure sur les effets du trait sur les caractéristiques agronomiques de la plante (qualité, production).

Les disciplines mobilisées dans ce chapitre sont principalement la génétique, la biologie moléculaire et la physiologie.

Le **chapitre 3** se place à l'échelle de l'**agroécosystème** pris dans une acception large : il désigne ici les espaces agricoles - c'est-à-dire les surfaces cultivées et les espaces semi-naturels interstitiels - et l'ensemble des communautés végétales et animales qui les peuplent. En effet, pour certaines communautés, il paraît peu pertinent de séparer la parcelle de ses bordures. De plus, il s'avère difficile de tracer la limite entre les impacts agronomiques et les impacts environnementaux des VTH (par exemple, l'évolution de la flore adventice ou l'apparition de résistances relèvent des uns ou des autres, selon le point de vue). Opter pour une approche agroécosystémique permet d'examiner un certain nombre d'effets agro-environnementaux des VTH.

L'espace et le temps sont pris en compte à 2 échelles :

- la parcelle et ses abords sur un pas de temps court (réaction du système de culture sur quelques années) ; dans ce premier cadre, la gestion des communautés végétales par le biais des pratiques agricoles est centrale dans l'analyse des impacts de l'utilisation des VTH sur l'agroécosystème ;
- des espaces plus larges (le territoire agricole où des populations circulent) et des pas de temps plus longs (de l'ordre de la décennie) ; dans ce second cadre, les effets de l'utilisation des VTH sont abordés comme résultante des mécanismes biologiques de sélection, de diffusion et de réduction de populations dans les communautés végétales et les communautés animales associées.

Les disciplines mobilisées dans ce chapitre sont principalement la dynamique et la génétique des populations ainsi que, l'agronomie (fonctionnement du peuplement cultivé et de la flore adventice).

Le cadre d'analyse du **chapitre 4** est les **compartiments physico-chimiques de l'environnement**. Les mécanismes d'évolution physico-chimique des matières actives et leur transfert dans les différents compartiments sont déterminants dans l'évaluation de l'impact des VTH en termes de contamination de l'environnement.

La principale discipline mobilisée dans ce chapitre est la chimie de la dégradation.

Le **chapitre 5** se place aux échelles :

- de l'**exploitation agricole** : les mécanismes liés à la prise de décision de l'agriculteur en termes de coûts de production (intrants, quantité et organisation du travail) sont déterminants dans l'étude de l'adoption des VTH dans une approche technico-économique ;
- des **marchés** : les règles de la concurrence, l'application des droits de propriété, les stratégies des firmes influencent l'évolution de la structure du marché (en amont) ;
- de la **société** : les régulations politiques et la perception de la technologie TH par les citoyens ont des conséquences en termes d'évolution du marché et de sa structuration plutôt en aval.

Les disciplines mobilisées dans ce chapitre relèvent principalement des sciences humaines et sociales (économie, droit...).



## 1.4. Constitution et analyse du corpus bibliographiques

L'ESCo se fonde sur des références scientifiques internationales certifiées, ce qui explique que certains phénomènes, en particulier récents, ne puissent être renseignés, soit faute de travaux publiés, soit parce que les études disponibles ont été conduites dans des contextes trop éloignés des conditions observées en France. Par exemple, la majorité des surfaces cultivées en VTH étant des OGM en situation américaine, peu de travaux concernent les VTH non transgéniques introduites dans des systèmes de culture différents du modèle nord-américain. La transposition de résultats étayés outre atlantique n'est pas toujours possible en Europe.

Une première équation de recherche, croisant les notions de résistance/tolérance et d'herbicide, a permis de constituer un corpus initial de près de 13 000 références à partir de l'interrogation des grandes bases de données bibliographiques internationales. Un panorama des thématiques couvertes a ainsi été dressé et les principaux chercheurs spécialistes du domaine ont été identifiés.

Un travail d'itérations continu entre les documentalistes et les experts a été nécessaire afin d'extraire les documents pertinents, d'identifier les lacunes du corpus initial et de les combler, soit à l'aide de nouvelles équations de recherche définies avec les experts, soit avec de la bibliographie déjà en possession des experts sur les thématiques non spécifiques aux VTH. L'élaboration d'équations de recherche spécifiques aux classes d'herbicides et aux molécules et le recours à de nouvelles ressources ont permis d'enrichir le corpus et de couvrir les champs manquants. Plus de 1400 documents ont ainsi été sélectionnés par les experts et cités dans le rapport complet d'ESCo.

### 1.4.1. Principales sources d'information utilisées

Différentes bases de données bibliographiques internationales ont été interrogées : Web of Science, Science Direct, Pascal (bases multidisciplinaires), CAB Abstract (base thématique "agriculture"), Medline/Pubmed (base thématique "biomédicale"), Francis (base thématique "sciences sociales"), ainsi que des moteurs de recherche spécialisés en science tels que Scirus ou Google Scholar.

D'autres sources d'informations scientifiques et techniques ont également été utilisées : documents de l'AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, devenue ANSES), rapports de la Commission européenne, bases de données en ligne sur les herbicides...

### 1.4.2. Caractéristiques du corpus cité

Les analyses bibliométriques réalisées ont été limitées par la multiplicité et l'hétérogénéité des sources bibliographiques dont sont issues les références utilisées. Seuls les champs communs à toutes ces références ont pu être analysés.

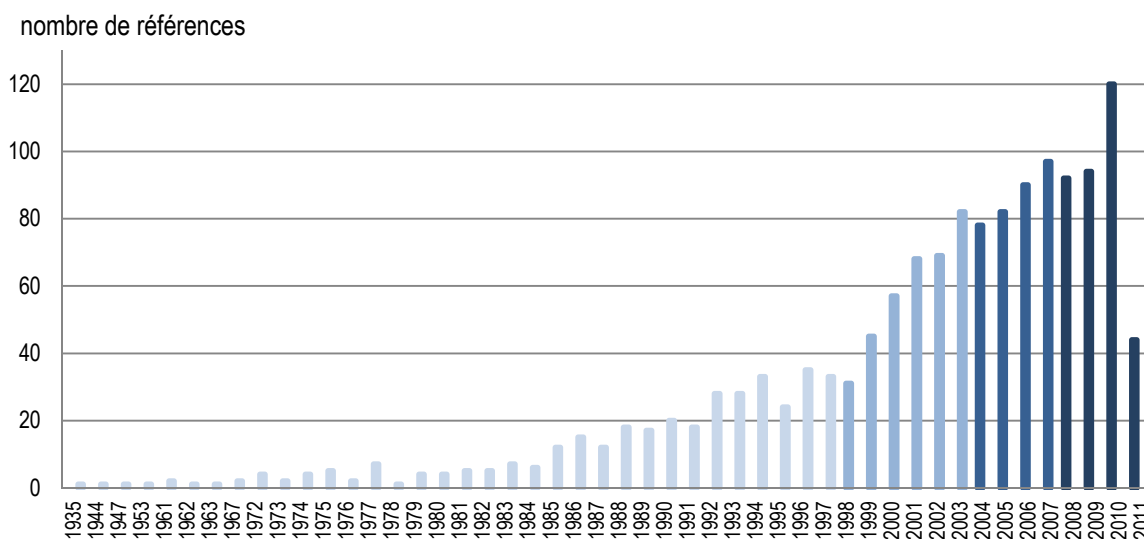
Des références récentes : plus de la moitié des références citées ont moins de 10 ans (publiées après 2003) et plus d'un quart datent des trois dernières années, comme en témoigne la figure 1-8 (chaque teinte représentant un quart des publications).

De plus, la majorité des références citées provient d'articles publiés dans des revues scientifiques (figure 1-9).

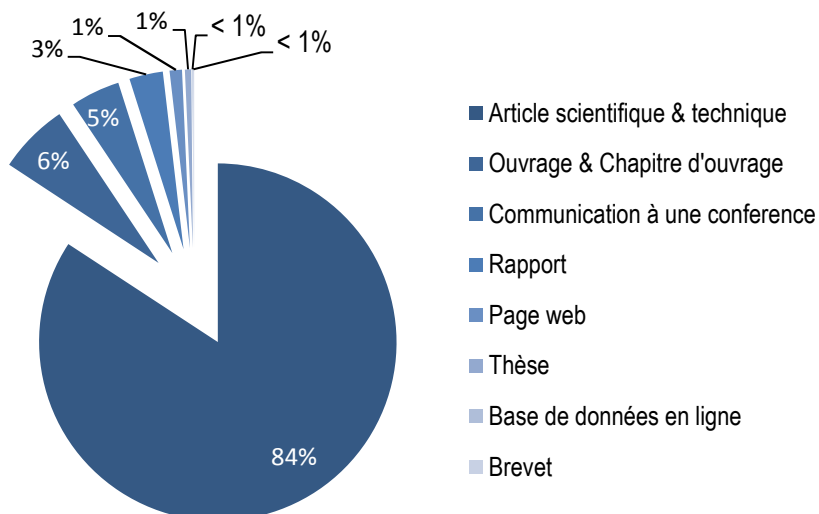
Un quart des articles cités sont issus de neuf revues :

- Weed science,
- Weed technology,
- Theoretical and applied genetics,
- Pest management science,
- AgBioForum,
- Weed research,
- Agriculture ecosystems & environment,
- Journal of applied ecology,
- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.

**Figure 1-8.** Répartition des références citées par date de publication

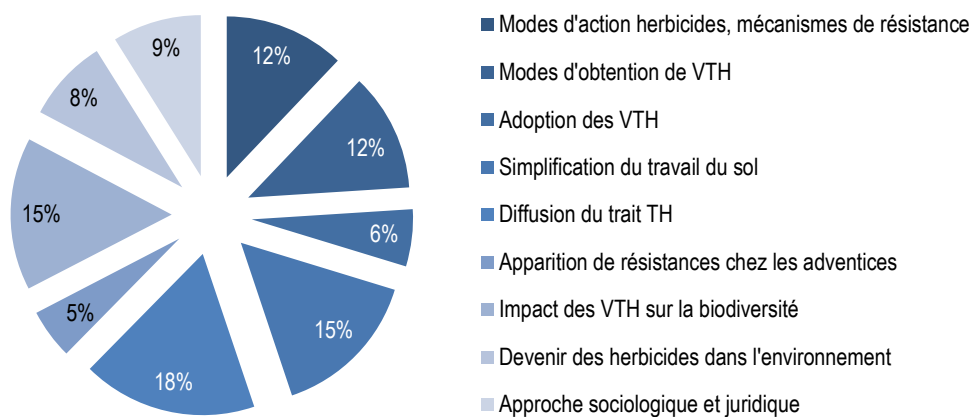


**Figure 1-9.** Types de références citées



Enfin, la répartition des références est relativement équilibrée, entre les 9 thématiques scientifiques qui structurent le rapport d'ESCo et la synthèse (Figure 1-10).

**Figure 1-10.** Répartition des références citées entre les principales thématiques scientifiques structurant le rapport





## Références citées dans le Chapitre 1

- Agreste - Service de la Statistique et de la prospective du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du Territoire, Statistique agricole annuelle 2009. <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/>
- Association de Coordination Technique Agricole. Index Phytosanitaire ACTA 2011 – 47<sup>e</sup> édition. 900p.
- BASF, Dossier en ligne Clearfield®  
[http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_oleagineux/le\\_tournesol/les\\_herbi/dossier\\_clearfield.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_oleagineux/le_tournesol/les_herbi/dossier_clearfield.html)
- Baucom RS, Mauricio R. 2004. Fitness costs and benefits of novel herbicide tolerance in a noxious weed. Proc Natl. Acad. Sci. USA 101:13386-13390.
- Benbrook, C. 2009. Impacts of Genetically Engineered Crops on Pesticide Use: The First Thirteen Years. The Organic Center, Critical Issue Report.
- Cetiom, Plaquette "Chiffres-clés 2009 Oléagineux France", mai 2010.  
[http://www.cetiom.fr/fileadmin/cetiom/Chiffres\\_marches/onidol\\_chiffres\\_cles\\_2009.pdf](http://www.cetiom.fr/fileadmin/cetiom/Chiffres_marches/onidol_chiffres_cles_2009.pdf)
- Cetiom, Dossier en ligne "Tournesol tolérant". [http://www.tournesol-tolerant.cetiom.fr/gamme\\_varietale.htm](http://www.tournesol-tolerant.cetiom.fr/gamme_varietale.htm)
- Cobb, A.H., Reade, J.P.H. 2010. Herbicides and Plant Physiology – 2<sup>nd</sup> edition. Eds Wiley-Blackwell, 286p.
- FAO stats, <http://faostat.fao.org>
- James, Clive. 2009. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2009. ISAAA Brief No. 41. ISAAA: Ithaca, NY.  
<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/41/default.asp>
- Weed Science Society of America. 1998. "Herbicide resistance" and "herbicide tolerance" defined. *Weed Technology* 12 (4), 789. <http://www.wssa.net/Weeds/Resistance/definitions.htm>

## Chapitre 2.

# Obtention de VTH et évaluation de leurs propriétés

**Coordinateur :**

Yves Dessaux

**Contributeurs :**

Henri Darmency

Yves Dessaux

Christian Gauvrit

Christian Huyghe

Francis Quétier

# Sommaire

|   |           |
|---|-----------|
| Introduction.....   | 30        |
| <b>2.1. Mécanismes d'action des herbicides et mécanismes de la résistance .....</b>                               | <b>32</b> |
| <b>2.1.1. Mécanismes d'action des herbicides.....</b>   | <b>32</b> |
| 2.1.1.1. Herbicides de la classe A : des inhibiteurs de l'acétyl coenzyme A carboxylase .....                     | 32        |
| 2.1.1.2. Herbicides de la classe B : des inhibiteurs de l'acétolactate synthase.....                              | 32        |
| 2.1.1.3. Herbicides des classes C : des inhibiteurs du transfert d'électrons dans la chaîne photosynthétique..... | 33        |
| 2.1.1.4. Herbicide de la classe G : inhibiteur de l'enoyle pyruvyl shikimate 3-phosphate synthase .....           | 34        |
| 2.1.1.5. Herbicide de la classe H : inhibiteur de la glutamine synthase.....                                      | 34        |
| 2.1.1.6. Herbicides de classes O : une action "auxin-like" .....  | 35        |
| <b>2.1.2. Mécanismes de la résistance .....</b>   | <b>35</b> |
| 2.1.2.1. Acquisition de résistance aux herbicides chez les plantes sauvages.....                                  | 37        |
| 2.1.2.2. Herbicides de la classe A .....  | 37        |
| 2.1.2.3. Herbicides de la classe B .....  | 38        |
| 2.1.2.4. Herbicides des classes C .....   | 39        |
| 2.1.2.5. Herbicide de la classe G .....   | 39        |
| 2.1.2.6. Herbicide de la classe H.....  | 40        |
| 2.1.2.7. Herbicide de la classe O .....   | 41        |
| <b>2.1.3. Bilan.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>2.2. Modes d'obtention des variétés tolérantes aux herbicides.....</b>   | <b>43</b> |
| <b>2.2.1. Rappels sur les génomes végétaux.....</b>   | <b>43</b> |
| <b>2.2.2. Technologies d'obtention variétale actuelles .....</b>  | <b>44</b> |
| 2.2.2.1. Obtention de plantes tolérantes à un herbicide, issues de mutations .....                                | 44        |
| 2.2.2.2. Obtention de plantes tolérantes à un herbicide, issues de transformations .....                          | 52        |
| 2.2.2.3. Conséquences génétiques de l'insertion du trait.....   | 63        |
| <b>2.2.3. Technologies d'obtention variétale émergentes .....</b>   | <b>64</b> |
| 2.2.3.1. Les méthodes de transformation ciblée du génome nucléaire .....  | 64        |
| 2.2.3.2. L'identification à haut débit des mutations par TILLING .....  | 70        |
| <b>2.2.4. Bilan.....</b>  | <b>72</b> |
| <b>2.3. Effets de la tolérance aux herbicide sur la production végétale.....</b>                                  | <b>75</b> |
| <b>2.3.1. Potentiel de croissance des variétés tolérantes aux herbicides, en l'absence d'herbicides .....</b>     | <b>75</b> |
| 2.3.1.1. Variétés tolérantes aux herbicides de classe A.....  | 75        |
| 2.3.1.2. Variétés tolérantes aux herbicides de classe B.....  | 76        |
| 2.3.1.3. Variétés tolérantes aux herbicides de classe C.....  | 78        |
| 2.3.1.4. Variétés tolérantes à l'herbicide de classe G .....  | 79        |
| 2.3.1.5. Variétés tolérantes à l'herbicide de classe H.....   | 80        |
| 2.3.1.6. Variétés tolérantes aux herbicides de classe O .....   | 80        |
| 2.3.1.7. Variétés tolérantes aux herbicides d'autres classes.....   | 81        |

|  |            |
|--|------------|
| <b>2.3.2. Impacts sur la production.....</b>   | <b>81</b>  |
| 2.3.2.1. Les rendements.....   | 81         |
| 2.3.2.2. La fiabilité du système de tolérance.....   | 82         |
| 2.3.2.3. Les effets secondaires.....   | 83         |
| <b>2.3.4. Bilan.....</b>   | <b>83</b>  |
| <b>2.4. Conclusions générales.....</b>   | <b>86</b>  |
| Sur l'action des herbicides et les mécanismes de résistance.....   | 86         |
| Sur les modes d'obtention des VTH et leurs qualités agronomiques.....  | 87         |
| Sur le TILLING et la recombinaison homologue, deux ruptures technologiques aux conséquences agronomiques et potentiellement réglementaires fortes..... | 88         |
| <b>Références bibliographiques citées.....</b>   | <b>90</b>  |
| <b>Annexe. Résistances à un herbicide détectées chez des espèces adventices d'Europe.....</b>  | <b>105</b> |

## Introduction

Le présent chapitre vise principalement à décrire les mécanismes d'action des herbicides et les mécanismes des résistances à ces molécules, ainsi que les procédés d'obtention des variétés cultivées tolérantes aux herbicides. Conformément au cahier des charges, cette section traitera de la tolérance aux herbicides sans se limiter à un seul mode d'obtention, que celui-ci relève de l'amélioration variétale reposant sur l'introgression de mutations spontanées, ou de l'amélioration variétale impliquant une ou des étapes de mutagenèse ou une transformation génétique.

Présentant un socle de données centrales pour cette expertise, ce chapitre se situe donc en amont de ceux qui traiteront des impacts agro-environnementaux et socio-économiques liés à l'utilisation en production agricole de ces variétés. Il fournira cependant des éléments d'information relatifs aux conséquences pour le végétal de l'acquisition d'un trait de tolérance aux herbicides, particulièrement en termes de conséquences métaboliques et d'impacts qualitatif et quantitatif sur la production agricole.

L'expertise aborde la question de la résistance aux herbicides en général, mais elle concerne en premier lieu les VTH déjà connues et cultivées. Ce chapitre se concentrera donc sur les classes suivantes, qui contiennent les principales molécules associées à des VTH :

- classe A : familles des cyclohexanediones (ou "dims") et des aryloxyphénoxypropionates (ou "fops"),
- classe B : familles des sulfonyle-urées et des imidazolinones,
- classe C : bromoxynil,
- classe G : glyphosate,
- classe H : glufosinate,
- classe O : dicamba.

Ces "groupes" (familles, classes) sont définis par le Herbicide Resistance Action Committee (HRAC), organisme international dont le but est de soutenir des actions coordonnées en matière de gestion des résistances aux herbicides. Une classe regroupe des herbicides de différentes familles chimiques, mais possédant le même mode d'action, ce qui constitue une entrée pertinente pour discriminer un certain nombre de situations. L'ESCo a donc adopté la nomenclature du HRAC dans ses différents chapitres (voir tableau récapitulatif des classes et familles d'herbicides en annexe 2 de ce rapport)

Enfin, le cas d'école de l'atrazine (classe C) sera évoqué à différentes reprises, plusieurs études ayant été conduites pour évaluer l'effet du trait de tolérance à cet herbicide sur les rendements de certaines cultures. Par ailleurs, il s'agit d'une molécule qui a été associée à des VTH qui ne sont actuellement plus commercialisées, dont l'usage a cessé en Europe voilà plusieurs années, mais dont les effets de l'utilisation sont toujours perceptibles, ce qui fournit les informations pertinentes en termes de résilience des agro-écosystèmes (données détaillées au chapitre 4).

### Les questions traitées

Ce chapitre doit permettre de répondre à deux questions relatives au champ de la saisine : quelles sont les techniques d'obtention de VTH actuellement utilisées et quels sont les mécanismes biochimiques et modes d'action associés à cette tolérance. Derrière ces questions, un des multiples enjeux qui émerge est celui de la pérennité des systèmes de culture impliquant des VTH. Celle-ci pourrait en effet dépendre des modes d'action des herbicides, des fréquences d'apparition de mutations conférant la résistance, et des effets négatifs que ces mutations pourraient induire – par action sur le rendement de la culture – en absence de l'herbicide. Il s'agit donc là d'un premier examen des bénéfices de la culture de ces VTH, revendiqués par les obtenteurs.

Seront également présentées les évolutions technologiques actuelles et en cours de développement susceptibles de déboucher à terme sur de possibles applications en matière d'obtention de nouvelles VTH, même si certaines relèvent - pour le moment - des seuls procédés opérationnels au niveau du laboratoire. Ces nouvelles applications potentielles posent en effet un certain nombre de questions d'ordres scientifique, agronomique et juridique.



Ce chapitre permettra également de répondre - au moins en partie - à une troisième question, relative à l'induction de variations génétiques et phénotypiques non ciblées en lien avec les processus d'obtention des nouvelles VTH. L'enjeu, dans ce cas, est de préciser les risques de perturbations du génome induites par l'introduction de la tolérance à l'herbicide chez la plante, non détectées lors de la phase de sélection mais pouvant présenter des conséquences à moyen terme. Ces perturbations ne se limitent pas aux perturbations génomiques. Sont en effet examinées dans ce chapitre les conséquences de l'introduction du trait de tolérance aux herbicides en matière de rendement et de qualité des produits de récolte. La question des résidus d'herbicides au sein de la plante sera traitée au chapitre 4.

## La bibliographie

L'analyse des données bibliographiques a porté en partie sur le corpus de références issu des équations de recherche originelles présentées au chapitre 1. Cependant, ciblant les termes herbicides et résistance ou tolérance (sous leur forme anglaise), ces équations n'ont pu fournir d'informations plus générales sur certains aspects traités dans ce chapitre, qui ont nécessité des recherches complémentaires par des mots clefs comme mutagenèse ou transformation. A l'inverse, il s'est avéré que les équations originelles étaient trop génériques pour obtenir des informations détaillées sur certaines molécules ou familles d'herbicides bien précises, ce qui a conduit les rédacteurs de cette section à cribler de nouveau les bases de données bibliographiques au moyen des noms d'herbicides ou des classes. Par ailleurs, l'étude des mécanismes de résistance a également nécessité des recherches bibliographiques complémentaires, se fondant sur l'utilisation de mots clefs tels que le nom de l'enzyme cible et celui de la molécule herbicide.

A noter : certains brevets pertinents sont cités dans ce chapitre. Ils ont été obtenus *via* le moteur de recherche des bases de données de brevets en ligne "free patent online" (<http://www.freepatentsonline.com>) et "Google patent" (<http://www.google.com/patents>).

## 2.1. Mécanismes d'action des herbicides et mécanismes de la résistance

Yves Dessaux, Christian Gauvrit

Dans cette section, sont décrits les mécanismes d'action des herbicides et les mécanismes de résistance connus chez les végétaux, mais aussi chez d'autres organismes, dans la mesure où ces derniers constituent une ressource génétique qui peut s'avérer – et s'est avérée - utile pour l'obtention de VTH. Les modes d'action et les résistances étant déterminés par la cible de l'herbicide, donc par sa classe d'appartenance, les informations présentées dans ce chapitre le sont par classe, en commençant par la classe A. Comme indiqué précédemment, l'accent est mis par ailleurs sur les classes d'herbicides pour lesquelles des VTH existent.

Notons que le mode d'action des herbicides conditionne en partie leur spectre d'efficacité. Certains herbicides, dits totaux ou non sélectifs, sont efficaces sur l'ensemble des plantes, sauvages et cultivées. Les herbicides sélectifs n'agissent que sur un spectre limité de plantes, propriété classiquement mise à profit dans le désherbage de la plupart des cultures. La sélectivité des herbicides dépend néanmoins de la dose appliquée : un herbicide sélectif n'affectant *a priori* pas la culture sur laquelle il est employé peut devenir létal à forte dose. Enfin, leur efficacité peut varier en fonction du stade de développement de la plante, de la composition du sol, des conditions météorologiques et des techniques d'application.

### 2.1.1. Mécanismes d'action des herbicides

#### 2.1.1.1. Herbicides de la classe A : des inhibiteurs de l'acétyl coenzyme A carboxylase

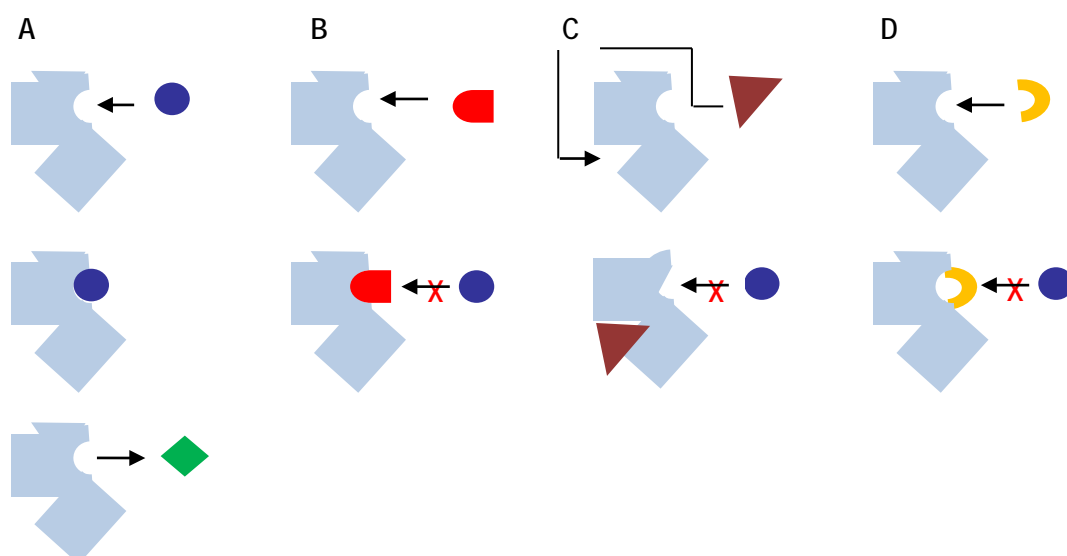
L'acétyl coenzyme A carboxylase (ACCase) catalyse la première étape de la synthèse des acides gras, c'est-à-dire la formation du malonyl coenzyme A (Harwood, 1988). Cette réaction s'effectue en deux étapes. Tout d'abord le CO<sub>2</sub> est activé par l'ATP et fixé sur une molécule de biotine sous l'action d'une biotine carboxylase. Ensuite, le CO<sub>2</sub> est transféré de la biotine à l'acétyl coenzyme A par une carboxyl transférase. L'ACCase se rencontre dans le chloroplaste et le cytosol. En général, il s'agit d'une enzyme multimérique, les différentes étapes de la réaction étant catalysées par des monomères différents. Cependant les graminées possèdent dans le chloroplaste une forme dite procaryotique chez laquelle une seule chaîne peptidique comporte les domaines catalysant les différentes réactions. Seule cette forme est sensible aux herbicides de la classe A, tels les cyclohexanediones (ou "dime") cycloxydime et séthoxydime, et les aryloxyphénoxypropionates ou "fops". L'inhibition porte sur l'activité carboxyl transférase et est compétitive pour l'acétyl-coenzyme A. Ces herbicides sont peu actifs sur l'ACCase multimérique des dicotylédones (Délye, 2005).

#### 2.1.1.2. Herbicides de la classe B : des inhibiteurs de l'acétolactate synthase

L'acétolactate synthase (ALS, ou AHAS pour acétohydroxyacide-synthétase) est située au début des chaînes métaboliques conduisant à la biosynthèse des acides aminés branchés leucine et isoleucine d'une part, valine d'autre part (revue : Mazur et Falco, 1989). Elle est localisée dans le chloroplaste et est exprimée tout au long de la vie de la plante. C'est une enzyme allostérique, sujette à de nombreuses rétro-régulations. Les herbicides du groupe B appartiennent à cinq familles, dont deux seront décrites en détails, les imidazolinones et les sulfonyl-urées. Les molécules de ces deux familles sont des inhibiteurs allostériques (voir Figure 2-1) dont le site d'action est distinct du site de fixation du substrat (Schloss *et al.*, 1988). On estime que l'action de ces herbicides résulte de l'accumulation d'alpha-céto butyrate et d'alpha-amino butyrate, toxiques, plutôt que du tarissement de la source d'acides aminés branchés.

Les sulfonyl-urées s'utilisent à très faibles doses (quelques grammes par ha). Deux raisons peuvent expliquer cette propriété. Tout d'abord, l'ALS est peu abondante dans les végétaux, beaucoup moins que, par exemple, les protéines du transfert d'électrons photosynthétique. En second lieu, une sulfonyl-urée comme le chlorsulfuron peut inactiver l'ALS même si sa concentration molaire est inférieure à celle de l'enzyme (Schloss *et al.*, 1988).

Figure 2-1. Les différents types d'inhibition enzymatique



En A : l'enzyme figuré en bleu clair accepte un substrat (rond bleu foncé) qu'il convertit au site actif en un produit (losange vert).

En B : un inhibiteur compétitif (forme rouge) possède une structure qui permet sa reconnaissance et sa fixation au site actif de l'enzyme, prévenant ainsi la fixation du substrat. La plupart des herbicides présentent ce caractère.

En C : un inhibiteur non compétitif (triangle brun) reconnaît un site qui diffère du site actif (allostérie). Sa fixation entraîne un changement conformationnel qui affecte le site actif et empêche la fixation de substrat.

En D : le cas particulier des sulfonyle-urées et imidazolinones qui se fixent à un site différent du site actif (allostérie), mais dont l'encombrement stérique empêche la fixation du substrat.

Source : Y. Dessaux

### 2.1.1.3. Herbicides des classes C : des inhibiteurs du transfert d'électrons dans la chaîne photosynthétique

L'énergie lumineuse absorbée par la chlorophylle est utilisée par une chaîne de transfert d'électrons qui part de la photolyse de l'eau (avec production de dioxygène) et aboutit à la réduction du NADP<sup>+</sup> (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate). Entre les deux, les électrons sont transférés d'ensembles protéiques à d'autres, dont les principaux sont les photosystèmes I et II (PS I et PS II), entre lesquels se trouve le complexe protéique des cytochromes b<sub>6</sub>f. L'atrazine (une triazine, classe C1) et le bromoxynil (un nitrile, classe C3) agissent sur le PS II. Celui-ci transfère les électrons au complexe des cytochromes b<sub>6</sub>f par le biais d'un transporteur mobile, la plastoquinone (PQ). L'atrazine et le bromoxynil entrent en compétition avec la PQ. Il en résulte un arrêt du transfert d'électrons photosynthétiques.

Cependant, la mort de la cellule ne résulte pas de l'interruption du métabolisme énergétique, mais de réactions de photo-oxydation provoquées par un état excité de la chlorophylle, ainsi que par la production d'une forme réactive de l'oxygène (Hess, 2000). En présence d'inhibiteurs du transfert d'électrons, le retour de la chlorophylle sous forme excitée par l'énergie lumineuse vers son état fondamental ne peut pas s'effectuer. La chlorophylle peut cependant transférer son énergie d'excitation à des molécules de dioxygène (O<sub>2</sub>), ce qui le convertit en une forme très réactive. Celle-ci déclenche alors la peroxydation des lipides et la destruction des pigments photosynthétiques, d'abord des caroténoïdes puis des chlorophylles, ce qui conduit au symptôme de chlorose observé sur le feuillage. D'autre part, les lipides qui assurent l'intégrité des membranes cellulaires étant peroxydés, celles-ci se déstructurent, ce qui conduit à la mort des cellules (Hess, 2000).

Outre l'action précédemment décrite, le bromoxynil perméabilise les membranes végétales aux ions H<sup>+</sup> en les transportant à travers ces dernières (Frear, 1976). Le cytosol des cellules végétales possède un pH voisin de la neutralité et jouxte des compartiments acides, comme les vacuoles ou la paroi cellulaire. En présence de ces herbicides, il se produit une entrée massive d'ions H<sup>+</sup> dans le cytosol, donc une très forte acidification. Les

processus de régulation du pH cytosolique ne peuvent s'opposer à cette acidification, et il en résulte une mort rapide de la cellule.

Le bromoxynil est surtout actif sur dicotylédones. Les bases de sa sélectivité sont multiples. Tout d'abord, les méristèmes des dicotylédones sont directement exposés à la pulvérisation du produit, donc à son action. En revanche, les méristèmes des graminées sont protégés par les gaines des feuilles. Ensuite, lors d'un traitement, les parties aériennes des dicotylédones retiennent en général davantage de bouillie de pulvérisation que les graminées. Enfin, certaines espèces cultivées comme le blé possèdent une nitrilase qui dégrade cet herbicide (Buckland *et al.*, 1973).

#### 2.1.1.4. Herbicide de la classe G : inhibiteur de l'énol pyruvyl shikimate 3-phosphate synthase

La seule molécule de la classe G est le glyphosate, de la famille des glycines. Il inhibe l'enzyme EPSP synthase (énol-pyruvyl-shikimate 3-phosphate synthase) qui catalyse la condensation du shikimate-3-phosphate et du phosphoénolpyruvate en 5-énol-pyruvyl-shikimate-3-phosphate (Amrhein *et al.*, 1980). Le glyphosate se fixe sur le site actif du phosphoénolpyruvate et exerce une inhibition compétitive. L'EPSP synthase est l'avant dernière étape de la voie de l'acide shikimique, qui produit le chorismate et conduit aux acides aminés aromatiques : phénylalanine, tyrosine et tryptophane, mais aussi à l'ubiquinone et à l'acide folique. Son blocage se traduit évidemment par un arrêt de la synthèse protéique, mais les conséquences physiologiques sont plus diverses car, par exemple, le tryptophane est situé sur la voie de synthèse de l'auxine, et la phénylalanine conduit à la lignine, dont on connaît la fonction dans les tissus de soutien du végétal. Pour souligner l'importance de la voie du shikimate, rappelons que selon les auteurs, 20 à 35% des substances carbonées d'un végétal en proviennent. Cette voie ne se rencontre que chez les végétaux et les micro-organismes. Outre cette atteinte aux divers métabolismes cités, le glyphosate provoque un épuisement des ressources carbonées du végétal par dérégulation de l'entrée de carbone dans la voie du shikimate.

L'EPSP synthase est située dans le chloroplaste mais est codée par un gène nucléaire. Le polypeptide produit est terminé par une séquence d'adressage, nécessaire pour qu'il pénètre dans le chloroplaste. Une fois à destination, la séquence d'adressage est coupée. Le glyphosate inhibe également l'importation du précurseur de l'enzyme dans le chloroplaste.

Le glyphosate présente une bonne mobilité dans les végétaux, où il se déplace dans le xylème et le phloème. Comme il affecte une enzyme présente dans toutes les parties du végétal, il peut détruire les parties souterraines des plantes pérennes, vers lesquelles il est véhiculé par la sève élaborée. De plus, comme il n'est que peu ou pas métabolisé par les végétaux, il possède un large spectre d'action qui en fait un herbicide non sélectif.

#### 2.1.1.5. Herbicide de la classe H : inhibiteur de la glutamine synthase

Le glufosinate-ammonium est le sel d'ammonium des deux isomères de la phosphinotricine, substance produite par divers *Streptomyces*, en particulier par *S. viridochromogenes*. C'est un herbicide non sélectif et qui est le seul à cibler la glutamine synthase (GS) (Hess, 2000). La GS présente des formes cytosolique et chloroplastique, et condense l'ammonium sur le glutamate pour former de la glutamine. Le glufosinate-ammonium se fixe sur l'enzyme en compétition avec le glutamate et, une fois lié, il est phosphorylé par l'ATP, ce qui rend sa liaison avec l'enzyme irréversible. L'activité GS est particulièrement importante dans le chloroplaste, non pas tant pour la production de glutamine, qui peut provenir d'autres points du métabolisme, mais parce que cette réaction permet de fixer l'ion ammonium, toxique pour le chloroplaste. En effet, l'ammonium est un perméabilisant de la membrane des thylakoïdes. En présence de trop fortes concentrations, le chloroplaste ne peut plus synthétiser d'ATP (effet découplant). L'ammonium est produit en grandes quantités lors de la réduction du nitrite et par la photo-respiration. En outre, l'ammonium de la glutamine permet de transaminer le glyoxylate, toxique, produit par la photo-respiration. De fait, les plantes à photosynthèse en C<sub>4</sub>, qui ne présentent pas de photo-respiration, sont moins facilement détruites que les plantes à photosynthèse en C<sub>3</sub>. Notons toutefois que l'implication de l'ion ammonium dans la phytotoxicité du glufosinate-ammonium est parfois controversée. Certains auteurs estiment que l'accumulation du glyoxylate en serait responsable. Ce dernier inhibe la ribulose di-phosphate carboxylase, laquelle rétro-inhibe la chaîne de transfert d'électrons, et l'on retrouverait les effets décrits pour les inhibiteurs du PSII.

### 2.1.1.6. Herbicides de classes O : une action "auxin-like"

A faibles doses, les herbicides auxiniques, dont le dicamba, un acide benzoïque, agissent de manière similaire à l'auxine naturelle (acide indolacétique). A fortes doses, les plantes ne sont plus capables de réguler la concentration de ces herbicides auxiniques dans les différents tissus, où ils occasionnent alors des perturbations de croissance. On observe des symptômes d'épinastie (courbure des tissus en croissance) qui peuvent être spectaculaires avec de véritables enroulements des tiges. Il se produit aussi des fasciations (épaississements des tiges) qui résultent de proliférations cellulaires dans les cambiums (Grossmann, 2000). On considère que cette action est souvent responsable de la mort des plantes traitées car les cambiums étant situés au niveau des systèmes vasculaires, leur développement anarchique comprime les vaisseaux et déprime les mouvements de sève. Dans les cas extrêmes, des déchirures apparaissent sur la tige, par lesquelles pénètrent des microorganismes. Les monocotylédones ne possédant pas de cambiums, elles sont moins sensibles aux herbicides auxiniques que les dicotylédones. Comme pour les oxynils, la sélectivité à l'égard des graminées résulte de la moindre exposition de leurs méristèmes et de la plus faible mouillabilité de leurs surfaces foliaires. La métabolisation peut aussi jouer un rôle important (Pillmoor et Gaunt, 1981).

### 2.1.2. Mécanismes de la résistance

Quatre mécanismes biologiques différenciés de résistance aux herbicides, ou de façon plus générale à des biocides (tels que pesticides, antifongiques, antibiotiques), ont été mis à jour (Fig 2-2). Ce sont (ordre non significatif) :

- la **modification de la cible** de la molécule herbicide, le principe d'action de l'herbicide reposant, comme on l'a vu, le plus souvent sur l'inhibition d'une activité enzymatique vitale pour la plante ;
- la **surexpression de cette même cible**, qui a pour effet d'abaisser la concentration du toxique par nombre de cibles, donc de réaliser une "dilution artificielle" du toxique ;
- la **dégradation de la molécule toxique** (détoxication), qui repose sur une transformation métabolique du biocide, conduisant à son inactivation ;
- l'**altération de la translocation du toxique**, par exemple par séquestration ou imperméabilisation des cuticules, qui a pour conséquence d'empêcher la mise en contact du biocide et de sa cible moléculaire.

Ces quatre modes ne sont pas exclusifs l'un de l'autre et peuvent coexister au sein du même organisme vivant.

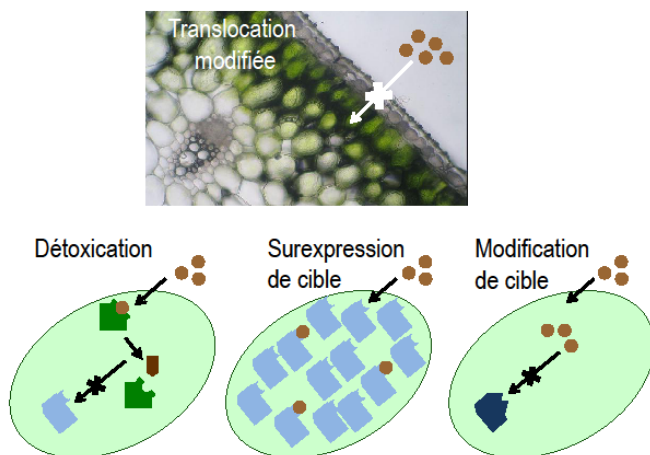


Figure 2-2. Schéma récapitulatif des modes de résistance

Les quatre modes de résistance décrits ci-dessus sont présentés de façon synthétique et avec les codes suivants :

- cercle marron : l'herbicide
- forme bleu clair : la cible de l'herbicide
- forme bleu foncé : la cible modifiée de l'herbicide
- forme verte : la molécule détoxiquant (métabolisant) l'herbicide

Source : Y. Dessaux

Comme tout caractère, la résistance à un herbicide peut être "innée" ou "acquise". Dans le premier cas, tous les individus d'une espèce présentent ce trait et il s'agit alors d'une propriété de l'espèce. Cette caractéristique est à l'origine de la sélectivité de certains herbicides. Cette propriété est mise à profit dans le désherbage de la plupart des cultures : celui-ci repose en effet sur la résistance des espèces cultivées à l'application de certains herbicides sélectifs qui leur sont spécifiques (voir encadré 2-1). L'usage de désherbants anti-graminées sur les cultures de

dicotylédones en est un exemple. Ainsi, de très nombreuses monocotylédones résistent à l'herbicide 2,4-D, alors que la plupart des dicotylédones y sont sensibles.

**Encadré 2-1. Variabilité des "tolérances innées" aux herbicides chez les plantes cultivées.**

Henri Darmency

Bien que la tolérance « innée » soit la base de la mise au point d'herbicides sélectifs d'une culture, la sélection des molécules adéquates n'est réalisée que sur un nombre réduit de variétés. Or comme pour toutes autres caractéristiques variétales, il existe une diversité génétique inter-variétale. Outre de faibles variations de tolérance, on trouve des gènes majeurs qui ne sont pas uniformément présents à l'intérieur d'une espèce. Ainsi, c'est le cas de l'absence du gène de détoxification de l'atrazine chez certaines variétés de maïs (Grogan et al., 1963), alors que cet herbicide a largement contribué à l'expansion de la culture du maïs dans le monde. Plusieurs autres cas sont rapportés, curieusement presque tous sous l'intitulé d'une étude de "l'hérédité de la sensibilité..." (Darmency, 1994).

Les gènes de sensibilité n'ont pas toujours été purgés des schémas de sélection variétale car les sélectionneurs ne cherchaient pas à vérifier que leurs nouvelles variétés améliorées avaient la même aptitude à tolérer l'herbicide que les lignées parentales, ce qui a pu être parfois réhibitore lors de la mise sur le marché (Barrentine et al., 1982). Cela a pu conduire à des mises en garde sur les étiquettes des formulations commerciales, telles que pour l'emploi du difenzoquat et du chlorotoluron sur certains cultivars de blé. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance "innée", car présents chez l'ancêtre *T. dicoccoides*, sont identifiés respectivement sur les chromosomes 2B et 6B (Snape et al., 1991). Il existe aussi plusieurs cas d'hérédité quantitative, avec des héritabilités fortes de la résistance (Darmency, 1994), mais peu d'exploitation en a été faite pour améliorer les cultures (de Gournay et al., 1975).

Face aux procédés de mutagenèse et de génie génétique, la recherche de gènes de tolérance au sein des ressources génétique variétales des plantes cultivées, via la sélection massale et les croisements, a maintenant perdu beaucoup de son intérêt.

Les résistances acquises proviennent, elles, de mutations affectant le génome d'un ou de quelques individus d'une espèce considérée (voir section 2.2.2.). Ces mutations se produisent de façon continue et aléatoire au sein d'une population. L'avantage conféré aux individus qui les possèdent n'est révélée qu'en présence de la pression sélective que constitue l'herbicide. En raison de cette résistance, les quelques plantes résistantes qui auraient été sélectionnées dans un champ peuvent rapidement conduire à l'apparition d'une petite population d'individus résistants, que l'on nomme "écotype" résistant<sup>1</sup>. Par ailleurs, l'avantage que présente l'acquisition de la résistance en présence de l'herbicide peut être contrebalancé par un "coût" associé aux mutations, dont l'importance déterminera les capacités de survie et de reproduction du mutant, hors pression sélective. La combinaison des facteurs externes et intrinsèques que constituent la pression sélective exercée par herbicide et le coût éventuel associé à la mutation conditionne la probabilité de dispersion du trait de résistance au sein d'une population donnée.

L'étude des mécanismes de résistance est important à plusieurs titres. Tout d'abord, elle peut permettre de repérer la cible moléculaire de l'herbicide. Ainsi, l'étude des résistances apparues et sélectionnées chez les plantes sauvages et les microorganismes a permis la connaissance des modes d'action des herbicides décrits en section 2.1.1.1. Par ailleurs, lorsque des résistances apparaissent chez les plantes sauvages ou cultivées, la connaissance du mécanisme qui les sous-tend permet d'imaginer des scénarios relatifs à la pérennité de l'usage de l'herbicide concerné. En effet, le nombre d'espèces végétales pour lesquelles des individus et populations résistantes ont été sélectionnés contribue à évaluer la facilité et la rapidité d'acquisition de résistances par les plantes sauvages. Une crainte existe que dans des cas de développement extrême de résistances limite fortement l'intérêt de l'usage des herbicides pour les agriculteurs, car conduisant à des pertes de rendement en lien avec le développement des adventices. Conscient de ce risque, le HRAC, mentionné plus haut, vise à limiter l'apparition de résistances chez ces adventices tout d'abord en les recensant, puis en tentant d'en déterminer les causes (ex. usage du même herbicide du même groupe d'herbicides en monoculture), et enfin en proposant des stratégies de gestion (ex. mélange d'herbicides ayant différents modes d'action, rotations culturales, travail du sol, écobuage, etc.).

Enfin, que ces résistances proviennent d'espèces cultivées ou non, ou aient été recherchées chez des organismes non apparentés tels que des microorganismes, elles constituent des ressources génétiques qui

<sup>1</sup> Les Anglo-Saxons utilisent le terme de biotype en place d'écotype. Le terme biotype en français n'ayant pas le même sens qu'en anglais, nous utiliserons donc le terme français.

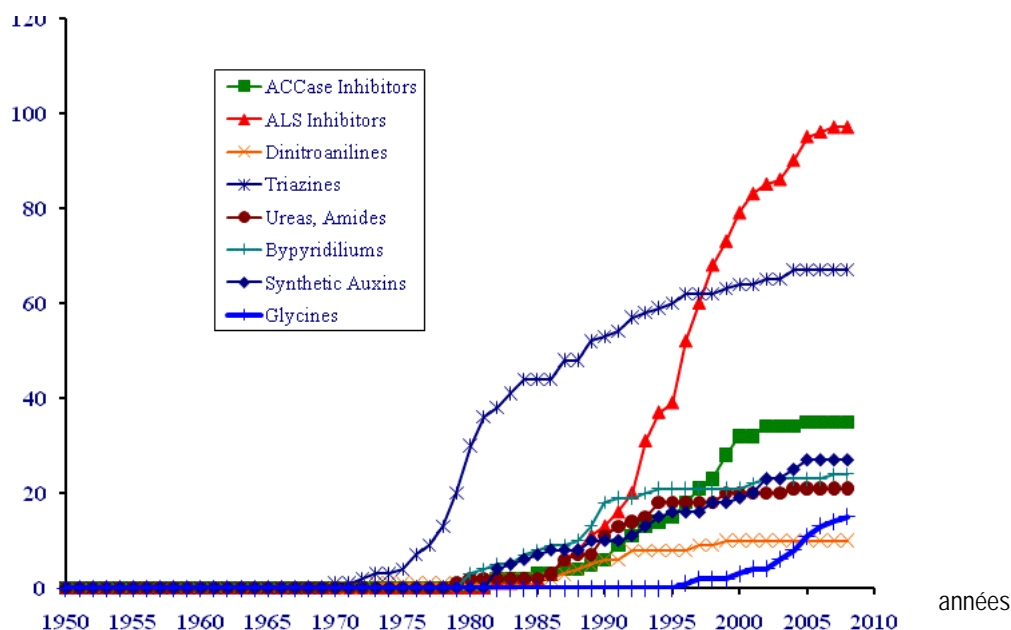
peuvent être utilisées à des fins d'amélioration variétale. Lorsque des données concernant ces ressources génétiques non végétales ont été trouvées, elles seront donc également présentées dans cette section.

### 2.1.2.1. Acquisition de résistance aux herbicides chez les plantes sauvages

Les mécanismes de résistance sont divers, et peuvent coexister dans les végétaux et particulièrement chez les adventices chez lesquelles de nombreuses mutations sont apparues, leur conférant une résistance à un ou plusieurs herbicides. Comme expliqué ci-dessus, le HRAC, le North American Herbicide Resistance Action Committee (NAHRAC) et la Weed Science Society of America (WSSA) ont d'ailleurs mis en place un dispositif de surveillance mondiale de l'évolution des résistances aux herbicides chez les plantes sauvages qui fournit un état annuel des écotypes résistants des espèces végétales sauvages. Toutes classes d'herbicides confondues, le nombre de ces résistants croît depuis le début des observations, et a atteint 358 dans le monde en février 2011, pour un total de 197 espèces (Figure 2-3.). Ces chiffres, très dépendants de l'effort d'observation (variable selon les pays), sont *de facto* sous-estimés. La plupart des classes d'herbicide sont concernées, comme le montre le tableau récapitulatif des espèces adventices résistantes aux herbicides identifiées dans plusieurs pays européens présenté en annexe de ce chapitre. Ces valeurs, et surtout les profils différenciés de leur évolution, peuvent être considérés comme des indicateurs de la dynamique d'apparition de biotypes résistants selon la classe d'herbicide (voir Chapitre 3 de ce rapport). On constate qu'à l'exception du cas du glyphosate, l'identification d'écotypes résistants à une molécule herbicide est antérieure à la commercialisation massive des VTH, et en lien avec leur utilisation sur des espèces et variétés conventionnelles.

Figure 2-3. Dynamique d'apparition des écotypes ayant acquis une résistance à l'un des quatre principaux modes d'actions herbicides associés aux VTH

nombre d'écotypes résistants (niveau mondial)



Source : Ian Heap  
www.weedscience.org

### 2.1.2.2. Herbicides de la classe A

La résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase a été rencontrée chez 39 espèces de mauvaises herbes, les "dims" étant autant affectés que les "fops" (Délye, 2005). Une partie importante des résistances, signalées à partir du milieu des années 1990, provient de mutations affectant le gène de l'ACCCase. Quatre mutations dans le gène codant l'ACCCase peuvent conduire à une résistance aux "dims", et sept dans le cas des "fops". Certaines résistances aux "fops" conduisent à une résistance croisée au "dims", dont une des plus étudiée pour des raisons

d'amélioration variétale conduit à la substitution Ile-Leu en position 1781 sur le gène codant l'ACCase (substitution dite Ile-1781-Leu ; Vila-Aiub *et al.*, 2009). Les autres substitutions conférant cette résistance croisée sont Asp-2078-Gly et Cys-2088-Arg.

Par ailleurs, des mécanismes de résistance non liés à la cible, au moins aussi fréquents que les précédents, ont été décrits. Ils pourraient reposer sur de la **métabolisation/détoxication**, mais restent mal élucidés à ce jour (Délye, 2005).

### 2.1.2.3. Herbicides de la classe B

#### 2.1.2.3.1. Chez les végétaux

Dans le cas des adventices résistantes aux inhibiteurs d'ALS, dont environ 110 écotypes ont été répertoriés, deux mécanismes, la **métabolisation de la molécule** et la **mutation du gène codant l'ALS**, ont été répertoriés (Tranel & Wright, 2002). Ces mutations affectent en général le site de fixation de l'herbicide, qui diffère du site de fixation du substrat de l'enzyme. Certaines d'entre elles confèrent une résistance aux seules imidazolinones, d'autres aux seules sulfonyl-urées, et d'autres conjointement aux deux familles d'herbicides. La métabolisation de la matière active résulte d'hydroxylation et conjugaison avec du glucose, ou de l'hydrolyse du pont sulfonyle-urée, ou de la O-déméthylation et conjugaison avec l'homoglutathion (Brown, 1990).

La tolérance d'espèces cultivées comme les **céréales à paille**, le **maïs** ou la **betterave** aux inhibiteurs d'ALS tels les chloresulfuron et tribénuron-méthyle (sulfonyle-urées), imazamox et imazapyr (imidazolinones), est basée également sur la **métabolisation** (Cf. supra).

En revanche, dans les variétés de cultures **oléagineuses** tolérantes aux inhibiteurs d'ALS, c'est une **mutation du (ou d'un) gène codant pour l'ALS** qui est en cause (Sala *et al.*, 2008). Les mutations de l'ALS les plus fréquentes sont présentées dans le Tableau 2-1. Elles ont été utilisées dans le cadre de programmes d'amélioration variétale (Powles & Yu, 2010).

Tableau 2-1. Mutations courantes de l'ALS et phénotype de résistance associé (Powles et Yu, 2010)

| Position du résidu et résidu d'origine <sup>a</sup> | Résidu dans la protéine mutée | Résistance conférée |                  | Nombre d'espèces connues porteuses de la mutation |
|---|-------------------------------|---------------------|------------------|---|
|   |                               | SU <sup>b</sup>     | IMI <sup>b</sup> |   |
| Ala-122   | Thr                           | S <sup>c</sup>      | R                | 5   |
|   | Tyr                           | r                   | R                | 1   |
| Pro-197   | His                           | R                   | S/r              | 4   |
|   | Thr                           | R                   | S/r              | 6   |
|   | Arg                           | R                   | S                | 3   |
|   | Leu                           | R                   | R/r/S            | 8   |
|   | Gln                           | R                   | S                | 4   |
|   | Ser                           | R                   | S                | 14  |
|   | Ala                           | R                   | S                | 6   |
|   | Ile                           | R                   | R                | 1   |
|   | met                           | R                   | -                | 1   |
|   | Lys                           | R                   | -                | 1   |
| Trp   | R                             | -                   | 1                |   |
| Ala-205   | Val                           | S/r                 | R/r              | 4   |
| Asp-376   | Glu                           | R/r                 | R                | 4   |
| Try-574   | leu                           | R                   | R                | 16  |
|   | Arg                           | R                   | R                | 1   |
| Ser-653   | Thr                           | S/r                 | R                | 3   |
|   | Asn                           | S/r                 | R                | 2   |
|   | Ile                           | r                   | R                | 1   |
| Gly-654   | Glu                           | -                   | R                | 1   |
|   | Asp                           | S                   | R                | 1   |

a Numérotation des acides aminés se référant à l'ALS d'A. thaliana

b SU : Sulfonyle-urées ; IMI : Imidazolinones ;

c S, sensibilité ; R, résistance ; r, résistance modérée ; -, non déterminé.

Source : Powles et Yu, 2010



#### 2.1.2.3.2. Chez les microorganismes

De nombreux microorganismes résistants aux sulfonyle-urées ou aux imidazolinones ont été isolés de l'environnement sol (voir Chapitre 4). Dans un certain nombre de cas, les voies métaboliques et les déterminants génétiques sont connus, et pourraient, à terme, constituer des ressources génétiques utilisables pour l'obtention de lignées végétales tolérantes par **détoxication**. Ont ainsi été décrites des souches d'*Arthrobacter crystallopoietes* et de *Pseudomonas sp.* capables de dégrader des imidazolinones, ainsi que des souches d'*Aspergillus niger* et de *Pseudomonas sp.* capables de dégrader le chlorsulfuron (Boschin *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2007).

#### 2.1.2.4. Herbicides des classes C

##### 2.1.2.4.1. Le cas de l'atrazine (famille des triazines)

La résistance à l'atrazine et aux triazines est généralement due à une **mutation dans le gène codant la cible**. La résistance a été trouvée chez une plante adventice de *Brassica rapa* et de *Setaria viridis* dans des champs traités, et observée chez 25 autres espèces d'adventices. Dans presque tous les cas, la résistance est due à une mutation ponctuelle (Ser-264-Gly) sur le gène chloroplastique *psbA* codant la protéine D1 du thylakoïde impliquée dans le transfert d'énergie du photosystème II au sein des chloroplastes. Sans cette modification de la conformation de cette protéine, le transfert d'électron est bloqué (Devine et Shukla 2000; Gronwald 1994; Preston et Mallory-Smith 2001; Tian et Darmency, 2006). De rares cas de **résistance non liée à la cible** ont aussi été observés ; ils impliquaient la détoxication de l'herbicide par des enzymes à cytochrome P450 ou des glutathionyl-transférases (GST) (Anderson et Gronwald 1991; Gray *et al.* 1996; Gressel *et al.* 1983; Gronwald *et al.* 1989 ; revue : Gressel 2002).

Plusieurs microorganismes dégradant l'atrazine ont été isolés. La voie principale de **dégradation** conduit à l'acide cyanurique sous l'action des produits des gènes *atzA,B,C*, retrouvés dans de très nombreux microorganismes (Ralebitso *et al.*, 2002 ; voir chapitre 4). Les gènes *atzA* isolés de souches de *Pseudomonas sp.* et d'*Arthrobacter sp.* ont récemment été introduits dans le génome du tabac, lui conférant la capacité de dégrader l'atrazine et une tolérance à des doses élevées de cette molécule (Wang *et al.*, 2010).

##### 2.1.2.4.2. Le cas du bromoxynil (famille des oxynils)

Chez les végétaux, 3 cas de résistance au bromoxynil ont été répertoriés à ce jour, chez *Amaranthus hybridus* (en 2004), *Amaranthus retroflexus* (en 2005) et *Senecio vulgaris* (en 1995), tous en Amérique du nord (Heap, 2011). Le mécanisme de résistance n'a pas été indiqué.

Par ailleurs, une nitrilase d'origine bactérienne codée par le gène *bxn* a été isolée de la bactérie tellurique *Klebsiella ozaenae* (Stalker *et al.*, 1988). Elle confère à la bactérie la capacité à **dégrader** le bromoxynil. Des lignées de coton, de pomme de terre et de tournesol exprimant ce gène bactérien, tolérantes au bromoxynil, ont été obtenues (brevet US n° 5559024 ; 1996).

#### 2.1.2.5. Herbicide de la classe G

##### 2.1.2.5.1. Chez les végétaux

Vingt et une espèces de "mauvaises herbes" présentent une résistance au glyphosate (Heap, 2011). Les mécanismes élucidés à ce jour chez ces espèces recouvrent trois grands types de mécanismes de résistance présentés dans l'introduction de cette section. Ils incluent donc :

- a) la **mutation de cible** chez l'éleusine (*Eleusine indica* ; Lee & Ngim, 2000) et le ray-grass rigide (*Lolium rigidum* ; Yu *et al.*, 2007) ;
- b) l'**amplification du gène** codant l'EPSPs chez l'amarante de Palmer (*Amaranthus palmerii* ; Gaines *et al.*, 2010) ; et la **surexpression du gène** codant pour celle-ci chez la vergerette de Buenos Aires (*Conyza bonariensis* ; Dinelli *et al.*, 2008) et le ray-grass rigide (Baerson *et al.*, 2002) ;

d) la **modification du patron de migration du glyphosate** chez le ray-grass rigide (Lorraine-Colwill *et al.*, 2003), le ray-grass italien (*L. multiflorum* ; Michitte *et al.*, 2007), la vergerette du Canada (*Conyza canadensis* ; Feng *et al.*, 2004), le sorgho d'Alep (*Sorghum halepense* ; Powles & Yu, 2010), ou une plus faible pénétration foliaire du glyphosate chez le ray-grass italien (Michitte *et al.*, 2007) et le sorgho d'Alep (Yu & Powles, 2010).

Il n'est de plus pas rare que plusieurs de ces mécanismes soient rassemblés dans une même plante. La métabolisation de l'herbicide est supposée inexistante ou non effective chez les plantes.

Par ailleurs, des lignées tolérantes de tabac, soja, coton, lin, pomme de terre et tournesol ont été obtenues par amélioration variétale (brevets US n°4940835 ; 1990 et n°5188642 ; 1993) par insertion dans le génome et **surexpression d'un gène codant l'EPSPS** d'un Pétunia lui-même tolérant au glyphosate, issu de régénération de cellules résistantes sélectionnées par culture en présence de cet herbicide (Steinrück *et al.*, 1986 ; Duke & Powles, 2009).

#### 2.1.2.5.2. Chez les microorganismes

La tolérance au glyphosate peut également être obtenue par introduction d'un gène codant une **EPSPS hautement résistante au glyphosate** d'origine microbienne (voir section 2.2). Certains gènes codant de telles EPSPS, naturellement insensibles ou très peu sensibles, ont été décrits (Comai *et al.*, 1983 ; Kishore *et al.*, 1986). L'un des plus utilisés provient de la souche CP4 d'*Agrobacterium* car il présente, en sus de son insensibilité au glyphosate, une haute activité catalytique permettant l'obtention de variétés végétales tolérantes à cet herbicide (voir par exemple Hu *et al.*, 2003 ; Ye *et al.*, 2001).

Un gène déterminant une autre EPSPS insensible au glyphosate a été isolé à la suite d'un criblage d'une banque métagénomique obtenue à partir d'ADN extrait d'un sol très fortement contaminé par cet herbicide. Introduit chez *E. coli*, comme chez le tabac sous le contrôle du promoteur *ad hoc*, ce gène confère à son hôte une forte tolérance au glyphosate. Les inventeurs du brevet décrivant cette obtention (brevet US n° 20050223436 ; 2007) indiquent qu'elle est *a priori* applicable aux espèces suivantes : soja, coton, luzerne, colza, lin, tomate, betterave à sucre, tournesol, pomme de terre, maïs, blé, riz, et laitue.

#### 2.1.2.6. Herbicide de la classe H

##### 2.1.2.6.1. Chez les végétaux

Un récent cas de résistance au glufosinate a été relevé chez l'éleusine (*Eleusine indica* ; Singh *et al.*, 2010), sans que le mécanisme de résistance soit explicité. Cependant, il est à noter que des tolérances par **modification de la cible** ont été obtenues chez le riz et le soja (Tsai *et al.*, 2006 ; Pornprom *et al.*, 2009). Dans ce dernier cas, des plantes dérivées de cellules résistantes sélectionnées en présence de l'herbicide, possèdent une glutamine synthétase inhibée par des doses de glufosinate presque 5 fois supérieures à celles inhibant l'enzyme de la lignée sauvage. Neuf mutations ponctuelles ont été relevées dans la séquence de cette enzyme, dont l'une affecte un acide aminé situé au site actif de l'enzyme (Pornprom *et al.*, 2009).

##### 2.1.2.6.2. Chez les microorganismes

Un microorganisme résistant à la phosphinothricine et le déterminant génétique de cette résistance sont connus. Il s'agit du gène *bar* (ou *pat*) issu de *Streptomyces hygroscopicus*, qui code une phosphinothricine acétyltransférase. Cette enzyme clive la molécule active du glufosinate, la rendant inefficace vis-à-vis des cellules végétales (Montague *et al.*, 2007). Le gène *bar* transféré dans différentes espèces végétales leur confère la tolérance au glufosinate par **détoxication**, comme ceci a été documenté chez le tabac ou la pomme de terre par exemple (Botterman et Leemans, 1989) ou le tournesol (Neskorodov *et al.*, 2010).

## 2.1.2.7. Herbicide de la classe O

### 2.1.2.7.1. Chez les végétaux

Ving-huit espèces adventices ont montré des cas de résistance aux herbicides auxiniques (Heap, 2011), appelés aussi hormones végétales, utilisés depuis 60 ans, et dont les cibles d'action ne sont pas vraiment connues (voir section 2.1.1.7.). La majorité des résistances ont été rapportées en réponse au 2,4-D (ou acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique, un acide phénoxy-carboxylique). Concernant le dicamba (un acide benzoïque), des résistances ont été rapportées chez *Chenopodium album* (Nouvelle Zélande), *Galeopsis tetrahit* (Canada), *Kochia scoparia* (Etats-Unis), *Lactuca serriola* (Etats-Unis), et *Sinapis arvensis* (Canada et Turquie). Cependant, le ou les mécanisme(s) de résistance aux herbicides auxiniques n'ont pas été clairement élucidés (Teixera *et al.*, 2007), même si des mutations affectant le récepteur d'auxine Axr (Cys-154-Tyr et Pro-87-Ser) et le transporteur Aux1 (Gly-459-Asp) affectent sa sensibilité au 2,4-D (Roux *et al.*, 2004).

### 2.1.2.7.2. Chez les microorganismes

Une souche de *Cupriavidus necator* (auparavant *Alcaligenes eutrophus* puis *Ralstonia eutropha*) a été isolée de sol pour sa capacité à utiliser le MCPA (acide 4-chloro-2-méthylphénoxy-acétique) et le 2,4-D (famille des acides phénoxy-carboxyliques) comme seules sources de carbone. Cette capacité repose sur la présence des gènes *tfdA* (Streber *et al.*, 1987), *tfdB* and *tfdCDEF* (Don and Pemberton, 1985; Perkins *et al.*, 1990), dont les produits catalysent la **dégradation** de cette molécule en 3-cétoadipate. Introduit dans du tabac, le gène codant la 2,4-D monooxygénase de *C. necator* qui catalyse la première étape de dégradation du 2,4-D, lui confère une tolérance à des doses de cet herbicide huit fois supérieures à celles utilisées au champ (Lyon *et al.*, 1989).

D'autres enzymes bactériennes, les aryloxyalkanoate dioxygénases (AADs) ont été découvertes plus récemment. Elles permettent la conversion du 2,4-D en dichlorophénol et glyoxylate via une réaction d'oxydation. Certaines permettent aussi la métabolisation d'autres herbicides tels des aryloxy-phénoxypropionates, ou d'herbicides d'une autre famille tels le triclopyr et le fluroxypyr (famille des pyridyl-oxyacétates). Les gènes codant ces enzymes ont été transférés dans du maïs et du soja, permettant la constitution de lignées tolérantes au 2,4-D, et pour certaines au triclopyr et au fluroxypyr (Wright *et al.*, 2010).

En ce qui concerne le dicamba, la bactérie du sol *Pseudomonas maltophilia* est capable de convertir le dicamba en acide 3,6-dichlorosalicylique (DCSA), composé sans activité herbicide (Cork et Krueger, 1991), par l'action de l'enzyme dicamba O-déméthylase (DCO). Le gène codant la DCO a été cloné et introduit dans du tabac, permettant l'obtention de lignées tolérantes à des applications de dicamba équivalentes à 5,6 kg/ha (soit 10 à 20 fois les doses recommandées) (Behrens *et al.*, 2007).

## 2.1.3. Bilan

Les résultats présentés dans ce chapitre indiquent que la plupart des herbicides agissent comme des inhibiteurs d'activités enzymatiques, que celles-ci soit impliquées dans les voies métaboliques permettant la biosynthèse des "briques de base" (ex. acides aminés) ou dans des fonctions cellulaires vitales (ex. photosynthèse, respiration). Cette inhibition peut être compétitive, les herbicides prenant la place du substrat au niveau du site catalytique de l'enzyme. Elle peut également être non compétitive, l'herbicide empêchant l'accès du substrat au site actif. En raisonnant *a contrario*, ces résultats suggèrent que de nouvelles molécules herbicides pourraient émerger de travaux d'enzymologie visant à identifier des inhibiteurs d'activités enzymatiques vitales pour la cellule, comme cela est le cas pour de nouveaux antibiotiques potentiels (voir par exemple Choudry *et al.*, 2003). Ces données sont valables que l'on soit en présence d'un herbicide sélectif ou d'un herbicide total, cette distinction n'étant pas une propriété de la molécule herbicide mais une propriété du végétal. Il existe néanmoins deux "types" de VTH : celles qui sont tolérantes à un herbicide total et celles qui sont tolérantes à un herbicide sélectif.

Deux des mécanismes fréquents de résistance aux herbicides chez les végétaux sont la **détoxication** et la **modification de la cible**. En ce qui concerne la détoxication, rares sont les mécanismes précisément connus. Ils pourraient impliquer les cytochromes P450 oxydases (P450) et/ou les glutathione-S-transférases (GST),

enzymes qui interviennent dans la dégradation des substances organiques chez les organismes supérieurs et les microorganismes (voir par exemple Busi *et al.*, 2011, revue Gressel, 2002). Leur déterminisme génétique est également mal connu, et probablement multigénique, ce qui rend l'utilisation de cette caractéristique difficile dans le cadre de l'amélioration variétale. En revanche, de nombreux microorganismes présentent la capacité de dégrader des herbicides, permettant l'accès à des ressources génétiques utilisables en amélioration. Cette propriété microbienne a ainsi été mise à profit pour créer des variétés végétales modèles ou de grandes cultures tolérantes à des herbicides (ex. tabacs tolérant l'atrazine, le glufosinate, le 2,4-D, le dicamba ; coton tolérant le bromoxynil ; maïs tolérant le 2,4-D ; pomme de terre tolérant le bromoxynil ou le glufosinate ; soja tolérant le 2,4-D, ou tournesol tolérant le bromoxynil ou le glufosinate).

Les mutations génétiques responsables des résistances liées à une modification de la cible sont généralement bien connues. Il s'agit de mutations ponctuelles du gène codant cette cible, qui affectent le site de fixation des herbicides. Leur déterminisme principalement monogénique explique la rapidité de leur apparition et évolution. Elles constituent par ailleurs une ressource génétique intéressante dans le cadre de l'amélioration variétale. Ont ainsi été obtenus des tournesols tolérants à des herbicides de la classe B, du tabac, soja, coton, lin, pomme de terre et tournesol tolérants au glyphosate, du riz et du soja tolérants au glufosinate.

Le phénomène de mutation pose cependant la question des effets secondaires qui lui sont associés. *A priori*, lorsque le site de fixation de l'enzyme est celui du substrat (inhibition compétitive), on peut s'attendre à ce qu'une mutation conférant la résistance à l'herbicide affecte également la fonctionnalité de l'enzyme, entraînant des coûts métaboliques. A l'inverse, si le site de fixation de l'herbicide est distant du site d'action du substrat (inhibition non compétitive), le risque de perturbation de l'activité enzymatique est moindre, et les coûts métaboliques associés sont faibles voire nuls. Cette question des "coûts" associés à la résistance est abordée dans la section 2.3.

## 2.2. Modes d'obtention des variétés tolérantes aux herbicides

*Francis Quétier, Christian Huyghe*

Il existe globalement trois façons d'obtenir des VTH :

- l'introgression par croisement de mutations spontanées, le plus souvent apparues au champ ;
- l'introgression par croisement de mutations induites, par définition produites en laboratoire ;
- la transformation génétique (transgénèse).

L'objectif de cette section est de présenter en détails ces trois modes d'obtention pour bien en comprendre les tenants et les aboutissants, ce qui les différencie et ce qui les rapproche. Par ailleurs, le mode d'obtention est un élément critique qui détermine la nature OGM ou non des variétés améliorées selon la directive 2001/18/CE. Des VTH non transgéniques (donc exclues du champ d'application de la directive) sont proposées aujourd'hui en France aux pouvoirs publics et aux instances d'évaluation dans le cadre de l'inscription au catalogue officiel. Un éclairage sur la façon dont ces variétés ont été obtenues est donc pertinent dans le cadre de cette expertise, ne serait-ce que pour tenter de qualifier ce qui différencie (éventuellement) VTH issu de l'introgression de mutation et variété génétiquement modifiée dans le but de lui conférer le trait TH. Cette section vise aussi à analyser s'il existe des spécificités des lignées TH issues de mutants induits par mutagenèse, qui les différencieraient des lignées TH issues de processus de mutation spontanée.

En sus, les techniques de biologie moléculaire - dont l'application à l'amélioration variétale a "explosé" depuis les années 1980 - connaissent aujourd'hui une véritable (r)évolution avec l'apparition de nouveaux outils d'ingénierie génétique et des approches dites à très haut débit, dont le séquençage des génomes n'est qu'un aspect. En accord avec le cahier des charges de l'ESCO, cette section propose donc un tour d'horizon de ces nouvelles approches, dont on verra que certaines auront sans aucun doute des implications conceptuelles fortes.

Cette section présentera tout d'abord quelques rappels sur les génomes végétaux, puis des données relatives à l'obtention de plantes tolérantes à un herbicide, issues de mutations spontanées ou induites, ou issues de transgénèse. Des exemples de chaque cas seront présentés. Une dernière partie (section 2.2.3) abordera la question des technologies d'obtention variétale émergentes. En section 2.2.4, le tableau 2-5 liste les principales VTH actuellement obtenues et commercialisées, en précisant leur mode d'obtention.

La bibliographie relative à cette section inclut plusieurs types de référence :

- des références généralistes qui explicitent les processus biologiques décrits (structures des génomes, mutations, transformations, etc.) et ne sont pas spécifiques des VTH ;
- des références spécifiques, pour l'essentiel des articles scientifiques tirés de revues internationales à comité de lecture (y compris des "reviews"), destinées en partie à illustrer les mécanismes généraux ;
- des références spécifiques, pour l'essentiel issues également de revues internationales à comité de lecture (y compris des revues), ciblant l'obtention des VTH ;
- des références à des brevets, particulièrement en regard des technologies d'obtention variétale émergentes ;
- enfin des liens internet, référencés par un mot clé dans le texte, et donc l'adresse figure après les références conventionnelles.

### 2.2.1. Rappels sur les génomes végétaux

*Francis Quétier*

A partir d'une plante sensible à un herbicide, il existe plusieurs façons de rendre cette même plante désormais tolérante à cette substance active. La première est l'**introgression par croisement de mutations spontanées**. Chez certains genres, il arrive que des espèces différentes soient interfertiles. Si une espèce voisine de l'espèce cultivée est naturellement résistante à un herbicide, les croisements utilisés classiquement en amélioration des plantes permettent l'introgression du caractère de tolérance à l'herbicide comme pour tout autre caractère.

Une autre approche passe par l'**obtention de mutants TH à la suite de traitements mutagènes** chimiques ou physiques, et sélection en présence de l'herbicide, étapes en général suivies d'étapes d'introgression de la mutation dans des variétés cultivées.

Enfin, une dernière voie est celle de la **transformation génétique au sens de "transgenèse"**, où de l'ADN exogène est utilisé et introduit soit directement soit indirectement au moyen d'une bactérie hôte. D'une façon générale, 3 catégories de modifications peuvent être apportées dans l'ADN de la plante receveuse :

- la suppression de l'expression d'un gène résident. La plante ne présentera plus le trait agronomique codé par ce gène (d'où le terme de "gène KO", au sens de "tué") ;
- le remplacement d'une portion du gène résident par une autre version de cette portion. La plante présentera la version nouvelle du trait agronomique ("modification/correction" d'un gène résident) ;
- l'introduction de la totalité d'un gène étranger, supplémentaire ; il n'existe aucune version de ce gène dans le génome résident (insertion complète).

Dans le cas des VTH actuelles, seules les deux dernières modifications ont été utilisées. Par ailleurs, la littérature examinée ne révèle pas l'existence de méthode de transformation génétique spécifique pour l'obtention par transgenèse de plantes rendues tolérantes aux herbicides.

Pour la compréhension de cette section, il est utile de rappeler qu'une cellule végétale contient 3 génomes :

- le génome nucléaire, de taille très variable (de 150 millions de paires de bases (Mb) pour *Arabidopsis thaliana*, plante modèle, jusqu'à 16 000 Mb pour le blé tendre), contient plus de 99% des gènes d'une plante (au nombre de 25 000 à 45 000 suivant les plantes). Ce génome est présent en deux exemplaires, l'un apporté par pollen, l'autre par l'ovule. Ces deux copies peuvent être soit légèrement différentes (les plantes sont hétérozygotes), soit complètement identiques (les plantes sont alors homozygotes). Les génomes et les traits agronomiques gouvernés par les gènes nucléaires se transmettent à la descendance en suivant les règles de l'hérédité mendélienne.
- deux petits génomes, contenus respectivement dans les chloroplastes et les mitochondries, qui abritent à eux deux moins de 1% des gènes d'une plante. Dans le végétal, les copies d'ADN chloroplastiques (120 à 150 kb) sont, à de rares exceptions près, toutes identiques entre elles. Les caractéristiques des ADN mitochondriaux sont *grasso modo* équivalentes à celles des ADN chloroplastiques (avec une taille de génome de 160 kb à 2 Mb suivant les plantes). Chaque cellule de la plante contient une à plusieurs dizaines de chloroplastes et chaque chloroplaste contient lui-même une à quelques dizaines de copies du génome chloroplastique. La situation est analogue pour les mitochondries. Le génome chloroplastique et le génome mitochondrial d'une plante sont donc fortement polyploïdes (> 2 copies /cellule) et homoplasmiques (copies identiques dans une plante donnée). Par ailleurs, le type d'hérédité, à quelques exceptions près, est maternel chez les angiospermes, ce qui signifie que les génomes chloroplastiques et mitochondriaux de la descendance d'un croisement sont du même type que celui contenu dans les ovules. Chez les gymnospermes, le génome chloroplastique est à hérédité paternelle alors que le génome mitochondrial se transmet soit maternellement, soit paternellement suivant les genres. Les méthodes de transformation de ces deux derniers génomes seront donc analysées à part.

Les données qui précèdent et les éléments explicatifs concernant l'organisation des gènes, la structure des génomes, et plus globalement l'ensemble des données de biologie moléculaire végétale qui suivent, sont tirés des références suivantes : Benfey et Protopapas (2004), Cullis (2004), Cullis et Creissen (1987), Lewin (2007), Newton (1988), Ridley (2006), Slater *et al.* (2003), Sugiura (1992). Des références complémentaires spécifiques sont fournies également dans le texte.

## 2.2.2. Technologies d'obtention variétale actuelles

### 2.2.2.1. Obtention de plantes tolérantes à un herbicide, issues de mutations

*Christian Huyghe, Francis Quétier*

#### 2.2.2.1.1. Le phénomène de mutation et ses mécanismes

Les mutations sont des changements qui interviennent dans la séquence de l'ADN d'un organisme ; dès qu'ils apparaissent, ces changements stables sont le plus souvent transmis héréditairement aux générations suivantes. Seule une deuxième mutation, inverse de la précédente, peut conduire à la restauration de la séquence initiale.

Les mutations peuvent porter :

- sur 1 seule paire de base (mutation ponctuelle), changée en une autre paire de base, elle peut également être éliminée par délétion ou ajoutée par insertion ;
- sur quelques paires de bases adjacentes, qui sont insérées ou délétées ;
- sur des séquences plus longues, qui peuvent être des insertions, des délétions, des inversions (orientations en sens inverse le long du génome) ou encore des translocations (changement de localisation d'une séquence dans un génome).

Ces altérations se produisent spontanément dans la nature et avec une fréquence très faible, de l'ordre de  $10^{-9}$  par paire base d'ADN par génération chez les eucaryotes. Elles se produisent au hasard et peuvent affecter n'importe quelle base avec des probabilités peu différentes. Leur localisation est aléatoire le long des chromosomes. Elles sont la source de la variabilité génétique naturelle accumulée dans les espèces.

Quatre causes principales (ou agents mutagènes), et quatre mécanismes associés expliquent l'apparition de mutations :

- les rayonnements électromagnétiques très énergétiques (UV, rayons X, rayons  $\gamma$ ) :

Les rayons ultraviolets (UV) courts provoquent des liaisons covalentes supplémentaires qui lient entre elles directement 2 bases pyrimidiques adjacentes le long d'un brin d'ADN. Cet accident est réparé dans les cellules eucaryotes, donc chez les plantes, par un système enzymatique ; ces enzymes ne présentent pas une efficacité de 100% et quelques rares erreurs non réparées peuvent altérer l'appariement des bases lors de l'étape de réplication de l'ADN. Les radiations très énergisantes tels les rayons X, les rayons  $\gamma$ , la radioactivité naturelle dans les sols et l'atmosphère, les rayons cosmiques peuvent provoquer, soit directement par un effet "mécanique", soit par induction de la production d'espèces d'oxygène très agressives, des cassures entre deux nucléotides adjacents dans une chaîne d'ADN. Là aussi, des systèmes enzymatiques de réparation rétablissent ces liaisons, mais avec quelques erreurs résiduelles même dans des conditions naturelles d'environnement, erreurs qui vont entraîner l'apparition d'une ou de mutation(s).

- les composés chimiques :

Des molécules naturelles ayant un effet alkylant ou un effet fort d'oxydation peuvent provoquer des changements au niveau des groupements qui décorent les bases de l'ADN et provoquer ainsi, lors de la réplication de l'ADN, des erreurs d'appariement (mésappariements) aboutissant à des mutations. Par exemple, des formes activées d'oxygène (telles que peroxydes, oxygène radicalaire, etc.), l'acide nitreux (qui provient de la décomposition des nitrites) peuvent provoquer la coupure d'un groupement  $\text{NH}_2$  (déamination) porté par une base, ce qui entraîne un mésappariement. D'autres composés s'intercalent (d'où leur nom d'intercalants) entre les plateaux formés par les bases appariées, allongeant la distance entre deux plateaux adjacents. Le complexe de réplication va alors "patiner" à cet endroit et insérer indûment un ou plusieurs nucléotides supplémentaires (insertions) ; l'acridine, présente dans la houille, est un exemple d'agent intercalant naturel.

- les transpositions dues aux éléments mobiles du génome :

Le génome nucléaire des cellules (bactéries, animaux, plantes) contient des éléments qualifiés de "mobiles" car ils peuvent changer de localisation le long d'un chromosome ou d'un chromosome à l'autre. Dans leurs mouvements, ils présentent la capacité d'entraîner avec eux un gène ou de l'inactiver. Ainsi, si le site d'insertion de l'élément correspond à un gène, cette insertion interrompra ce gène dont l'expression sera alors très probablement impossible. Si la majorité des éléments mobiles se sont sédentarisés et sont devenus immobiles, une faible fraction reste active, à une fréquence minime mais non nulle ; cette fréquence peut d'ailleurs être augmentée par des stress biotiques ou abiotiques, mais aussi par la culture *in vitro* connue pour induire des variations génétiques dites somaclonales.

- les erreurs naturelles du complexe de réplication et la correction d'épreuve :

Le complexe qui assure la réplication de l'ADN contient la protéine enzymatique, appelée ADN polymérase, qui met en place la liaison covalente entre le dernier nucléotide ajouté à la chaîne d'ADN en cours de synthèse, et le suivant à incorporer. Celui-ci se positionne en face du nucléotide à appairer sur le brin matrice. Cet appariement est strict entre bases A et T d'une part, et entre bases G et C d'autre part. Une ADN polymérase qui effectue seule et *in vitro* une réplication sur une chaîne d'ADN matrice commet en moyenne  $10^{-5}$  à  $10^{-9}$  erreur par base, selon l'organisme auquel elle appartient. Une bonne partie de ces erreurs est réputée provenir des formes ultra-minoritaires des groupements cétones qui s'énolisent ou de groupement amines qui deviennent imines. Chez les eucaryotes, et donc chez les plantes, une autre partie du complexe de réplication est constituée d'un système

très efficace de "correction d'épreuve" qui répare ces erreurs, mais pas la totalité. C'est cette différence qui constitue le taux minimal des erreurs résiduelles, estimé en moyenne à  $10^{-9}$  erreur par paire de base / génération de l'organisme.

L'ensemble des phénomènes à l'origine de mutations peuvent se produire "naturellement". Les trois premiers peuvent également être induits au laboratoire par l'usage des différents agents mutagènes listés, ce qui définit la technique de mutagenèse. En tout état de cause, les mécanismes impliqués dans l'induction de mutations ne diffèrent pas de ceux responsables de l'apparition de mutations spontanées. Seules les fréquences varient. Ces deux sources de mutations sont d'ailleurs mises à profit par les obtenteurs lors des processus de création variétale, avec à l'origine une exploitation de la seule variabilité naturelle, puis, lorsque les différents agents mutagènes ont été identifiés, un recours à l'une ou deux de ces deux sources de mutations. Le cas de l'amélioration variétale de l'orge est, à cet égard, emblématique (voir encadré 2-1).

#### **Encadré 2-1. Mutagenèse et Amélioration des plantes, développement de méthodes et applications.**

*Michel Beckert*

Dès les années 1920, dans un article pionnier publié dans la revue Science, Stadler démontrait la possibilité d'induire des mutants chez l'orge par l'action de rayonnements X et/ou de radium. A la suite de ce travail qui avait pour ambition de comprendre le fonctionnement ou la fonction des gènes (les travaux de Morgan venaient d'être publiés en 1910) d'autres groupes utilisèrent ces techniques et stratégies pour créer de la diversité génétique.

L'orge fut l'une des plantes d'intérêt très largement soumise à mutagenèse. Ainsi, Gustafsson, dès 1947 relate des premières expériences d'optimisation de traitements sur graines d'orge, pour induire par rayonnement l'apparition de mutants de cette espèce. Par la suite, en 1963 dans un article de synthèse, il relate un long travail d'obtention et de caractérisations agronomique et génétique d'une collection importante de mutants obtenus, soit par irradiation, soit par traitements chimiques. Cette publication rapporte l'expérimentation pluriannuelle en conditions agronomiques de 123 mutants de la variété "Bonnus" et 74 de la variété "Forma". L'expérimentation agronomique fut réalisée de 1955 à 1962. Les questions scientifiques posées alors étaient de savoir si ces méthodologies pouvaient permettre l'obtention de variétés supérieures, au plan agronomique, aux parents traités et d'expérimenter l'efficacité de ces approches. Il montre que si une large part des mutants observés est de faible intérêt, quelques uns présentent cependant des caractères globaux attractifs, comme le rendement, avec parfois des valeurs, pour certains d'entre eux, supérieures aux parents. Pour quelques caractères plus précis, comme la précocité de floraison, le port érigé des plantes ou la hauteur à floraison de celles-ci, des mutants particuliers ont un intérêt appliqué fort. Certaines de ces mutations ont été identifiées comme caractéristiques d'allèles de gènes connus. Selon Gustafsson (1971), une nouvelle variété plus précoce et plus résistante à la verse, « Pallas », a été développée en Suède à partir de lignées directement mutées de la variété « Bonus ». Pallas a alors été cultivée sur des surfaces importantes et utilisée comme ressource génétique dans de nombreux autres programmes d'amélioration de cette espèce en Europe.

Dans une synthèse plus récente, Ahloowalia (2004) décrit l'effort mondial d'utilisation des technologies de la mutagenèse en relation avec l'amélioration des plantes. Il décompte plus de 2250 variétés, toutes espèces cultivées confondues, qui soit seraient directement issues de travaux de mutagenèse, ou encore auraient intégré dans leur généalogie un parent issu de mutagenèse. Les mutations obtenues par exposition à des agents chimiques ont été les plus fréquentes représentant 64% de l'ensemble suivi par celles obtenues par les rayonnements X (22%). Il note également que 75% des mutants ont été développés sur plantes à graines et 25% sur plantes ornementales. Les efforts de développement de telles variétés ont été largement répartis dans le monde avec, dans les années récentes une contribution plus forte des pays de la zone Asie. La FAO, suite aux informations transmises par les pays, tient à jour une base de données de ces variétés issues de travaux de mutagenèse. Par ailleurs, à ce jour, des protocoles de développement de tels mutants ont été optimisés pour plus d'une centaine d'espèces différentes (Maluszynski, 2009).

#### **2.2.2.1.2. Eléments de mutagenèse**

La mutagenèse consiste donc à exposer volontairement un organisme à l'action d'un agent mutagène, ce qui a pour effet d'augmenter le taux de mutations dans l'organisme. Cette augmentation peut atteindre plusieurs puissances de 10, mais les altérations de l'ADN du génome resteront aléatoires. Un organisme vivant ne peut pas porter un très grand nombre de mutations ponctuelles dans ses séquences codantes sans voir le risque de nuire à son développement. Les agents utilisés relèvent de 3 types.



### Agents physiques.

La méthode la plus utilisée est l'irradiation de graines par des rayons  $\gamma$ , mais d'autres rayonnements peuvent être utilisés, tels que les neutrons rapides susceptibles d'induire de courtes délétions (Li *et al.*, 2001). Les doses utilisées sont optimisées pour maintenir un équilibre entre le nombre de mutations portées par une graine et le nombre de graines capables de germer. En effet, une fraction des gènes de l'organisme et les protéines qu'ils codent sont indispensables à la vie des cellules et à leur division. Une irradiation trop forte provoque de nombreuses mutations dont certaines risquent d'invalider l'expression de l'un de ces gènes : la mutation sera *létale* et la graine ne pourra plus germer. Or il est nécessaire d'obtenir non seulement une collection des graines mutagenisées à l'issue de l'irradiation mais aussi, pour celles qui pourront germer, la régénération d'une plante entière capable de donner elle-même des graines. Dans le cas des VTH, la sélection des plantes tolérantes à un herbicide, issues de mutagenèse, est réalisée sur milieu de germination contenant l'herbicide. Cependant, le génome de ces plantes contiendra plusieurs mutations qu'il sera ensuite nécessaire d'éliminer par rétrocroisements (ou back-crosses en anglais, voir Figure 2.4.). A noter : les faibles doses de rayons provoquent surtout des mutations ponctuelles, et les doses fortes des cassures double-brin qui engendrent des délétions / inversions / translocations de séquences chromosomiques plus ou moins longues.

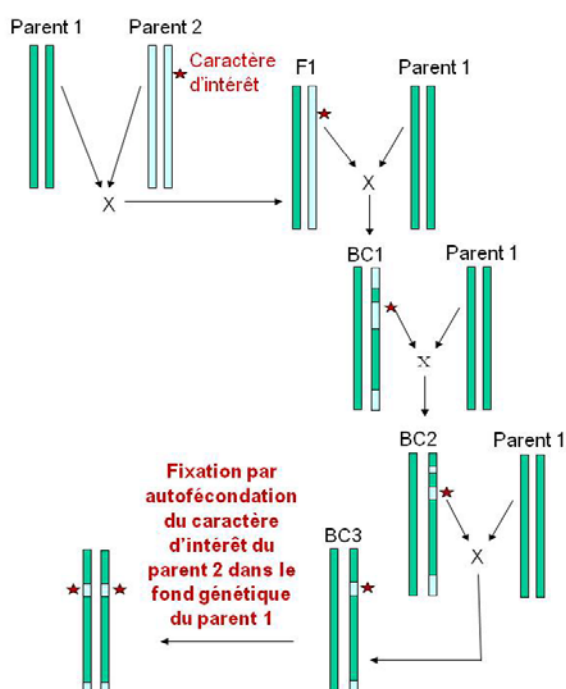
### Agents chimiques.

Le plus employé est l'éthyle-méthyle-sulfonate (EMS). Ce composé modifie souvent un groupement de décoration de la base G, et l'ADN polymérase incorpore alors dans le brin en cours d'allongement un T à la place du C normalement attendu. La mutagenèse se fait par immersion des graines dans une solution d'EMS. Les mutations sont massivement ponctuelles et du type C- $\rightarrow$  T (Primrose *et al.*, 2004). Dans ce cas aussi, des rétrocroisements (Fig 2-4) seront nécessaires pour éliminer les mutations qui ne concernent pas le gène d'intérêt agronomique.

### Mutagenèse insertionnelle.

Il est possible d'introduire par transformation un élément mobile étranger du type répliatif, dont les copies vont s'insérer au hasard dans le génome. Une fraction de ces copies peut invalider l'expression de gènes si les séquences touchées ont une fonction. De plus, chacune des copies intégrées au niveau d'un gène ou ailleurs, peut aussi se dupliquer et la copie ainsi générée peut s'intégrer à son tour n'importe où dans le génome (amplification du nombre de copies intégrées). Les transposons utilisables sont par exemple Ac-DC, Tos 17, Tnt1, etc.

Figure 2-4. Principe des rétrocroisements (ou croisements-retours, ou *back-crosses*)



Le caractère à introgresser, présent sur le parent 2, est figuré par une étoile rouge sombre. Ce parent numéro 2 peut appartenir à une espèce voisine de l'espèce cultivée, dans laquelle une mutation spontanée d'intérêt agronomique est apparue au champ. Il peut également être une plante issue de graines soumises à la mutagenèse.

Le parent 1 est la variété cultivée, éventuellement variété élite, dont on veut conserver les qualités agronomiques.

L'introduction de la mutation d'intérêt se fait en croisant la descendance des parents 1 et 2 (F1) par le parent 1, puis en croisant la descendance obtenue (BC1) de nouveau par le parent 1, etc.

*In fine*, la mutation d'intérêt est introduite dans le fond génétique de la variété cultivée. Plus le nombre de rétrocroisements sera important, plus le retour vers le génome du parent récurrent (parent 1) sera complet. En pratique, les améliorateurs réalisent au minimum 6 ou 7 rétrocroisements.

Schéma d'après P. Barret, comm. pers.

Une autre technique de mutagenèse insertionnelle utilise la bactérie *Agrobacterium* porteuse d'un plasmide Ti dont un fragment, le T-DNA, s'insère "au hasard" dans le génome végétal (pour plus de détail, voir ci-dessous la section "transformation"). La méthode de l'agro-infiltration sous vide d'inflorescence est alors la technologie de choix (Bechtold *et al.*, 1993). Cette mutagenèse insertionnelle est très puissante. Après mutagenèse par transposon ou par insertion du T-DNA, une campagne d'extraction de l'ADN des plantes traitées permet d'obtenir la séquence des régions flanquantes et d'identifier les gènes touchés. L'exemple français est celui de la base de données flag-db, regroupant des séquences d'*Arabidopsis* mutagénisées par le plasmide Ti d'*Agrobacterium* (Samson *et al.*, 2002).

### 2.2.2.1.3. L'utilisation de la variabilité génétique et des mutations spontanées ou induites pour la création de VTH

#### Détection de variation génétique quantitative

Pour un certain nombre de résistances aux herbicides, il a été mis en évidence une variabilité génétique quantitative au sein des espèces cultivées, mais cette variation continue ne donne pas suffisamment prise à la sélection pour permettre la création de cultivars tolérants. Ainsi, on peut citer :

- le **coton**, chez lequel une variabilité génétique naturelle a été mise en évidence pour le bromoxynil, cette diversité s'ajoutant aux cotons obtenus par transgénèse pour ce trait - (Baldwin *et al.*, 1997), pour la trifluraline (Bourland, 1985), la prométryne où la tolérance apparaît associée à la présence de glandes foliaires (Foster *et al.*, 1994), le trifloxysulfuron (De Freitas *et al.*, 2007 ; Molin and Khan, 1996), l'acifluorfen (Oakley, 1986), le 2-4 D (Regier *et al.*, 1986), et le diuron (Da Silva and Beltrao 1992) et l'atrazine (Abernathy *et al.*, 1979) ;
- le **lin**, chez lequel une variabilité génétique a été mise en évidence pour le bromoxynil (Arnold, 1975), le chlorsulfuron (Heller *et al.*, 2002), l'ETPC et la trifluraline (Palafox de la Barreda, 1981) ;
- l'**orge** avec des mutants tolérants à l'atrazine (Rios *et al.*, 2003). Ces mutations ont été identifiées dans du matériel génétique portant le gène nucléaire *mutator*, qui contrôle des variations du génome chloroplastique, cité pour la première fois en 1992 (Prina, 1992). L'analyse du génome chloroplastique des deux mutants tolérants à l'atrazine montre une substitution unique (de A à G en position 790) sur la séquence codante du gène *psbA*, conduisant à un changement d'acide aminé. Cette mutation naturelle n'a jamais été utilisée pour la création de variétés tolérantes aux herbicides de la classe C ;
- le **blé** chez lequel une résistance quantitative à l'atrazine a été identifiée (Bean *et al.*, 1999). Cette résistance quantitative aurait pu être utilisée pour permettre au blé de mieux tolérer les résidus d'atrazine présents dans certaines rotations à forte présence de maïs quand l'atrazine était encore massivement utilisée.
- chez le **maïs**, une résistance au séthoxydime (classe A) a été obtenue par sélection sur culture de tissus, résistance associée à des mutations des gènes ACCase 1 et 2 (Gengenbach *et al.*, 1999; Parker *et al.*, 1990). Une résistance naturelle aux cycloxydimes a également été identifiée et exploitée dans le cadre du système DUO system® de Basf utilisé en France et en Europe. La tolérance peut être obtenue à l'état hétérozygote pour le seul allèle CTM (Vancetovic *et al.*, 2009).
- chez le **colza**, des génotypes résistants à l'atrazine (classe C1) ont été identifiés conduisant à la création de la variété Triton, la résistance étant due au cytoplasme ATR. A partir de cette source, la résistance à l'atrazine a été transférée à une large gamme de matériel au sein de l'espèce *Brassica napus* (Labana *et al.*, 1995), et vers *B. oleracea* par cultures d'embryons (Ayotte *et al.*, 1986), fusion de protoplastes (Jourdan *et al.*, 1987)

En pratique, l'exploitation de mutations spontanées ou induites pour l'obtention de VTH s'est fortement concentrée sur les mutations du gène de l'ALS, cible enzymatique des herbicides de la classe B. La présente section porte donc essentiellement sur l'obtention de variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS. Une dizaine de mutations (par substitution d'acides aminés) ont été répertoriées sur les 3 gènes codant l'ALS (AHAS1, AHAS2 et AHAS3) chez les espèces cultivées. Elles confèrent des niveaux de résistance variés aux différents inhibiteurs de l'ALS selon le gène, l'allèle et l'homozygotie. Cependant, la caractérisation moléculaire de la mutation n'est pas toujours connue ou publiée chez les VTH commercialisées. Selon les cas, la résistance aux herbicides est obtenue par mutation sur l'un ou plusieurs des différents gènes AHAS.

*Le cas de l'exploitation de mutations génétiques dans la séquence de l'enzyme AHAS  
(cible des herbicides de classe B)*

La principale exploitation de la variabilité génétique des espèces cultivées réside aujourd'hui dans la valorisation de mutations intervenant dans la séquence protéique de l'enzyme (par exemple colza suite à une mutagenèse *in vitro*, tournesol par utilisation de mutations spontanées d'écotypes d'*Helianthus annuus* sauvages). Ces mutations sont aussi régulièrement répertoriées chez les espèces adventices.

La position des mutations est référencée par rapport à la séquence protéique de l'enzyme d'*Arabidopsis thaliana*, et certaines d'entre elles sont retrouvées assez systématiquement chez les génotypes présentant une tolérance soit aux imidazolinones (par ex. Ser 653), soit aux sulfonyle-urées (par ex. Pro197), soit une tolérance croisée aux deux familles d'herbicides (par ex. Trp574). Tranel et Wright (2002) ont répertorié l'ensemble des mutations identifiées sur l'ALS. Des publications rapportent des mutations nouvelles ou sur de nouvelles espèces mais toujours aux mêmes localisations sur le gène. Quelques-unes de ces publications identifient des mutations dans les espèces cultivées. Le Tableau 2-3. recense les tolérances obtenues par exploitation de mutation spontanée ou par sélection dirigée chez les espèces cultivées ou leurs apparentées, en s'appuyant sur le recensement de Tranel et Wright (2002) et en le complétant par ces publications plus récentes.

**Tableau 2-3.** Mutations du gène ALS (AHAS) conférant une tolérance aux imidazolinones ou aux sulfonyle-urées dans les plantes cultivées

| Résidu muté | Origine de la tolérance         | Espèce végétale  | Références   |
|-------------|---------------------------------|--|--|
| Ala122      | Plante – select. Intentionnelle | Tournesol<br>Blé   | World patent WO92/08794<br>(Sala <i>et al.</i> , 2008b)<br>(Li <i>et al.</i> , 2008) |
| Met124      | Plante – select. Intentionnelle |  | Ott <i>et al.</i> , 1996   |
| Pro197      | Plante – select. Intentionnelle | Tabac<br>Medicago<br>Tournesol                             | (Haughn <i>et al.</i> , 1988)<br>(Oldach <i>et al.</i> , 2008)                       |
| Arg199      | Plante – select. Intentionnelle |  | Ott <i>et al.</i> , 1996   |
| Ala205      | Plante – select. naturelle      | Tournesol Clearfield®                                      | (Kolkman <i>et al.</i> , 2004)   |
| Phe206      | Plante – select. intentionnelle |  | World patent WO/96/033270  |
| His352      | Plante – select. intentionnelle | Tabac  | (Oh <i>et al.</i> , 2001)  |
| Trp574      | Plante – select. intentionnelle | Tabac<br>Colza, maïs Clearfield®                           | (Lee <i>et al.</i> , 1988)   |
| Ser653      | Plante – select. intentionnelle | Arabidopsis<br>Orge<br>Colza, blé, maïs et riz Clearfield® | (Sathasivan <i>et al.</i> , 1991)<br>(Lee <i>et al.</i> , 2011)                      |
| Gly 654     | Plante – sélection naturelle    | Riz  | (Sales <i>et al.</i> , 2008)   |

D'après Tranel et Wright, 2002

Dans l'idéal, une mutation conférant une tolérance à l'une des familles mais pas à l'autre présente évidemment un intérêt pour la gestion des adventices sur des cultures en rotation traitées avec l'une puis l'autre des sous-familles du même groupe d'herbicides. Dans la pratique, les modèles mis en œuvre par les firmes phytosanitaires "empilent" généralement plusieurs mutations, soit parce que le niveau de tolérance obtenu avec une mutation pourrait ne pas être suffisant même lorsque cette mutation est présente à l'état homozygote (cas du colza sur la mutation Ser653), soit parce le risque majeur pris en compte est l'effet phytotoxique de l'herbicide sur la culture.

*Mise à profit de mutations spontanées*

Chez le **colza** (*Brassica napus*), des mutants ont été obtenus dès 1989 à partir de culture de microspores (Swanson *et al.*, 1989 ; Wiersma *et al.*, 1989), et les mutations utilisées pour le développement de variétés tolérantes aux imidazolinones ont été identifiées soit sur le gène AHAS1 (Ser653) soit sur le gène AHAS3 (Trp574), localisés respectivement sur les génomes C et A du colza . La firme BASF<sup>2</sup> a développé le concept

<sup>2</sup> BASF propose en fait [brevet Sievernich et al] l'association de trois familles d'herbicides : un inhibiteur de l'ALS, un inhibiteur de la division cellulaire (métazachlore, chloroacétamide, Groupe K3/ HRAC) et alternativement une auxine synthétique (quinmerac, groupe O/HRAC) ou un inhibiteur de la synthèse des caroténoïdes (clomazone, groupe F3/HRAC). Le brevet revendique un effet synergique

Clearfield® sur colza et considère que la mutation PM1 de la copie AHAS1 apporte 15% de la résistance aux imidazolinones, que la mutation PM2 de la copie AHAS2 en apporte 85%, et que les deux mutations doivent être développées à l'état homozygote (brevet WO/2004/040012). Le développement d'hybrides de colza d'hiver tolérant ces herbicides et exploitant la stérilité mâle cytoplasmique n'est pas une opération simple.

Chez le **tournesol** (*Helianthus annuus*), la résistance aux herbicides a été d'abord identifiée en conditions agronomiques à partir de tournesol sauvage. En effet, la résistance d'écotypes sauvages d'*Helianthus annuus* dans un champ de soja traité aux imidazolinones dans le Kansas a été exploitée en transférant cette caractéristique dans le tournesol cultivé (Al-Khatib *et al.*, 1998). Il a été montré que sur les 3 gènes AHAS identifiés, seul AHAS1, cartographié sur le groupe de liaison 9, montrait un polymorphisme en relation avec la tolérance aux herbicides (Kolkman *et al.*, 2004). Des outils de détection de ce polymorphisme ont été développés à la fois pour les trois gènes, facilitant les programmes d'amélioration mais aussi permettant un suivi du polymorphisme dans les populations cultivées et sauvages. L'allèle mutant Ala205Val est considéré comme semi-dominant, et les hybrides de tournesol développant le concept Clearfield® sont censés être homozygotes pour cet allèle (document de décision DD2005-50 : détermination du risque de l'hybride de tournesol (*Helianthus annuus* L.) X81359 Clearfield<sup>MC</sup> tolérant l'Imidazolinone de BASF, Canada) qui confère une tolérance acceptable aux imidazolinones mais pas aux sulfonyle-urées. Parmi les génotypes homozygotes pour la mutation, il semble y avoir une variabilité pour la résistance aux imidazolinones. L'USDA a annoncé en janvier 2006 la diffusion des lignées HA442, tolérantes à l'imazamox et à forte teneur en acide oléique, et RHA 443, également tolérante à cet herbicide et intégrant une résistance au mildiou (*Plasmopara halstedii*) provenant de *Helianthus argophyllus* via des croisements avec la lignée RHA419. Par ailleurs, par criblage multiple à l'aide d'imazamox et de malathion, (Kaspar *et al.*, 2011) ont identifié un mutant de tournesol avec une résistance conjointe permettant un nouveau mode de gestion des adventices. Ce mutant dénommé TolP450-1 semble être un mutant spontané dans une population déjà résistante à l'imazamox, ceci n'ayant pas d'application commerciale à ce jour.

La **betterave** (*Beta vulgaris*) est un cas assez semblable à ceux du tournesol et du colza pour la tolérance aux imidazolinones. En effet, un mutant spontané à résistance monogénique co-dominante a été rapporté (Hart *et al.*, 1993) sans que la base moléculaire de la mutation n'ait été publiée. Mais trois autres mutations ont été obtenues par criblage de cultures cellulaires en embryogenèse somatique sous pression d'imazapyr (Wright and Penner, 1998; Wright *et al.*, 1998). L'efficacité a été clairement démontrée et pourtant, de façon contrastée avec le tournesol et le colza, aucune de ces mutations n'a fait l'objet d'une exploitation en grande culture. En effet, les programmes de désherbage de la betterave reposent surtout sur l'utilisation de molécules des classes HRAC C et N.

Comme pour le colza et la betterave, la sélection sur culture cellulaire a été utilisée chez la **chicorée** (*Cichorium intibus*) en absence de traitement mutagène (Lavigne *et al.*, 1994). Ceci a permis d'identifier une mutation monogénique co-dominante conférant une résistance très forte aux sulfonyle-urées, sans néanmoins d'exploitation industrielle. Cette mutation a fait l'objet d'une caractérisation biochimique démontrant son efficacité (Dewaele *et al.*, 1997) et son expression dans les différents tissus (Degrande *et al.*, 2000), mais la caractérisation moléculaire n'a pas été publiée à notre connaissance.

#### Mise à profit de mutations résultant de mutagenèse

A la position Ala122 du gène AHAS-1, une mutation obtenue par mutagenèse chimique sur graine de **tournesol** confère une forte tolérance à une large gamme d'imidazolinones (Sala *et al.*, 2008b). A cette position, le mutant tolérant porte une thréonine en place d'une alanine (Ala122Thr). La mutation est monogénique à dominance partielle. Cette lignée a été obtenue par traitement mutagène à l'EMS suivi d'une sélection à l'aide de l'imazapyr sur une population M2 de 600 000 plantes (Sala *et al.*, 2008a). Elle ne semble pas avoir fait l'objet d'une exploitation commerciale à ce jour.

A la différence du système Clearfield®, la famille de brevets déposés par DuPont sous le terme générique d'ExpressSX® (ex. brevet WO/2001/0165922) revendique une tolérance aux sulfonyle-urées pour des génotypes de tournesol obtenus par mutation à l'EMS et sélectionnés en présence de cette famille d'herbicides. Cette famille de brevets s'appuie sur le dépôt de différentes lignées obtenues par cette méthode par Pioneer. Elle ne fait pas référence à une mutation particulière de la séquence du gène AHAS. Dans le brevet initial, la mutation est décrite comme "particulièrement héritable", sans qu'il soit clairement tranché entre la dominance ou la semi-

---

permettant de combattre efficacement, dans le canola, trois des adventices présentes chez le colza en France : le Géranium à tige grêle, le Sisymbre officinal et le Gaillard.

dominance (i.e. l'additivité, c'est-à-dire dans la pratique la nécessité de construire un génotype homozygote pour le caractère afin de disposer d'un niveau acceptable de tolérance), sauf peut-être vis-à-vis du metsulfuron-méthyle. Les mutants obtenus sont particulièrement tolérants à certaines des sulfonyle-urées (metsulfuron-méthyle, tribenuron-méthyle, éthametsulfuron-méthyle), et le niveau de tolérance à l'imazéthapyr (une imidazolinone) est supérieur à celui obtenu pour des sulfonyle-urées. Ceci peut évoquer une tolérance croisée aux deux familles. Comme la mutation Pro197Leu, déjà identifiée chez le tournesol, confère ce type de comportement, il est vraisemblable que la solution préconisée par ce brevet ne permettra pas de disposer des imidazolinones comme recours pour combattre des adventices qui auraient acquis la résistance aux sulfonyle-urées à la suite d'une mutation du résidu 197 de l'ALS.

Notons également l'existence de la famille de brevets de Syngenta (ex. brevet US/2005/112571). La première publication disponible date de 2003, suivie par une publication américaine de 2005. Ce brevet rapporte les mécanismes de la résistance aux imidazolinones conférée par les mutants de la lignée Ann-Pur dans la séquence du gène AHAS (voir Tableau 2-4).

**Tableau 2-4.** Les mutations exploitées pour la tolérance aux inhibiteurs de l'ALS chez le colza et le tournesol

|                   | Espèce végétale                       |                |   |   |
|-------------------|---------------------------------------|----------------|---|---|
|                   | Colza                                 |                | Tournesol   |   |
| Mutant ou dérivés | P1 ou PM1                             | P2 ou PM2      | HA425 [mainteneur] + RHA 426, RHA427 [restaureurs], Imisun-1, Imisun-2. Origine : Ann_Pur (sélectionnée pour la résistance à l'imizethapyr) | Sures-1 [mainteneur] + Sures-2 [restaureur]. Origine : Ann_Kan (sélectionnée pour la résistance au chlorsulfuron) |
| Mutation          | Ser 653 -> Asp                        | Trp 574 -> Leu | Ala205 -> Val   | Pro197 -> Leu   |
| Tolérance à (*)   | IMI                                   | IMI + SU       | IMI, partielle à SU   | ?   |
| Gène              | AHAS1                                 | AHAS3          | AHAS1 (**)  |   |
| Génome            | C                                     | A              |   |   |
| Mode d'obtention  | Mutagenèse sur culture de microspores |                | Sélection <i>H. annuus</i> sauvages dans parcelles de soja du Kansas traitées à IMI   |   |

\* : IMI : Imidazolinone ; SU : sulfonyle-urées

\*\* : trois gènes AHAS cartographiés chez le tournesol à ce jour. Seul le gène AHAS présente un polymorphisme en liaison avec la tolérance aux herbicides inhibiteurs de l'ALS.

En mars 2006, un brevet détenu par BASF et ADVANTA a été déposé pour le tournesol (brevet WO/2006/024351 BASF-ADVANTA). Il y est décrit une mutation dans la grande sous-unité de l'enzyme AHAS, dont il a été déduit qu'il s'agissait de Pro197Leu (nomenclature *Arabidopsis*), par comparaison avec la référence décrite pour la mutation obtenue dans IMISUN-1. Il s'agirait donc de la même mutation que celle obtenue dans SURES-1. Cette mutation serait présente dans la lignée MUT28. L'utilisation de cette lignée comme "donneur" dans un programme de conversion y est revendiquée aussi bien que l'utilisation de ces résultats en transformation génétique. Il semble cependant que la tolérance aux imidazolinones soit moins bonne que celle de IMISUN-1, et que la tolérance aux sulfonyle-urées soit aussi bonne que celle de SURES-1 (pages 67 à 69 du texte du brevet).

La stratégie Clearfield® est également utilisée sur le riz. Toutefois, l'application répétée des imidazolinones a conduit à la sélection de populations de riz sauvages (red rice) résistantes à cet herbicide, la mutation étant détectée à la position Gly654 (Gly654Glu) (Sales *et al.*, 2008)

La tolérance aux herbicides inhibant l'AHAS a aussi été fréquemment induite par traitement mutagène sur de nombreuses espèces. Ainsi, chez l'orge, une population M2/M3 obtenue à partir de grains de la variété Bob traités par l'aide de sodium a été criblée pour la résistance aux herbicides inhibant l'acétohydroxy-acide synthase (AHAS). La mutation correspond à la position Ser653, convertie en Asparagine (Ser653Asp), et conduit à une quantité de transcrits 4 fois plus grande chez le mutant (Lee *et al.*, 2011). Une mutation sur le gène codant l'AHAS, localisé sur le chromosome 6D (Ala122, mutation en thréonine Ala122Thr), a été obtenue par mutagenèse chimique sur du blé dans la variété Brockton par traitement avec une solution d'azide de sodium et un criblage sur plantules, les graines étant trempées dans une solution à 400 ppm combinant imazapyr and

imazapic (Li *et al.*, 2008). Des mutants tolérants aux imidazolinones avaient été induits chez le blé par mutagenèse sur graines à l'aide d'un traitement EMS et sélection à l'aide d'imizapyr dès 1992 (Newhouse *et al.*, 1992), sans que le gène incriminé et la position de la mutation ne soient alors rapportés.

Pour éviter que des cultures de légumineuses fourragères annuelles ne souffrent de la présence en sol de résidus de sulfonyle-urées, une équipe australienne (Oldach *et al.*, 2008) a sélectionné par mutagenèse chimique des mutants résistants dans l'espèce *Medicago truncatula* ; cette mutation, monogénique dominante, semble affecter le codon proline en position 197.

Chez le **coton**, une mutagenèse à l'EMS (à la dose de 2,45%) a été conduite sur graines, et avec traitement des plantules à l'imazéthapyr puis à l'imazamox sur les générations M5 et M6. Ceci a permis l'obtention de quatre mutants tolérants à l'imazamox (Bechere *et al.*, 2010). Ce travail, entrepris par l'USDA permet de réduire la dépendance des producteurs vis-à-vis des cotons génétiquement transformés pour être résistants au glyphosate et la possibilité de diversifier les options de désherbage. On peut signaler que des cotons tolérants aux imidazolinones ont également été développés par transgénèse (Anderson *et al.*, 1997).

## 2.2.2.2. Obtention de plantes tolérantes à un herbicide, issues de transformations

*Francis Quétier*

### 2.2.2.2.1. Les techniques de transformation mises au point avant 2000

En 1944, une équipe américaine démontre que des bactéries à coque lisse peuvent être transformées en bactéries à coque rugueuse en les mettant en présence d'ADN extrait de bactéries à coque rugueuse (Avery *et al.*, 1944). Des tentatives de transposition de cette technologie simple aux plantes ont été réalisées à partir des années 1970 : des fragments de tiges et de racines ont été plongés dans des solutions d'ADN, de même que des graines préalablement scarifiées par passage au mixer, sans aboutir à des résultats convaincants et reproductibles. Des essais par injection directe d'une solution d'ADN dans des graines en formation ont également été infructueux.

La technologie de transformation par les liposomes est apparue en 1984 (Caboche et Deshayes, 1984) et a été utilisée pendant quelques années ; l'ADN est encapsidé par un mélange de lipides et le liposome ainsi formé peut fusionner avec la membrane plasmique d'un protoplaste (cellule de plantes débarrassée de sa paroi cellulosique et donc limitée uniquement par la membrane plasmique), l'ADN rentrant dans la cellule par un mécanisme d'endocytose. La formation des liposomes limitant la taille de l'ADN à encapsider à des quelques kb, la lipofection a été abandonnée au profit d'autres méthodes. L'utilisation des virus végétaux pour internaliser de l'ADN dans des plantes s'est heurtée à ce même problème de limitation de la longueur de l'ADN importable, mais également à la grande rareté des virus capables de s'intégrer dans le génome des plantes.

Après l'émergence des technologies d'obtention des protoplastes, des transformations stables ont été obtenues dès 1985, soit avec des suspensions de protoplastes mises en culture en présence d'ADN nu (Meyer *et al.*, 1988), soit avec des protoplastes soumis à une électroporation en présence d'ADN exogène (chocs électriques de quelques millisecondes à 1 000-2 000 volts) (Bates, 1989). A l'époque, pour les monocotylédones où des protoplastes transgéniques traités comme indiqué ci-dessus et évoluant en microcultures transgéniques ont pu être sélectionnés, la régénération de plantes entières n'a pas été possible et seules des cultures d'embryons ont permis l'obtention de plantes transformées, mais avec un rendement très faible.

En 1987 apparaît la méthode de **transformation par biolistique** avec le canon à particules, due à J.C. Sanford (Klein *et al.*, 1987) : des molécules d'ADN sont déposées sur des micro-particules (1  $\mu\text{m}$ ) d'or ou de tungstène. Elles sont accélérées à 180km/h environ par l'explosion d'une poudre dans un tuyau. Les particules pénètrent dans les cellules du tissu cible (disques foliaires, racines, cals de culture *in vitro*, cultures d'embryons) et certaines rentrent dans les noyaux. Les molécules d'ADN se détachent des micro-particules par frottement avec le fluide cellulaire, très visqueux. Une deuxième génération de canons à particules a utilisé comme propulseur une décharge d'hélium sous pression (Sanford *et al.*, 1991), et une troisième génération la déflagration d'un arc électrique (McCabe et Christou, 1993). La transformation stable a été obtenue pour le soja (McCabe *et al.*, 1988), le tabac (Klein *et al.*, 1988a ; ), le maïs (Klein *et al.*, 1988b), le coton (Finner et Mac Mullen, 1990), la papaye (Fitch *et al.*, 1990), le riz (Christou *et al.*, 1991), le blé (Vasil *et al.*, 1992), l'avoine (Somers *et al.*, 1992),

la canne à sucre (Bower et Birch 1992) et l'orge (Wan et Lemaux, 1994). Dans le cas du blé et de l'orge, des variétés tolérantes au glufosinate (par insertion du gène marqueur *bar* codant une acétyl transférase qui inactive le glufosinate) ont été obtenues au moyen de cette technique (*op. cit.*).

L'**utilisation d'*Agrobacterium*** reste cependant la première méthode utilisée avec succès et "en routine" pour la transformation végétale (Horsch *et al.*, 1985). Elle repose sur une propriété intrinsèque des bactéries *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium rhizogenes*. Ces bactéries indigènes du sol sont capables de se fixer sur les cellules des plantes au niveau de blessures, en provoquant respectivement la formation de tumeurs sur tiges (ou feuilles), ou une prolifération importante d'un système racinaire au point d'infection. Les organes atteints synthétisent des quantités anormales de phytohormones (auxines et kinétines ; Zhu *et al.*, 2000) ainsi que des acides aminés particuliers et spécifiques des souches bactériennes appelés opines (Dessaux *et al.*, 1998). Ce phénomène, connu depuis 1911, a été élucidé en 1974 avec la découverte du plasmide Ti (tumor-inducing), une molécule d'ADN d'environ 200 kb, à répllication autonome, spécifique d'*Agrobacterium tumefaciens*, par l'équipe de J. Schell et M. Van Montagu (Zaenen *et al.*, 1974). Chez *A. rhizogenes*, se trouve un plasmide homologue au Ti, le Ri (root-inducing), qui, comme le pTi, co-existe avec les chromosomes bactériens de 2 à 3 millions de paires de bases chacun (Satuti *et al.*, 2000 ; Urbanczyk *et al.*, 2003).

Durant le processus d'infection de la plante par *Agrobacterium*, un fragment du plasmide Ti (ou Ri), d'environ 20 kb, est découpé par des endonuléases codée par des gènes bactériens de virulence, et transféré dans la cellule végétale par l'intermédiaire de pili (sorte de "poils" creux) localisés à la surface de la bactérie. Ce fragment d'ADN, appelé T-DNA ou ADN-T en français (pour ADN-transféré) s'intègre au hasard dans le génome nucléaire de la plante et certains gènes qu'il porte codent pour la surproduction de phytohormones ou l'hypersensibilité à l'auxine, à l'origine de la formation de tumeurs et du chevelu racinaire (revue : Gelvin, 2003). Dès 1977, la technologie de recombinaison d'ADN plasmidiques impliquant des endonucléases de restriction (apparue en 1975-1976) a permis de retirer les gènes portés par le T-DNA des plasmides Ti/Ri (dit plasmides désarmés) et d'insérer à leur place des gènes codant un ou des caractères agronomiques désirés, telle la résistance à des herbicides. Le système Ti/Ri d'*Agrobacterium* a alors été largement utilisé pour transformer des dicotylédones, dès le début des années 80, puis plus d'une décennie après, pour transformer des monocotylédones. Son emploi repose sur la co-culture de fragments de tige/feuille/racine en présence d'*Agrobacterium* dont le T-DNA contient le gène d'intérêt et un gène de sélection. Dans ce but, les résistances à un antibiotique ou à herbicide (souvent le glufosinate) ont été largement utilisées (Vasil *et al.*, 1992, Wan et Lemaux, 1994). Les fragments des tissus sont ensuite mis en culture *in vitro* sur milieu contenant un antibiotique létal pour *Agrobacterium* et l'agent de sélection. Des modifications de composition du milieu de culture en phytohormones permettront la régénération de plantes entières (revue : Primrose *et al.*, 2004).

Une variante de la transformation classique par *Agrobacterium* a été proposée en 1993, et est toujours largement utilisée. Il s'agit de l'agroinfiltration sous vide de boutons floraux par des agrobactéries. Cette technique a été initialement introduite en 1953 (Rack, 1953) pour induire la pénétration d'*Agrobacterium* sauvages, déposés sous forme de gouttelettes de milieu de culture sur des feuilles de plantules placées dans un dessiccateur. La mise sous vide (très modérée) suivie du retour à la pression atmosphérique fait pénétrer les bactéries (1,5 x 4 µm environ) dans les espaces intercellulaires et dans une partie des cellules. Cette technologie, appliquée aux boutons floraux, permet d'obtenir des graines transgéniques avec une bonne efficacité (Bechtold *et al.*, 1993). Le simple trempage d'inflorescences dans une suspension d'*Agrobacterium* au stade des bourgeons floraux encore fermés conduit également à des résultats similaires (Clough et Bent, 1998).

A partir de 1991, plusieurs équipes ont repris les essais de transformation directe par électroporation d'ADN sur des embryons immatures de blé et de maïs (Dhalluin *et al.*, 1992 ; Kloti *et al.*, 1993 ; Xu et Li, 1994) et ont obtenu des transformations stables. Cette stratégie a été brevetée par Plant Genetic Systems (PGS, US Patent 6074877).

Vers la même époque, une autre équipe développe une méthode différente de transformation directe par de l'ADN. Des microfibrilles de carbure de silicium (diamètre 0,6 µm) sont ajoutées à la solution d'ADN, puis le matériel végétal est immergé en présence de ces fibres, avec une légère agitation qui perce les parois et la membrane plasmique des cellules (Kaeppeler *et al.*, 1990). Cette méthode a été utilisée chez le blé tendre (Serik *et al.*, 1996), le riz (Nagatani *et al.*, 1997), le maïs (Frame *et al.*, 1994), le tabac (Kaeppeler *et al.*, 1990), le ray-grass et la fétuque (Dalton *et al.*, 1998), l'agrostide (Asano et Ugaki, 1994), le coton (Asad *et al.*, 2008), le soja

(Khalafalla *et al.*, 2006). Dans le cas du tabac et du maïs, des variétés tolérantes au glufosinate ont été obtenues au moyen de cette technique par insertion du gène *bar* (*op. cit.*).

Deux points importants doivent être mentionnés :

- le facteur limitant pour l'obtention d'une plante transgénique a longtemps résidé, non pas dans le processus de transformation *per se*, mais dans la possibilité de régénérer une plante entière viable et fertile à partir de l'organe, du tissu ou de la cellule utilisée ;
- quelle que soit la méthode de transformation utilisée, l'analyse des descendances sexuées des plantes transgéniques a montré que le transgène se transmet de la même manière que tous les gènes résidents, en suivant les mêmes règles de ségrégation au travers des générations successives. Pour une revue générale sur la transgénèse des plantes, voir Primrose *et al* (2004).

Une fois intégrée(s) dans un chromosome nucléaire, la ou les copie(s) du transgène se transmette(nt) comme n'importe quel gène nucléaire résidant, avec une hérédité mendélienne, et présente(nt) le même niveau de stabilité de structure et de position au cours des générations successives que n'importe quel gène résident. Comme les autres gènes, il est soumis à de rares mutations du type changement d'une base par une autre (*Single Nucleotide Polymorphism*), de petites insertions et délétions, soit neutres (sans effets), soit modifiant le niveau d'expression du gène ou sa spécificité tissulaire d'expression (les organes où il s'exprime). Il peut être également affecté par l'insertion d'un transposon qui l'inactive, ou entraîné dans des grands mouvements de translocation/inversion au niveau chromosomique. Au niveau épigénétique, dans le cas des transgènes ayant fait l'objet d'une étude, ceux-ci acquièrent au bout de quelques divisions cellulaires un statut de méthylation stable. Ces caractéristiques sont communes aux transgènes "supplémentaires" (pour lesquels il n'y a pas de copies résidentes même similaires dans le génome cible) et aux nouvelles versions de gènes résidents (corrections de gènes). Les VTH partagent ces caractéristiques.

#### 2.2.2.2. Les outils d'optimisation de construction des vecteurs de transformation

Quelles que soient les méthodes de transformation, des séquences de régulation sont nécessaires pour la bonne expression d'un transgène additionnel. En amont de chaque gène résident, se trouve une séquence d'ADN appelée promoteur qui détermine si ce gène, localisé dans le génome nucléaire, doit être transcrit en ARN à un instant donné. Cet ARN peut ensuite passer dans le cytoplasme pour y exercer sa fonction directement (lorsque le gène ne code pas une protéine, comme cela est le cas pour les micro-ARN) ou indirectement s'il s'agit d'un gène codant une protéine, l'ARN messenger étant alors traduit en protéine par les ribosomes du cytoplasme. Suivant sa nature et celle des protéines qui vont venir se fixer sur cette région dite promoteur, le gène sera donc transcrit ou non. Le promoteur contrôle aussi les types de cellule, de tissus et d'organes, ainsi que le moment du développement de la plante, où la transcription aura lieu, en répondant à des facteurs de déclenchement. Certains promoteurs sont donc constitutifs ; le gène s'exprime tout le temps et – schématiquement - partout dans la plante (tiges, racines, feuilles, fleurs). D'autres promoteurs présenteront une spécificité tissulaire et/ou une dépendance à un stade de développement. Dans le cas des tolérances aux herbicides, des promoteurs constitutifs et sans spécificité de tissus et d'organe ont été très majoritairement utilisés.

Les chercheurs disposent depuis une dizaine d'années d'un catalogue assez complet non seulement de promoteurs des différentes catégories, mais aussi des séquences annexes placées plus en aval et qui interviennent après l'étape initiale de transcription (séquences de poly-adénylation, appelées aussi "terminateur"). Les promoteurs les plus utilisés sont *Pnos* (promoteur du gène *nos* qui code la nopaline synthase dans le plasmide Ti d'*Agrobacterium tumefaciens*) et *PCaMV 35 S* (promoteur de l'ARN35S du virus de la mosaïque du chou-fleur). Ces 2 promoteurs sont du type constitutif : le gène qu'ils pilotent sera exprimé dans toutes les parties de la plante dicotylédone. Pour les monocotylédones, les promoteurs les plus efficaces sont l'actine-1 du riz et l'ubiquitine-1 du maïs (McElroy et Brettell, 1994). Le terminateur *Tnos* est le plus fréquemment utilisé dans les constructions. En sus, divers éléments sont souvent utilisés pour augmenter l'expression (introns, séquence leader 5' de l'ARN du virus de la mosaïque du tabac ; Futterer et Hohn, 1996). Enfin, un facteur important dans l'efficacité de l'expression finale du transgène en protéine est de tenir compte de l'usage des codons dans la cellule transformée. La fréquence d'usage des différents codons possibles pour la mise en place d'un acide aminé diffère en effet entre bactéries, animaux et plantes, et également entre les plantes mono et dicotylédones. Or lorsque les fréquences d'usage des codons diffèrent entre le messenger résultant de l'expression de l'ADN transformant et celui résultant de l'expression de l'ADN résident, l'efficacité de la traduction décroît. Il est alors



nécessaire de corriger la séquence des bases des exons des gènes dans l'ADN de la cassette de transformation pour la mettre en conformité avec les fréquences utilisées par le génome résident (opération longue et fastidieuse lorsqu'elle est effectuée par mutagenèse *in vitro* dirigée ; Koziel *et al.*, 1996).

En ce qui concerne la transgénèse, trois freins majeurs existent toujours aujourd'hui. Ils portent :

- sur une expression limitée dans des cas où le promoteur utilisé provenait d'une autre espèce de plante ;
- sur des interférences entre régulation du transgène et régulation de gènes résidents pilotés par le même type de séquence promotrice (phénomène d'extinction, relié aux mécanismes épigénétiques) ;
- sur le risque d'extinction de l'expression du transgène piloté par un promoteur d'un virus de plante, lors d'attaque virale.

Les progrès fulgurants du séquençage des génomes et les nouvelles méthodes de transformation ont respectivement éliminé le premier problème et réduit l'impact du second. Seule subsiste la difficulté induite par l'étape de régénération d'une plante entière quand le passage en culture *in vitro* est utilisé ; celui-ci constitue un "stress" qui peut provoquer des changements dans le génome, tels que :

- des mouvements des transposons (éléments mobiles du génome, qui vont changer de localisation le long des chromosomes et qui peuvent modifier l'expression des gènes dans lesquels ils arrivent) ;
- les changements de méthylation à certains endroits de l'ADN, qui peuvent également altérer l'expression des gènes touchés (Smulders et de Klerk, 2011) ;
- les changements dans la conformation des histones, protéines qui entourent la double-hélice d'ADN pour former la chromatine, qui voit alors sa condensation locale modifiée, entraînant une modulation de la transcription (Smulders et De Klerk, 2011).

Ces deux derniers phénomènes, épigénétiques, sont très exacerbés chez les végétaux par rapport aux animaux (Springer et Kaeppler, 2008). Connus depuis plus de 30 ans au travers des variations somaclonales, ils obligent à trier parmi les événements de transformation, ceux qui présentent le "bon phénotype". Cette étape est cependant très facile à réaliser, rapide et peu onéreuse.

#### 2.2.2.2.3. Le cas particulier de la transformation des chloroplastes et des mitochondries

Le but d'une transformation d'un organite cellulaire, chloroplaste ou mitochondrie, est d'y induire la synthèse d'une protéine supplémentaire, étrangère à la plante, ou d'une version modifiée d'une protéine de l'hôte. Or chacun de ces deux organites contient environ quelques milliers de protéines différentes dont seulement une infime fraction (120 et 60, respectivement), sont codées par l'ADN chloroplastique (ADNct) ou par l'ADN mitochondrial (ADNmt). Toutes les autres protéines, c'est à dire la quasi-totalité, sont codées par des gènes du génome du noyau ; ceux-ci sont transcrits en ARN messagers qui, une fois dans le cytoplasme, seront traduits en protéines au niveau des ribosomes (Kaul *et al.*, 2000 ; Kurth 2002). Les protéines destinées à une localisation chloroplastique ou mitochondriale possèdent une séquence particulière de quelques acides aminés, localisée à une des deux extrémités, qui leur permet de passer à l'intérieur de ces organites (dite séquence d'"adressage").

Deux stratégies moléculaires différentes sont donc utilisables, pour arriver au même but, c'est-à-dire exprimer une nouvelle protéine ou modifier l'une des protéines contenues dans le chloroplaste ou dans la mitochondrie :

- le génome chloroplastique ou mitochondrial est transformé par de l'ADN intégré dans l'organite ; l'hérédité du nouveau trait sera de type maternel, sauf très rares exceptions ;
- le gène nouveau (ou la version nouvelle d'un gène), muni(e) d'un promoteur d'expression et d'une séquence d'adressage (cf. ci-dessous) est inséré dans le génome nucléaire par transformation. La protéine synthétisée dans le cytoplasme sera importée dans l'organite sous l'effet de cette séquence. L'hérédité du nouveau trait sera du type mendélien.

Jusqu'à présent, seul le compartiment chloroplastique a été utilisé pour la tolérance aux herbicides, en raison principalement de la localisation des appareils photosynthétiques. La présentation des connaissances au niveau du compartiment mitochondrial est cependant incluse dans ce chapitre dans un souci d'ouverture prospective.

On a vu au début de cette section que les génomes des deux organites sont très petits par rapport au génome nucléaire, avec une taille relativement conservée, de 120 000-220 000 paires de bases pour l'ADNct et variant de 160 000 à plus de 1 500 000 paires de bases pour l'ADNmt suivant les plantes. Un paramètre amenant des complications réside dans le niveau de ploïdie des génomes des organites. Chaque chloroplaste de feuille

contient une trentaine de molécules d'ADNct identiques et une cellule de mésenchyme foliaire contient des dizaines de chloroplastes. Il s'en suit que si le noyau des plantes est généralement diploïde car contenant 2 exemplaires de chacun des différents chromosomes (un apporté par le pollen, l'autre par l'ovule), l'ensemble des chloroplastes d'une cellule contient de 1 000 à 10 000 copies de la molécule d'ADNct. En revanche, chaque mitochondrie contient une population de molécules d'ADN de taille hétérogène ; en effet, la présence de nombreux jeux de séquences répétées dans le génome mt engendre des recombinaisons qui génèrent une pléiade de molécules subgénomiques. Comme chaque cellule contient de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de structures mitochondriales, le niveau de ploïdie du génome mitochondrial est vraisemblablement du même ordre de grandeur que celui du génome chloroplastique (revue générale : Quétier, 1995).

Ce haut niveau de ploïdie entraîne d'importantes difficultés pour la transformation de ces deux génomes : la modification d'un faible nombre de molécules, obtenue avec une efficacité réduite *in planta*, doit être suivie d'une étape d'homogénéisation pour atteindre l'état homoplasmique où toutes les molécules d'ADN des organites sont identiques. Cette étape nécessite la présence dans l'ADN transformant d'un gène conférant une pression sélective forte. Cette condition a été trouvée dans le cas des chloroplastes, mais pas encore pour les mitochondries. Pour la méthodologie de transformation, l'utilisation du système Ti/Ri d'*Agrobacterium* n'est pas possible, puisque le système de transfert de l'ADN-T d'*Agrobacterium*, impliquant les protéines virD2 et virE2, implique un adressage nucléaire des transgènes. Ces 2 protéines Vir contiennent en effet des séquences d'acides aminés dites NLS (nuclear localization signals) qui amènent obligatoirement leur transport dans le noyau à travers les pores de l'enveloppe nucléaire (Primrose *et al.*, 2004). Par ailleurs, les promoteurs à employer pour piloter la transcription doivent être d'origine chloroplastique ou mitochondriale en raison de l'origine endosymbiotique bactérienne de ces deux organites.

#### *La transformation in planta de l'ADN chloroplastique*

Jusqu'à présent, la transformation d'ADN chloroplastique a été obtenue par transformation directe avec de l'ADN en présence de poly-éthylène-glycol (O'Neill *et al.*, 1993). Depuis 1993, la biolistique, adaptée aux chloroplastes, est exclusivement employée (Maliga, 2004; Verma et Daniell, 2007; Maliga et Bock, 2011). L'intégration de l'ADN s'effectue par recombinaison homologue. La cassette de transgénèse est donc bordée de chaque côté par une région de quelques centaines de paires de bases, respectivement identiques à la séquence en amont et en aval du site d'intégration. Le lieu d'insertion doit être obligatoirement choisi dans une région intergénique dépourvue de fonction. Quatorze régions ont été identifiées dans l'ADN chloroplastique, dont la région intergénique séparant les 2 gènes de transfert *trnI* et *trnA*, qui autorise une très haute efficacité de recombinaison. Le promoteur du gène codant l'ARN 16S est le plus utilisé. Il a été mentionné plus haut que la recombinaison homologue était très peu active dans le génome nucléaire chez les plantes angiospermes. En revanche, les génomes chloroplastiques et mitochondriaux montrent un niveau de recombinaison homologue élevé (Daniell, 2002), qui est à relier à leur origine bactérienne (ces 2 organites étaient des bactéries qui ont été internalisées dans des cellules eucaryotes primitives il y a environ 1,5 milliard d'années). A l'issue de l'étape de recombinaison homologue, seules quelques molécules d'ADNct sont transformées. Il est alors nécessaire d'attendre 20 à 30 divisions cellulaires en présence d'un agent de sélection, pour atteindre l'homoplasmie. En théorie, toutes les molécules d'ADNct de la plante seront alors dans une version identique (Verma et Daniell, 2007 ; Maliga et Bock, 2011).

La transformation chloroplastique est bien maîtrisée chez le tabac (Svab et Maliga, 1993), et a été obtenue avec une efficacité réduite chez la tomate (Ruf *et al.*, 2001), la carotte (Kumar *et al.*, 2004a), la pomme de terre (Nguyen *et al.*, 2005 ; Valkov *et al.*, 2011), le riz (Lee *et al.*, 2006), le coton (Kumar *et al.*, 2004b), le soja (Dufourmantel *et al.*, 2007), le colza (Hou *et al.*, 2003), la laitue (Lelivelt *et al.*, 2005 ; Kanamoto *et al.*, 2006), le pétunia (Zubko *et al.*, 2004), le chou (Liu *et al.*, 2007) le chou-fleur (Nugent *et al.*, 2006). Cette voie de transformation directe du génome chloroplastique conduit à des efficacités d'accumulation de protéines dans les chloroplastes qui sont de 10 à 100 fois supérieures à celles obtenues par la transformation du génome nucléaire (cf. ci-dessous, et Verma et Daniell 2007 ; Maliga et Bock 2011).

Parmi les différents traits agronomiques introduits par transformation *in planta* de l'ADN chloroplastique (plantes dites transplastomiques), des VTH ont été obtenues chez le tabac pour le glyphosate (gène *5-EPSP*, Ye *et al.*, 2001), pour le glufosinate (gène *bar*, lamtham et Day, 2000 ; Lutz *et al.*, 2001) et pour les sulfonyl-urées /imidazolinones (gène *ALS*, Shimizu *et al.*, 2008). Un soja tolérant à l'isoxaflutole a également été obtenu (gène codant la 4-hydroxy-phényl-pyruvate-dioxygénase, Dufourmantel *et al.*, 2007). Dans la plupart de ces cas, la sélection directe, qui doit intervenir après l'étape de transformation, ne peut pas être réalisée en utilisant

l'herbicide ; l'application de l'herbicide sur des tissus qui n'expriment pas encore suffisamment le transgène conduit en effet à la destruction du tissu transformé. Le glyphosate qui détruit très rapidement la structuration interne des chloroplastes, induit une désorganisation des membranes photosynthétiques ; les chloroplastes éclatent en répandant leur contenu dans le cytoplasme (Ye *et al.*, 2001). Le problème est contourné en utilisant pour l'étape de sélection un gène supplémentaire introduit dans la cassette de transformation, comme par exemple le gène *aadA*, dont le produit inactive la spectinomycine et la streptomycine et confère donc la résistance à ces antibiotiques (Lutz *et al.*, 2001). Une fois les plantes résistantes obtenues, on vérifie bien que celles-ci sont également tolérantes à l'herbicide. Il est ensuite possible d'enlever le gène de résistance à l'antibiotique grâce au système Cre-*lox* (voir plus bas) qui borde le gène *aadA* dans la cassette de transformation. Plusieurs synthèses récentes sur les plantes transplastomiques sont disponibles (Bock, 2007 ; Verma et Daniell, 2007 ; Maliga et Bock, 2011).

#### *La transformation in planta de l'ADN mt de plantes*

Malgré de nombreux essais, notamment par biolistique, la transformation stable du génome mitochondrial des plantes supérieures n'a pas encore pu être obtenue, et la quasi-totalité des équipes françaises et étrangères qui travaillaient autour de ce défi depuis les années 1980 jusqu'à 2005 ont abandonné ce domaine d'activité. Seules deux informations nouvelles ont été trouvées dans la bibliographie. La première réside dans l'internalisation de molécules d'ADN double-chaînes de plusieurs milliers de paires de bases par des mitochondries purifiées de pomme de terre (Koulintchenko *et al.*, 2003) ; la translocation s'effectue par l'intermédiaire d'une porine, le canal VDAC (Voltage Dependent Anion Channel) de la double-membrane mitochondriale, ne dépend pas de la séquence des bases et n'est pas accompagnée d'une dégradation car l'ADN internalisé est bien transcrit par la machinerie mitochondriale. Bien que cette expérience de pénétration d'ADN dans des mitochondries ait été menée sur des mitochondries isolées, donc *ex vivo*, il est vraisemblable que des internalisations puissent avoir lieu *in planta*. La deuxième information porte sur une demande de brevet déposée en Norvège (brevet mondial WO/2009/150441) revendiquant une méthode de transformation de cellules végétales au niveau de l'ADN mitochondrial en dirigeant une cassette de transgénèse sur les mitochondries et contenant un gène d'intérêt plus un gène permettant une sélection positive (isopentényl-transférase). Aucune preuve de réalisation n'est disponible et ce type d'expérience a été tenté pendant plusieurs années (en essayant par exemple une sélection sur un précurseur de biotine) par différents groupes sans succès, en raison de l'impossibilité pour une cellule végétale de subsister dans un milieu défavorable avec seulement quelques molécules d'ADN mt transformées par cellule.

La transformation par biolistique du génome mitochondrial de la levure *Saccharomyces cerevisiae* est pourtant maîtrisée depuis 20 ans (Anziano et Butow, 1991). Chez les plantes, la nature hétérogène des molécules d'ADNmt composant le génome mitochondrial et la présence de nombreuses séquences répétées, jointes à une grande activité recombinogène (Quétier, 1995) sont certainement des obstacles importants. Le point le plus limitant réside probablement dans l'efficacité beaucoup trop faible de l'intégration de la cassette de transgénèse dans les molécules d'ADN mt qui ne permet pas d'atteindre un nombre minimal de transgènes intégrés capables de s'exprimer pour résister efficacement à l'agent de sélection. L'emploi des nouvelles technologies reposant sur les méganucléases (voir plus bas) pourrait augmenter considérablement l'efficacité de la recombinaison homologe.

#### *Modification du contenu protéique des chloroplastes ou des mitochondries par transformation du génome nucléaire*

Certains des 25 000 à 45 000 gènes nucléaires (suivant les plantes) codent des protéines qui contiennent un signal d'adressage à l'un des 2 organites, sous forme d'une séquence particulière de quelques dizaines d'acides aminés, souvent en position N-terminale et appelée séquence d'adressage (Primrose *et al.*, 2004). Il est donc possible, depuis plus d'une dizaine d'années, d'utiliser la transgénèse nucléaire pour accumuler des protéines nouvelles, ou des versions modifiées de protéines de l'hôte, dans les chloroplastes et les mitochondries. La cassette de transformation comprend le nouveau gène à exprimer, muni à son extrémité de la séquence codant l'adressage au chloroplaste ou à la mitochondrie ; l'ensemble est placé sous le contrôle d'un promoteur d'expression nucléaire. La transformation a été jusqu'à présent réalisée par agroinfection et biolistique ; les insertions se sont donc localisées au hasard dans le génome nucléaire (Primrose *et al.*, 2004).

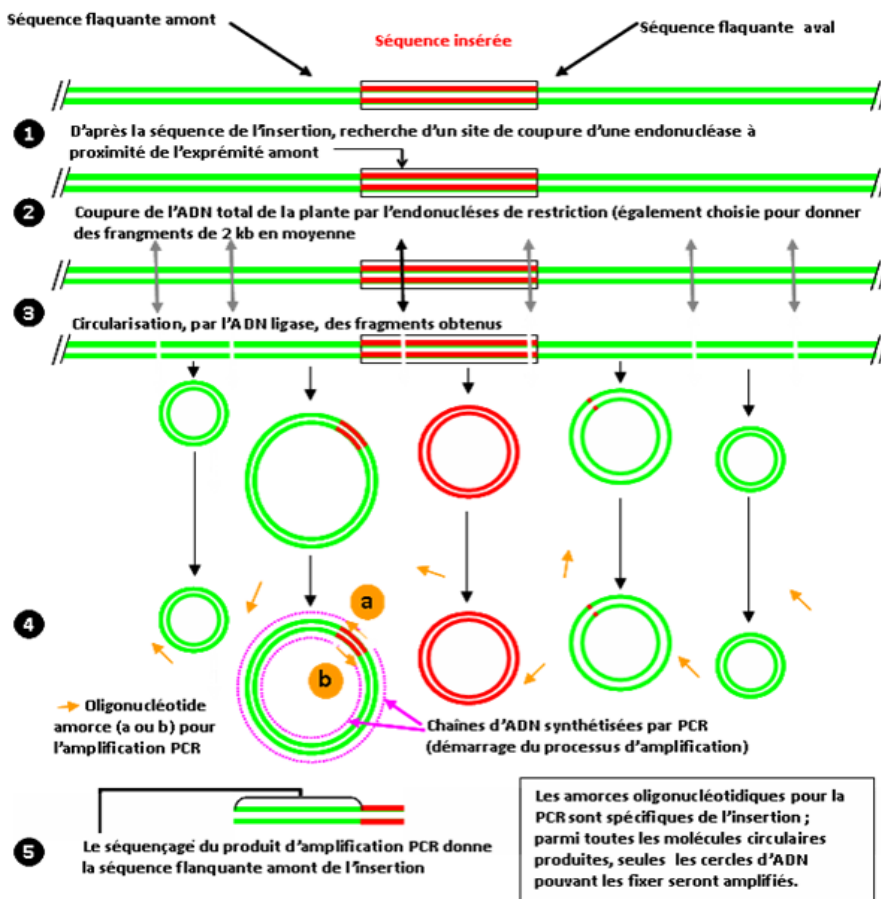
Les exemples sont nettement plus nombreux pour les chloroplastes que pour les mitochondries, mais les stratégies moléculaires sont les mêmes et restent jusqu'à présent basées sur des intégrations au hasard.

L'obtention de variétés tolérantes à un herbicide par cette méthode concerne le compartiment chloroplastique ; la première VTH de cette origine a été la tomate, par surexpression du gène de l'EPSP issu d'une souche de la bactérie *Salmonella thiphimurium* résistante au glyphosate (Comai *et al.*, 1985), puis le pétunia avec une version du gène EPSP trouvée chez un pétunia sélectionné sur glyphosate (Shah *et al.*, 1986). Des VTH ont été obtenues en 1996 chez le soja et le coton (Dill *et al.*, 2008), puis sur beaucoup d'autres espèces (James, 2000). Dans ce cas, l'hérédité de la tolérance à l'herbicide est évidemment du type mendélien.

#### 2.2.2.2.4. La vérification de l'insertion du transgène et de sa fonctionnalité

L'intégration par transformation non ciblée d'un ou de plusieurs transgènes dans le génome végétal se produisant "au hasard", il est donc nécessaire de déterminer *a posteriori* où le ou les transgène(s) se sont insérés. Pour les espèces dont la séquence du génome est complètement ou presque complètement connue (une douzaine actuellement), une stratégie de biologie moléculaire dédiée (dite PCR inverse, voir figure 2-5) permet de connaître à la base près la **position du transgène dans le génome**, et donc de s'assurer que cette insertion n'aura pas *a priori* d'effets non intentionnels d'après les connaissances actuelles.

Figure 2-5. Principe de la localisation de l'insertion d'un transgène dans un génome par PCR inverse



L'amplification par PCR ne se réalise que sur les cercles qui possèdent chacun les 2 séquences correspondant aux amorces. La séquence du produit d'amplification peut ensuite être déterminée, ce qui permet de connaître la séquence qui se situe en amont du transgène intégré.

La même opération de PCR inverse est menée sur l'autre extrémité de la cassette de transformation.

On dispose alors des 2 séquences qui flanquent l'insertion, ce qui permet d'identifier le point précis d'insertion du transgène.

Source : F. Quétier

Dans cette méthode, l'ADN extrait d'une plante de la lignée TH est fragmenté par une endonucléase générant des extrémités débordantes et qui possède un site de coupure très proche d'une extrémité de la cassette de transformation. Les fragments sont alors soumis à l'action d'une ADN ligase qui "ressoude" les deux extrémités débordantes entre elles. Cette opération se fait au hasard des collisions des extrémités débordantes, les deux extrémités d'une même molécule ayant plus de chance de se lier entre elles qu'avec des extrémités portées par des fragments distincts. Ceci favorise la circularisation des fragments. Il est alors possible de réaliser une PCR dont le couple d'amorces est constitué respectivement d'une vingtaine de bases situées en amont du site de coupure choisi dans la cassette de transformation sur une chaîne de l'ADN et d'une vingtaine de bases situées en aval de ce site de coupure et sur la chaîne d'ADN complémentaire.

D'après l'étude bibliographique menée, cette possibilité technique n'a pas été utilisée dans le cas de la tolérance à un herbicide. Pour les plantes dont le génome n'a pas été complètement séquencé, on ne dispose pas actuellement d'alternative utilisable. Par ailleurs rappelons que l'utilisation des nouvelles technologies d'insertion ciblée (voir section 2.2.3) amène à connaître à l'avance le lieu d'insertion, puisque celle-ci repose sur le mécanisme de la double recombinaison homologue qui requiert une homologie stricte. Pour les mêmes raisons, le remplacement de la séquence d'un gène par une autre version de ce gène (correction/modification) ne peut s'effectuer qu'au niveau du gène ciblé. L'intégrité de la séquence d'un gène peut être vérifiée *in extenso* par séquençage des produits de PCR (séquence du gène proprement dit et séquences flanquantes contenant les signaux de régulation) ; les amorces sont dessinées d'après la séquence de la cassette de transformation. La localisation du transgène dans les transformations réalisées en aveugle peut être déterminée selon plusieurs degrés de précision. Le plus grossier correspond à l'utilisation de l'hybridation sur chromosome ; les chromosomes condensés en métaphase mitotique sont fixés sur lames et mis à hybrider avec des sondes construites avec de l'ADN de la cassette de transformation marquée par un groupement fluorescent. On peut alors repérer le chromosome portant le signal fluorescent, et pour les chromosomes qui sont suffisamment grands, obtenir une estimation très grossière de la position du transgène (l'identification du chromosome repose sur la co-hybridation d'un jeu de marqueurs fluorescents chromosome-spécifiques). Cette technique peu résolutive, délicate à mettre en œuvre, à la limite des possibilités de réalisation, n'a pas été utilisée dans le cas des marqueurs de tolérance aux herbicides. Une technologie plus précise et plus classique est l'utilisation du phénotype tolérant à l'herbicide comme marqueur génétique dans des croisements F2=F1x F1 entre la lignée tolérante et la lignée sensible originelle, permettant de positionner la modification dans un intervalle compris entre deux marqueurs adjacents déjà connus sur la carte génétique de la plante. La précision dépendra évidemment de l'état de saturation de la carte génétique, qui pour la plupart des plantes cultivées, atteint grâce aux marqueurs disponibles, un niveau de résolution de l'ordre de la Mégabase. On connaît alors non seulement le chromosome, mais le bras chromosomique et la position en cM le long du bras. Bien que cette technique très classique en génétique soit applicable à la tolérance à un herbicide, aucune trace bibliographique rapportant l'usage de cette technique dans ce cas précis n'a été trouvée.

Enfin, la présence d'une insertion complète qui paraît fonctionnelle d'après les vérifications apportées par séquençage PCR n'est pas suffisante. Il faut en effet vérifier que le ou les gènes soient transcrits puis traduits. La **transcription** est détectée par hybridation de type northern entre les mARN extraits de la plante transgénique, et les différents constituants de la cassette de transformation. La quantité de transcrits est déterminée par qRT-PCR (isolement des mARN de la plante transgénique, rétro-transcription en cADN suivie d'une PCR quantitative utilisant un couple d'amorces spécifiques du transgène). Il est possible de vérifier la séquence transcrite, par clonage des produits de qRT-PCR et séquençage de ceux-ci. De telles vérifications ont été menées dans la production de variétés tolérantes à certains herbicides. On peut également utiliser pour certaines espèces des "puces transcriptomiques", afin de vérifier que le processus de transgenèse n'ait pas ou peu affecté la transcription des autres gènes de la lignée génétiquement modifiée (Batista et al., 2008).

L'étude de la **traduction en protéine** (dans les cas où la séquence transgénique correspond à un gène codant une protéine) peut être suivie par immunochimie. Les protéines sont extraites et purifiées à partir de la plante transgénique et la protéine correspondant au transgène est révélée par la fixation spécifique d'antigènes dirigés contre cette protéine (obtenus en immunisant des animaux par injection de la protéine). Cette méthode permet la quantification de la protéine transgénique. Ces vérifications ont été menées dans le cadre de l'obtention de plusieurs VTH. La séquence de la protéine peut aussi être vérifiée par spectrométrie de masse ; cette technique permet de plus de vérifier, dans le cas des protéines glycosylées, la conformité des groupements d'oligosaccharides branchés post-traductionnellement sur la chaîne polypeptidique. Une étude bibliographique plus poussée serait nécessaire pour savoir si la littérature met en évidence l'usage de cette technologie dans le cadre de l'obtention de VTH. A la suite de certains événements de transformation, il a été noté une non-expression de la protéine codée par le transgène. Cette contradiction éventuelle entre les données de séquençage et l'absence de la protéine exprimée peut être attribuable aux modifications épigénétiques (condensation de la chromatine et addition de groupements méthyles sur certaines bases cytosine de l'ADN) qui altèrent ou bloquent complètement l'expression des transgènes (Matzke et Matzke, 1998). Les étapes de culture *in vitro* sont connues pour constituer un élément déclenchant de ces modifications épigénétiques, qui engendrent alors des variations somaclonales sur les plantes régénérées, se transmettant en général de manière stable dans leur descendance (ex. Kaepler et Phillips, 1993; Reddy et Reddy, 1996).

#### 2.2.2.2.5. Les limites des techniques de transformation

Toutes les méthodes de transformation génétique décrites plus haut, qui ont été utilisées avec succès, souffrent de plusieurs problèmes. Tout d'abord, en regard des 3 catégories de modifications qui intéressent le génie biomoléculaire (à savoir la suppression de l'expression d'un gène résident, le remplacement d'une version d'un gène résident par une version différente du même gène, l'insertion d'un gène supplémentaire, étranger à la plante), les techniques de transgénèse chez la plante mises au point avant 2000 n'apportent de solution que pour l'insertion d'un gène supplémentaire étranger. De plus, ces méthodes amènent des modifications non contrôlées, telle l'insertion du transgène au hasard dans le génome. Le positionnement au hasard de ces insertions représente un handicap certain en raison des risques de modification non souhaitée d'un gène résident (insertion du transgène au milieu d'une séquence codante, provoquant l'extinction non souhaitée de ce gène résident).

Un autre problème scientifique est lié au fait que quelle que soit la méthode utilisée pour faire entrer l'ADN exogène dans la cellule végétale, elle ne conduit que très rarement à un événement unique d'insertion. Dans la grande majorité des cas, plusieurs insertions sont observées et il faudra donc procéder à de multiples croisements pour arriver à ne "conserver" qu'un seul événement d'insertion dans une lignée. Ceci est d'ailleurs pratiquement impossible pour des insertions du T-DNA en tandem. Les insertions par *Agrobacterium* sont les moins handicapantes pour ce problème. Indépendamment, il est fréquent de rencontrer des insertions tronquées, qui ne sont pas fonctionnelles pour l'expression. En plus de leur faible efficacité, les canons à particules provoquent d'ailleurs les deux types de problèmes (Derolles et Gardner, 1988; Potrikus, 1991 ; Christou 1992 ; Men *et al.*, 2003).

Le principal enjeu de l'amélioration des techniques de transgénèse est donc actuellement la mise en œuvre de méthodes permettant l'insertion unique et à l'endroit souhaité dans le génome, soit d'un gène étranger au génome résident, soit d'une copie modifiée d'un gène résident en remplacement de celui-ci. On verra ci-dessous (section 2.2.3.) que cela est maintenant possible

#### 2.2.2.2.6. Exemples de VTH issues de transformations

De nombreuses lignées végétales tolérantes aux herbicides sont issues de transformation. Cette section ne les recense pas toutes ; elle fournit simplement plusieurs de ces lignées. Parmi celles-ci, on peut citer les lignées tolérantes au glyphosate. En effet, des gènes codant des EPSPS naturellement insensibles (ou très peu sensibles) au glyphosate ont été décrits (Comai *et al.*, 1983 ; Kishore *et al.*, 1986) dont celui de la souche CP4 d'*Agrobacterium* (Barry *et al.*, 1992 ; Hu *et al.*, 2003 ; Ye *et al.*, 2001). Des lignées de soja, de tournesol, de coton, de lin, de colza, de betterave et de luzerne tolérantes au glyphosate ont été obtenues par insertion dans le génome et surexpression d'un gène codant l'EPSPS d'un Pétunia lui-même tolérant au glyphosate (Steinrücken *et al.*, 1986).

Les brevets cités plus haut indiquent aussi que des lignées de tournesols et de tomates tolérantes ont également été produites par transformation du végétal par un gène bactérien (origine *E. coli*) codant une EPSPS résistante. La tolérance au glyphosate pourrait être aussi obtenue par introduction d'un autre gène, codant une EPSPS hautement résistante au glyphosate, issu du criblage d'une banque métagénomique obtenue à partir d'ADN extrait d'un sol très fortement contaminé par du glyphosate. Introduit chez le tabac sous le contrôle du promoteur *ad hoc*, ce gène confère à son hôte une forte insensibilité au glyphosate. Les inventeurs du brevet décrivant cette obtention (brevet US n° 2005/0223436) indiquent qu'elle est *a priori* applicable à diverses espèces végétales, permettant ainsi d'obtenir des lignées tolérantes au glyphosate par le mécanisme de modification de la cible de l'herbicide.

Plusieurs lignées transgéniques végétales tolérantes au glufosinate ammonium ont été obtenues par le biais d'une stratégie qui vise également à la détoxification de l'herbicide. Neskorođov *et al.* (2010) ont ainsi introduit dans la plante le gène *bar* issu de *Streptomyces hygroscopicus*, codant une phosphinothricine acetyl transférase qui clive la molécule active, la rendant inactive vis-à-vis des cellules végétales (Montague *et al.*, 2007). Cette technique dérive de celle décrite antérieurement pour le tabac ou la pomme de terre (Botterman et Leemans, 1989). Elle a été utilisée lors du développement lignées végétales de type Liberty® ou Ingnite®.

Par ailleurs, des lignées végétales de tabac, tolérantes à l'herbicide acifluorfen, un diphenyl-éther de la classe E, ont été obtenues par une technique "particulière", qui repose sur l'expression de fragments d'immunoglobulines

dirigées contre cet herbicide (Almquist *et al.*, 2004). Cette technique est brièvement décrite ci-dessous car elle est applicable *a priori* à l'obtention de lignées végétales tolérantes à n'importe quel herbicide susceptible de déclencher une réaction immunitaire chez l'animal. Les immunoglobulines ont été obtenues par la technique des "hybridomes", impliquant des lignées cellulaires myélomateuses et des cellules spléniques de souris immunisées par l'herbicide. Un cDNA codant une chaîne immunoglobuline anti-acifluorfen a été isolé à partir des lignées d'hybridomes. Placée sous le contrôle d'un promoteur végétal fort et transférée chez le tabac, cette construction confère à la plante la tolérance à l'herbicide. Cette technologie peut être appliquée à de nombreuses espèces végétales, selon les inventeurs du brevet US n°6472587 ; 2002 qui protège ce mode d'obtention. La même technique a été mise à profit par ses inventeurs pour produire à partir d'autres anticorps, une lignée de tabac tolérante à un autre herbicide, le quinclorac (un acide quinoline-carboxylique, classe O).

Le Bispyribac sodium (BS), un herbicide de la famille des pyrimidinyl benzoate, est un inhibiteur de l'activité ALS (herbicide de classe B). Un gène mutant codant l'ALS (OsmALS [W548L/S627I]) a été cloné à partir d'un écotype de riz sauvage devenu résistant à BS, et a été utilisé comme gène de sélection *in vitro* de plantes transformées. Dans l'étude de Taniguchi *et al.* (2010), des cals des cultivars Kasalath, Tachisugata, Tachiaoba, et Nipponbare ayant une plus forte tolérance au BS que les cals témoins, ont été obtenus. Des plantes tolérantes ont pu être régénérées, démontrant ainsi que le gène OsmALS codant l'ALS insensible à BS permet la sélection de cals et de plantules transformés de riz tolérants.

#### 2.2.2.7. La prévention de la dispersion du transgène : le système Cre-lox

Une conséquence de l'acquisition du trait de tolérance à l'herbicide par la plante est évidemment sa capacité à disperser ce trait vers des individus de la même espèce mais non tolérants ou vers des individus appartenant à des espèces voisines mais interfertiles. Cette capacité et les conséquences pour l'agro-écosystème sont explicitées en détail dans le chapitre 3 de ce rapport.

La dispersion des transgènes en milieu naturel s'effectue principalement par le pollen et par les graines. La limitation de la dispersion par la voie pollinique peut être résolue en grande partie par l'utilisation de la stérilité mâle, bien que celle-ci ne soit pas absolue et ne permettent pas de prévenir la fécondation des parties femelles de la plante mâle stérile par du pollen d'espèces inter-fertiles. Durant le développement des étamines, la paroi interne du sac pollinique se transforme en tapetum, différenciation qui est responsable de la fourniture de la très grande quantité d'énergie nécessaire à la formation des millions de grains de pollen. Les promoteurs de plusieurs gènes qui sont exprimés durant cette phase de prolifération du tapetum ont été identifiés chez le tabac (*pta29*, *pant*). Le système breveté en 1985 par Plant Genetics System, une spin-off de l'université de Ghent en Belgique appartenant maintenant à Bayer Crop Sciences, utilise une construction de vecteur de transformation où le promoteur spécifique *pta29* pilote le gène *barnase* qui code une RNase très puissante de *Bacillus amyloliquefaciens*, dont l'activité détruit tous les ARN des seules cellules du tapetum et rend ainsi impossible la formation de pollen (Mariani *et al.*, 1990). En complément, l'introduction par transgénèse d'une construction où le promoteur spécifique *pant* pilote le gène *barstar*, inhibiteur puissant et spécifique de la RNase *barnase*, permet de restaurer la fertilité (Mariani *et al.*, 1992). Ce couple de vecteurs de transformation permet de générer des lignes mâle-stériles et de restaurer la fertilité pour obtenir les lignées de maintenance. Ce brevet a été appliqué à de nombreuses plantes, en particulier le colza au Canada.

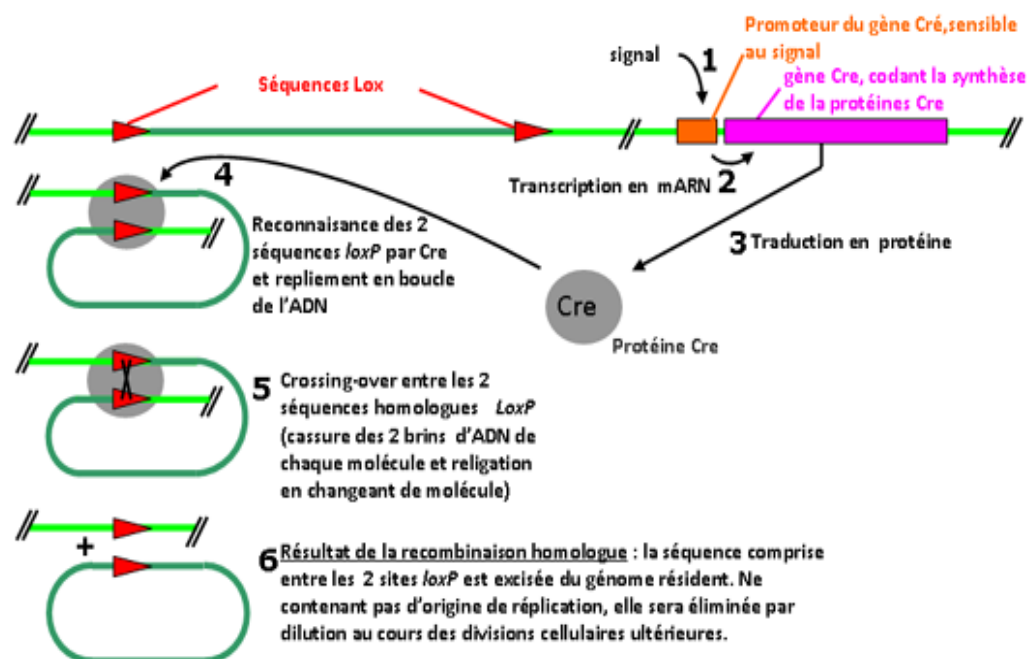
Une nouvelle méthode, plus généraliste, mais utilisant encore ces anciennes méthodes de transformation non ciblée a été mise au point chez les plantes à partir du début des années 2000. Elle se fonde sur l'excision de séquences par le système Cre-lox (Sauer, 1987 ; Sauer et Handerson, 1988). Dans les phages P1, la recombinase Cre est capable d'exciser toute séquence d'ADN comprise entre deux séquences spécifiques de 34 paires de bases appelées *loxP*, orientées dans le même sens. Ce système n'est pas présent dans les eucaryotes en général, et les plantes en particulier. Le principe de cette excision d'une séquence d'ADN est illustré dans la Figure 2-6.

Le système Cre-lox a été à l'origine utilisé pour retirer des variétés cultivées, les marqueurs de sélection (Gleave *et al.*, 1999 ; Cornelle *et al.*, 2001 ; Mlynarova et Nap, 2003 ; Wang *et al.*, 2005) situés sur le T-DNA inséré dans des variétés végétales GM. En effet, la réglementation de la Commission de Génie Biomoléculaire (CGB) demande l'absence de gènes marqueurs utilisés pour la construction des ADN à transférer, en général des antibiotiques bactériens. Durant la construction de la cassette de transgénèse, le gène marqueur de sélection est bordé de chaque côté par une séquence *loxP* convenablement orientée. Le gène *cre* est également inséré dans

la cassette, sous le contrôle d'un promoteur inducible, par exemple par la tétracycline ou par un corticoïde (chez les plantes). En présence de ces inducteurs, la protéine Cre est alors synthétisée dans le cytoplasme, et migre dans le noyau où elle reconnaît les 2 sites *loxP*. Elle provoque une coupure double-brin à chacun des sites *loxP*, libérant ainsi le fragment portant le gène marqueur de sélection, qui sera ensuite éliminé par la machinerie cellulaire végétale (dilution lors des divisions ultérieures, et dégradation par les DNases). Une DNA ligase endogène viendra ensuite ligaturer les 2 extrémités.

Cette mécanique moléculaire a été mise à profit (Mlynarova *et al.*, 2003) pour enlever tous les transgènes lors de la formation du pollen. Le gène codant la recombinase Cre a été inséré dans la cassette de transformation, sous le contrôle du promoteur NTM19 qui est spécifique des microspores (cellules précurseurs des grains de pollen). Le promoteur devient actif durant le stade de développement où les microspores commencent leur évolution, la transcription du gène *cre* a lieu et l'ARN messager est traduit en protéine. Celle-ci se positionne sur les sites *loxP* et excise toute séquence d'ADN qui sépare les 2 copies *loxP*. Comme celles-ci ont été positionnées aux extrémités de la cassette, c'est tout l'ensemble qui est excisé, le ou les gène(s) d'intérêt et le gène Cre. Comme le promoteur est spécifique des microspores, les transgènes ne sont excisés que dans le pollen, toutes les autres parties de la plante continuent à exprimer les transgènes en suivant les spécifications tissu/organes et stades de développement déterminées par la nature de leur promoteur respectif.

Figure 2-6. Schéma de principe du système Cre-*lox*



**Applications :** la cassette de transformation contient le gène conférant la tolérance à l'herbicide, bordé par les deux séquences *loxP*, et le gène codant la recombinase Cre placée sous le contrôle d'un promoteur spécifique des anthères. Lors de la floraison, ce promoteur est activé, la protéine Cre est synthétisée uniquement dans les cellules des étamines et le transgène conférant la tolérance à l'herbicide est excisé de toutes les cellules des anthères, en particulier des grains de pollen. Les autres parties de la plante (racines, tiges feuilles) continuent à exprimer la tolérance à l'herbicide. Ce système peut également être utilisé, en employant une autre catégorie de promoteurs, pour exciser le transgène dans les ovules, et des gènes marqueurs de transformation dès que la sélection des transformants est finie.

Source : F. Quétier.

Dans le cas d'une application aux VTH, les 2 noyaux du pollen émis par la plante ne contiennent plus le gène conférant la tolérance à l'herbicide, rendant en théorie impossible la transmission horizontale du transgène. En revanche, la plante elle-même continue à exprimer le transgène et à manifester sa tolérance à l'herbicide. Par ailleurs, l'excision n'affectant que la voie mâle, la voie femelle est intacte et la plante transgénique donnera des graines transgéniques hétérozygotes. L'excision dans la voie femelle est également possible en théorie, en utilisant des promoteurs spécifiques des étapes précoces de la formation de l'ovule ; aucune publication correspondante n'a cependant été trouvée dans la littérature examinée.



Un système d'excision assez similaire au Cre-*lox* a été mis au point : il implique l'intégrase phi-C31 (Thomson *et al.*, 2010) d'origine phagique. Il est bien sûr théoriquement possible de combiner le système Cre-*lox* ou phi-C31 avec les nouvelles méthodes de transformation ciblées utilisant les méganucléases.

Jusqu'à 2008, les anciennes technologies de transformation, et principalement l'agrotransformation, ont permis l'obtention de variétés présentant le trait agronomique recherché et en particulier la tolérance à un herbicide ; ces transformations ont surtout porté sur des insertions, car l'efficacité très faible de la double recombinaison homologue chez les angiospermes a limité la correction de gène à quelques très rares cas. Ces insertions ont été réalisées au hasard dans le génome ; cette méthodologie "en aveugle" a constitué l'un des reproches adressés aux plantes GM. Ces plantes GM sont notamment celles cultivées actuellement dans une grande partie du monde.

### 2.2.2.3. Conséquences génétiques de l'insertion du trait

Yves Dessaux

Les données qui suivent et les éléments explicatifs concernant les conséquences des mutations (induites ou spontanées), la transgénèse, et plus globalement l'ensemble de la biologie moléculaire végétale sont tirées des références suivantes : Benfey et Protopapas (2004), Cullis (2004), Cullis et Creissen (1987), Lewin (2007), Newton (1988), Ridley (2006), Slater *et al.* (2003), Sugiura (1992). Des références complémentaires spécifiques sont également fournies dans le texte.

L'introgression d'une mutation spontanée ou induite dans le génome d'une espèce végétale d'intérêt agronomique par croisement a pour conséquence l'introgression concomitante de séquences d'ADN non souhaitées. Celles-ci seront classiquement éliminées lors des rétrocroisements (Figure 2-4.) opérés par le sélectionneur. Cependant, compte tenu du nombre de rétrocroisements effectués, ceux-ci ne permettent pas d'éliminer les séquences introgressées qui seraient fortement liées, génétiquement, à la séquence mutée. Dans le cas des VTH, comme pour toute introgression de caractère, le risque associé est l'introduction de séquences alléliques différentes des allèles de la variété cultivée, au voisinage du gène muté conférant le trait de tolérance (phénomène de *linkage drive*). Ce risque existe d'ailleurs dans tous les cas d'amélioration variétale où des espèces ou des cultivars différents sont croisés, donc que l'introgression ait été réalisée à partir d'espèces voisines ou d'individus issus de populations férales dans le cas de mutants spontanés, ou à partir de la même espèce mais de cultivars différents, dans le cas de mutants résultant de mutagenèse. Dans ce dernier cas, s'ajoute la possibilité que la mutagenèse ait affectée des séquences voisines du gène déterminant la tolérance aux herbicides. En tout état de cause, et en regard des fréquences des mutations spontanées ou induites, ce risque ne peut être qualifié que de faible, voire de théorique.

Par ailleurs, des mutations localisées dans des régions intergéniques (donc en dehors de la séquence d'un gène), ne provoquent en général aucun effet délétère visible chez l'organisme. Des mutations qui toucheraient la partie codante d'un gène, ou sa zone amont (qui détermine la régulation de son expression) peuvent affecter l'expression du trait phénotypique gouverné par le gène, en en diminuant l'intensité, en l'annulant complètement, parfois en changeant la nature de l'organe affecté ou le stade de développement pendant lequel le trait se manifeste. Dans ce dernier cas, il est très probable qu'un éventuel effet délétère sur la physiologie du végétal sera facilement mis en évidence lors du processus de sélection.

Une publication récente (Batista *et al.*, 2008) suggérerait cependant que des lignées de riz issues de mutagenèse sont soumises à davantage de modifications de transcription que ne le sont les lignées de la même variété, issues de transgénèse. A ce stade, les conclusions de ce travail ne peuvent pas être généralisées car la comparaison entre lignées sauvages, lignées transgéniques, et lignées issues de mutagenèse du même cultivar n'a porté que sur un seul cas, sur des lignées non stabilisées, et à une étape précise du processus de sélection (génération suivant immédiatement la mutagenèse ou la transformation). Les auteurs indiquent d'ailleurs que cet effet décroîtrait avec les générations, mais sans que la perturbation ne disparaisse même après un nombre élevé de générations. Ce phénomène aurait un lien avec le stress et les modifications épigénétiques associés au processus de mutagenèse, plus prononcés que ceux associés au processus de transformation. Par ailleurs, les cibles mutées ne sont pas connues, et les lignées mutées ou transformées ne semblent pas avoir fait l'objet de rétrocroisement comme cela est le cas dans en amélioration variétale, mais d'autofécondation. Il apparaît de plus que la lignée mutagenisée choisie est phénotypiquement fortement affectée par la mutagenèse (taille à maturité

réduite de 45 cm par rapport à la lignée sauvage), ce qui ne semble pas être le cas de la lignée transgénique, induisant ainsi un biais expérimental. Cet élément peut en effet à lui seul expliquer les différences d'expression mises en évidence. Il conviendrait aussi de comparer les modifications du transcriptome résultant de la mutagenèse avec celles résultant du croisement de deux espèces différentes ou de différents traitements mutagènes, sur un grand nombre d'individus, avant de pouvoir affirmer que la mutagenèse est génératrice de plus de perturbations que la transgenèse.

### 2.2.3. Technologies d'obtention variétale émergentes

Yves Dessaux, Francis Quétier

Un rapport récent de l'union européenne propose un examen des technologies d'amélioration variétale (Lusser *et al.*, 2011), des "anciennes" comme des plus récentes en lien, pour ces dernières, avec l'apparition de nouveaux outils d'ingénierie génétique au cours des 10 années précédentes. Certains de ces outils ont été décrit plus haut dans ce rapport (transgenèse au moyen d'agrobactéries) ; d'autres n'ont pas d'application prévisible dans le cadre de l'obtention de VTH et ne seront donc pas décrits plus avant. Il s'agit de la méthylation de promoteur RNA-dépendante, qui permet l'extinction spécifique, stable et transmissible à la descendance de gènes, de la greffe de lignées génétiquement modifiées sur des lignées non génétiquement modifiées (ou vice versa), ou du "reverse breeding" qui permet de "remonter" aux parents homozygotes de lignées hétérozygotes. Par ailleurs, la cisgénèse ne diffère pas dans son principe biotechnologique de la transgenèse.

En revanche, d'autres outils sont pertinents dans la mesure où ils ont déjà permis d'obtenir en laboratoire des VTH. Dans le cas de cette expertise scientifique collective, nous présentons trois techniques récentes dont deux figurent dans le rapport de l'union européenne cité plus haut, choisies en regard des résultats déjà obtenus ou susceptibles d'être obtenus en matière de production de variétés TH.

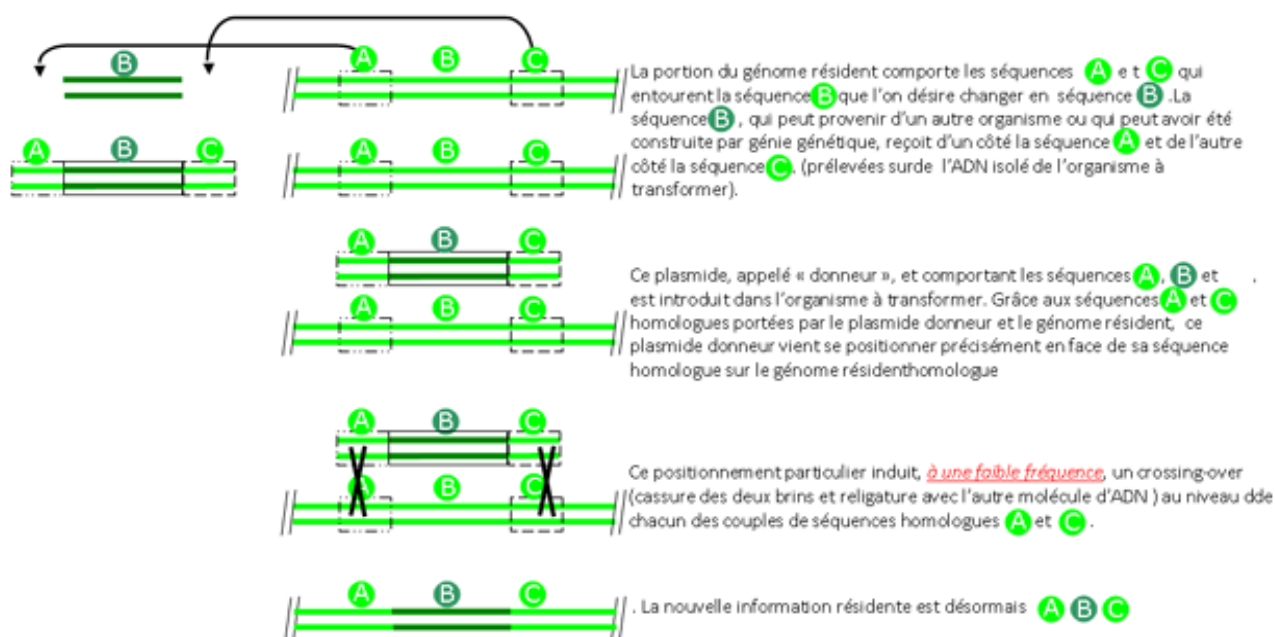
#### 2.2.3.1. Les méthodes de transformation ciblée du génome nucléaire

Le principal enjeu de l'amélioration des techniques de transgenèse a résidé dès 1999, dans la mise en œuvre de méthodes permettant l'insertion unique et à l'endroit souhaité dans le génome, soit d'un gène étranger au génome résident, soit d'une copie modifiée d'un gène résident en remplacement de celui-ci.

La seule méthode utilisable avant 2000 pour effectuer une modification ciblée du génome reposait sur la recombinaison homologue, un processus naturel se déroulant très activement dans les bactéries, beaucoup plus faiblement chez les animaux et très faiblement chez les plantes (Figure 2-7).

La recombinaison homologue permet de cibler la position d'insertion du nouveau gène mais aussi (en théorie) de remplacer un gène par une version modifiée. En fournissant un ADN donneur dont la séquence modifiée est encadrée par deux séquences qui sont respectivement identiques à deux régions très proches, et situées de part et d'autre de la séquence à modifier, le mécanisme de recombinaison homologue conduit, par une double recombinaison à 2 crossing-over, au remplacement d'une portion ou de la totalité du gène résident par une version différente de ce gène. Malheureusement, cette technique, d'utilisation déjà très difficile chez les animaux (entendre restreinte à quelques lignées de souris seulement), n'est pas naturellement efficace chez les végétaux en dehors de la mousse *Physcomitrella patens* (Schaefer and Zryd, 1997). Il est d'autant plus important de surmonter ces difficultés techniques que la réglementation de la Commission de Génie Biomoléculaire (CGB) puis du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB), demande pour des essais hors confinement, que les variétés issues de transgenèse résultent si possible d'un événement d'insertion unique (cf. ci-dessus), ne possèdent plus de gènes marqueurs, et soient strictement caractérisées au plan moléculaire au niveau du site de l'insertion. On verra plus bas (section 2.2.3.) les récentes avancées dans ce domaine.

Figure 2-7. Principe de la double recombinaison homologue

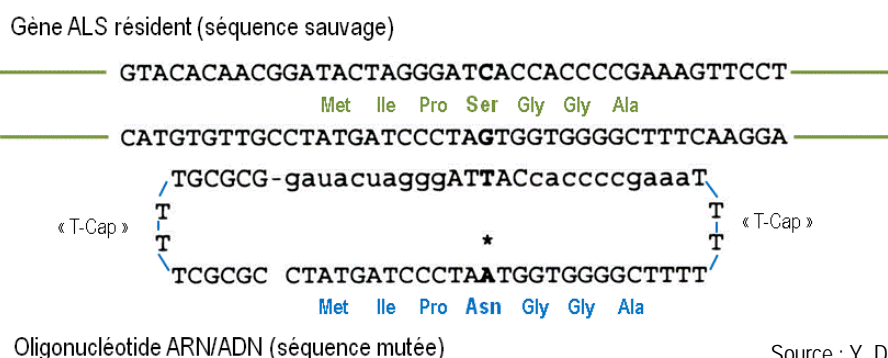


Source : F. Quétier

### 2.2.3.1.1. La modification ciblée du génome nucléaire à l'aide d'oligonucléotides

Développée à l'origine avec pour objectif la thérapie génique, la technique dite ODM (oligonucleotide-directed mutagenesis ou mutagenèse dirigée par oligonucleotide) permet d'introduire une mutation à un endroit précis d'un génome, qu'il soit microbien, animal ou végétal. Le principe de la technique repose sur la recombinaison homologue entre l'ADN endogène présentant une séquence sauvage, et un acide nucléique homologue présentant la mutation ponctuelle d'intérêt que l'on veut introduire dans l'organisme (Yoon *et al.*, 1996). Or on a vu plus haut que l'activité endogène de recombinaison chez les végétaux est particulièrement faible. L'"astuce" liée à cette technique est d'accroître fortement l'activité endogène de recombinaison. Pour cela, l'acide nucléique introduit est un "hybride" entre ARN et ADN, dans lequel les bases T de l'ADN sont remplacées par des bases U de l'ARN. Dans le cas des végétaux, afin de limiter la dégradation de l'oligonucleotide introduit par les nucléases endogènes de l'organisme hôte, celui-ci présente une structure double brin dite capée, c'est-à-dire dont les deux brins sont liés entre eux à leurs extrémités par une séquence nucléotidique simple brin de type poly-T (dite T-cap ; voir Figure 2-8). Après transfert de l'oligonucléotide dans la cellule par électroporation de protoplasme ou biolistique, celui-ci s'apparie avec la séquence d'ADN cible pour former une structure ADN/ADN/ARN fortement stimulatrice des activités de recombinaison, conduisant dans un nombre de cas suffisants à l'introduction de la mutation ponctuelle à l'endroit désiré du génome de l'espèce végétale (Beetham *et al.*, 1999 ; Zhu *et al.*, 1999).

Figure 2-8. Principe de la technique de mutagenèse dirigée par oligonucléotide appliquée aux plantes. Le cas de mutants affectés dans le gène codant l'acétolactate synthase (ALS)



Source : Y. Dessaux

Bien qu'encore essentiellement utilisée en laboratoire, cette technique a d'ores et déjà permis d'obtenir des variétés végétales tolérantes aux herbicides. En induisant une mutation spécifique des résidus 123, 106 et 621 de l'enzyme ALS, chez le tabac et/ou le maïs, Zhu *et al.* (2000) ont pu obtenir les lignées tolérantes aux herbicides de la classe B. La Figure 2-9 représente l'oligonucléotide ADN/ARN et le processus recombinatoire qui ont permis la conversion du résidu Ser621 de l'ALS du maïs (qui correspond au résidu Ser653 chez *Arabidopsis thaliana*) en résidu Asn621, lui conférant ainsi la tolérance aux imidazolinones

#### 2.2.3.1.2. La modification ciblée du génome nucléaire à l'aide de méganucléases

En 1998, l'équipe de B. Dujon à l'Institut Pasteur découvre une endonucléase très particulière dans le génome mitochondrial de la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae*. I-Sce-I provoque des coupures double-brin de l'ADN, avec un site de reconnaissance composé d'une séquence plus longue que celle des autres endonucléases. Alors que chez ces dernières les séquences reconnues vont de 4 à 12 bases, la reconnaissance spécifique pour I-Sce-I porte sur 18 bases (Choulika *et al.*, 1994), ouvrant une nouvelle voie de recherche en biotechnologie, en vue de l'introduction de modifications de séquences de manière ciblée, donc à un endroit choisi précisément dans le génome.

Entre 2005 et 2009, plusieurs équipes américaines publient l'existence d'autres endonucléases, dites méganucléases, présentant des propriétés similaires. Ces nucléases particulières sont naturellement présentes chez des bactéries, des phages, des levures et des champignons, des microorganismes animaux unicellulaires et des algues unicellulaires, en particulier dans leurs mitochondries et dans des chloroplastes. Leur intérêt est de posséder un domaine catalytique responsable de la coupure des 2 brins d'ADN, encadré par deux domaines qui reconnaissent respectivement et spécifiquement les 14 à 18 paires de bases situées avant et après le point de coupure choisi. Les nouvelles technologies développées reposent sur l'emploi de méganucléases modifiées, des enzymes capables de provoquer des cassures double-brin dans l'ADN du génome résident, à un endroit que l'on peut choisir à volonté, à condition de connaître la séquence de l'ADN au niveau du locus de coupure désiré. D'une façon générale, ces méganucléases modifiées conservent les régions peptidiques qui leur confèrent l'activité de coupure de l'ADN, et présentent des séquences peptidiques modifiées, de type doigt de zinc (voir Figures 2-9a et 2-9b), qui leur permettent de reconnaître des séquences d'ADN spécifiques où leur attachement sera possible, entraînant le clivage du site choisi.

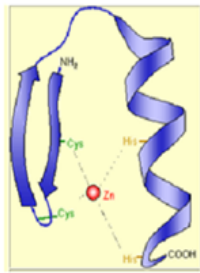
Pour obtenir, à partir de plantes sensibles à des herbicides, des plantes tolérantes par remplacement d'un gène conférant la sensibilité par une version modifiée conférant la tolérance, 3 étapes sont nécessaires :

- l'introduction par électroporation de protoplastes, ou par blessures mécaniques, de fibres de carbure de silicium recouvertes de l'ADN transformant dans des cals embryogènes. L'ADN transformant se compose d'un plasmide d'expression portant la version allélique du gène qui confère la tolérance, bordée en amont et en aval par des séquences identiques à celles bordant le gène résident dans le génome de la plante non tolérante, et d'un plasmide d'expression portant la séquence codant la protéine méganucléase à doigt de zinc (sous sa forme dimérique décrite dans le schéma) dont les domaines de reconnaissance ont été construits pour couper à l'endroit voulu du gène résident (Figures 2-9b et 2-10). Il est important de souligner que les 2 plasmides introduits sont des plasmides d'expression et non des plasmides de transformation. Ils ne s'intègrent pas dans le génome résident et sont éliminés progressivement par des processus naturels (d'une part ces ADN sont nus et donc non protégés de la dégradation par des DNAses et d'autre part la quantité de plasmides par cellules diminue avec les divisions cellulaires) ;
- la culture des protoplastes ou des cals embryogènes sur milieu sélectif (c'est-à-dire contenant l'herbicide). Il s'agit de l'étape de sélection des transformés ;
- la régénération des plantes entières (plantes appelées transformants primaires).

Le protocole décrit permet de générer efficacement et à l'endroit choisi une coupure, activant ainsi les mécanismes de réparation de la plante et facilitant l'occurrence d'événements de double recombinaison homologue. Suivant la nature du lieu choisi pour la coupure de l'ADN receveur, la présence ou non d'ADN donneur et les informations portées par ce dernier, on obtient différents résultats, présentés dans la Figure 2-10.

Figure 2-9a. Les doigts de zinc et la reconnaissance de l'ADN

### Les différents domaines d'une méganucléase



Un doigt de Zinc est une petite protéine dont la conformation 3-D est stabilisée par un atome de Zinc. Plusieurs acides aminés situés au niveau de la partie hélicoïdale engagent des liaisons spécifiques avec 3 paires de bases successives dans l'ADN.

On dispose maintenant d'un jeu de doigts de zinc couvrant les 64 combinaisons possibles de 3 paires de bases successives.

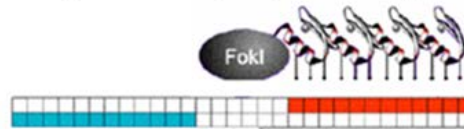
La succession de 5 doigts de zinc constitue un domaine protéique se fixant spécifiquement sur 15 paires de bases successives. Ce domaine protéique peut être accroché sur une protéine naturelle appelée Fok I qui présente une activité endonucléasique. Le tout correspond donc à une protéine capable à la fois de reconnaître spécifiquement une suite de 15 paires de bases sur l'ADN, et en s'y fixant, de provoquer ensuite une coupure de la chaîne d'ADN au niveau du domaine Fok I.



D'après [http://www.exactprecisiontechnology.com/exact\\_slides.pdf](http://www.exactprecisiontechnology.com/exact_slides.pdf)

### Comment créer une coupure double chaîne dans l'ADN?

Après avoir choisi l'endroit exact où la coupure doit intervenir, une première méganucléase est construite d'après la séquence de l'ADN en aval du site du coupure



Une deuxième méganucléase est construite d'après la séquence de l'ADN en amont du site du coupure



Les deux méganucléases se fixent de part et d'autre de la double chaîne d'ADN pour former une structure dimère hétérologue qui va induire la coupure des 2 chaînes de l'ADN

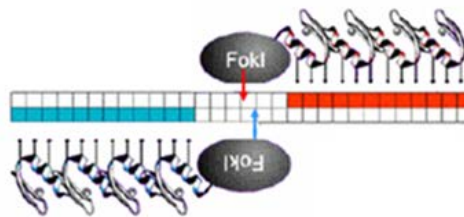
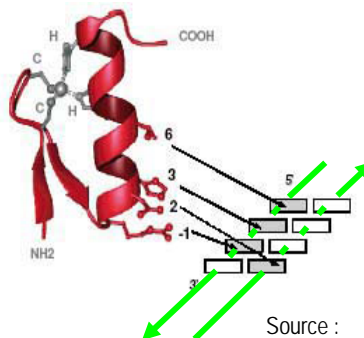


Figure 2-9b. Schéma de principe de coupure de l'ADN par une méganucléase à doigts de zinc

En rouge, le doigt de zinc et ses acides aminés 1, 2, 3 et 6 qui se fixent spécifiquement sur les 4 bases en grisé portées par l'ADN en vert.

A droite, une partie du code de correspondance entre la nature des acides aminés (colonnes bleues) et les bases reconnues (triplets).

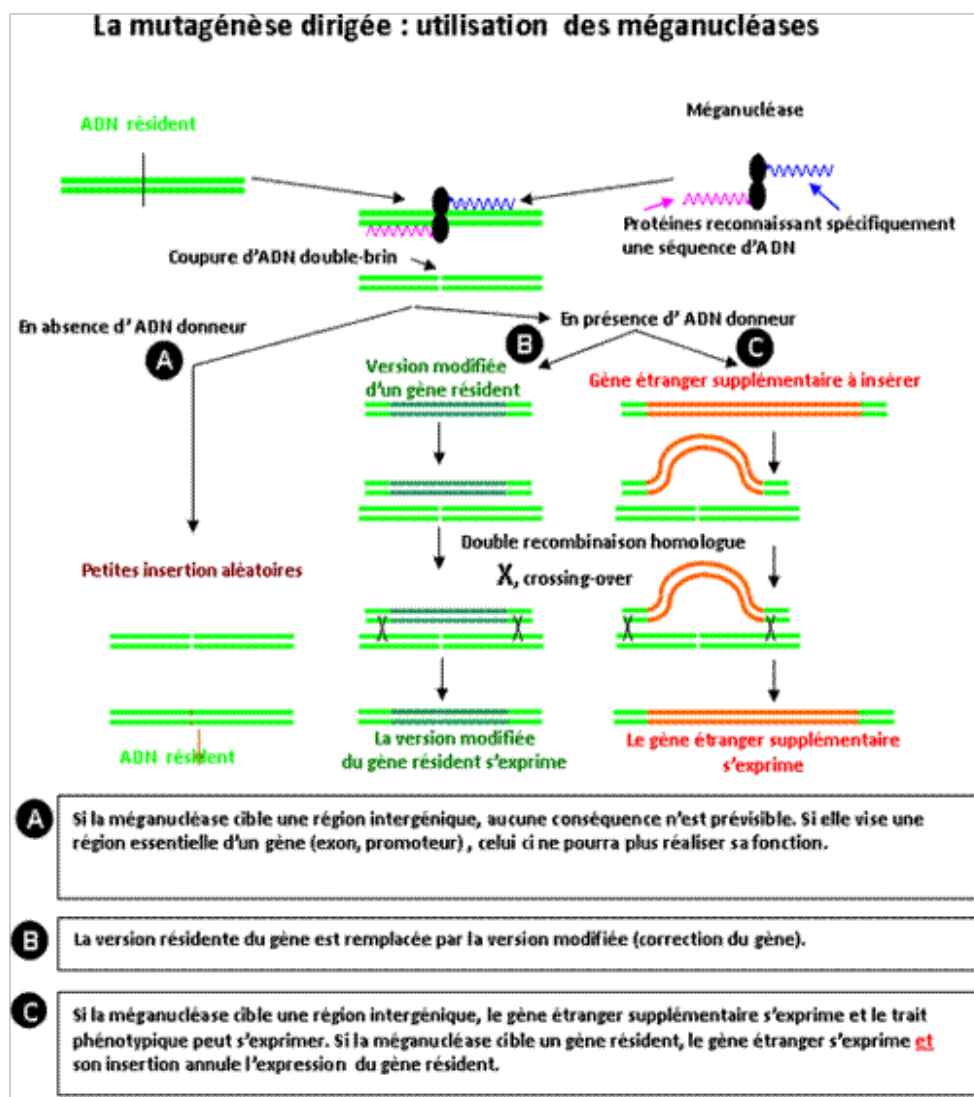


| Acides aminés | Triplet spécifié |
|---------------|------------------|
| -1 2 3 6      |                  |
| RSDELTR       | GCG              |
| RSDHLTR       | GGG              |
| QSSDLTR       | GCT              |
| QSGSLTR       | GCA              |
| RSDALTQ       | ATG              |
| RSDHLTQ       | AGG              |
| etc...        |                  |

Source :

[http://www.exactprecisiontechnology.com/exact\\_slides.pdf](http://www.exactprecisiontechnology.com/exact_slides.pdf)

Figure 2-10. Principes de la mutagenèse dirigée et du remplacement génique



Source : F. Quélier

Suivant la nature de la séquence choisie pour introduire la modification, la présence ou non d'ADN donneur et l'information portée par celui, les différents résultats obtenus peuvent être répertoriés comme suit :

| Lieu choisi pour la coupure  | ADN donneur                           | Résultat obtenu  |
|------------------------------|---------------------------------------|--|
| Région intergénique          | Aucun                                 | La cassure double brin n'est pas réparée correctement, des erreurs sont introduites mais sans conséquence puisqu'en dehors d'un gène   |
| Dans un gène G résident      | Aucun                                 | La cassure double brin n'est pas réparée correctement, et les erreurs présentes empêchent généralement le produit du gène d'être fonctionnel. La fonction assurée par le gène G est abolie.  |
| Dans un gène G résident      | Version différente de ce gène, G*     | Le gène G est remplacé par sa version G* ce qui provoque le changement d'une caractéristique de la plante.   |
| Dans une région intergénique | Gène X provenant d'un autre organisme | Le gène X est inséré dans la région intergénique, il s'exprime et la plante montre une caractéristique nouvelle.   |
| Dans un gène G résident      | Gène X provenant d'un autre organisme | Le gène X est inséré dans le gène G ; le gène X s'exprime mais le gène G, ayant été séparé en 2 parties non adjacentes, ne peut plus s'exprimer. La plante ne montre plus la caractéristique codée par le gène G et exprime la nouvelle caractéristique codée par le gène X. |

Il a été ainsi possible de transformer une plante sensible à un herbicide en une plante tolérante, comme l'on publié deux équipes :

- Townsend *et al.* (2009) décrivent des tabacs rendus tolérants au chlorsulfuron et à l'imazaquin. Ceux-ci ont été obtenus en remplaçant le gène *sur* du tabac codant une protéine sensible, par un ADN donneur amenant une séquence *sur* modifiée, conférant la résistance (transformation de protoplastes puis régénération de plantes entières sur milieu sélectif) ;
- (Shukla *et al.*,(2009), décrivent des maïs rendus tolérants au glufosinate (phosphinotricine). Ceux-ci ont été obtenus par transformation de cals embryogènes par la méthode des fibres de carbure de silice (Petolino *et al.*, 2000) en insérant le gène *pat* codant une phosphinotricine acétyl-transférase, issu d'un *Streptomyces* (bactérie filamenteuse), dans le gène résident du maïs *IPK1* qui code l'enzyme catalysant la dernière étape de la synthèse des phytates (molécules contenant beaucoup de phosphore, composé anti-nutritionnel du maïs). Les maïs transformés sont tolérants au glufosinate, et leur contenu en phosphore est fortement diminué.

Les rendements de transformation, suivant les essais et la technologie employée s'établissent entre 22% et 68%.

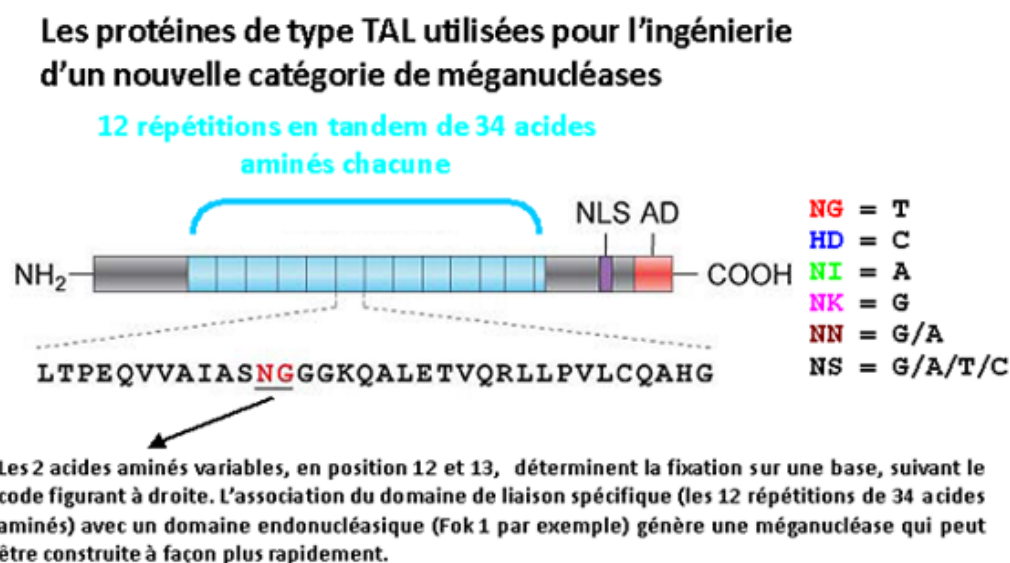
Ces nouvelles stratégies permettent donc des intégrations ciblées aux endroits choisis dans le génome, et autorisent les 3 catégories de modifications : extinction d'un gène résident, modification/correction d'un gène résident, insertion d'un gène étranger, supplémentaire avec des rendements élevés.

Au plan commercial, Collectis (PME française) a commencé à utiliser sous licence de l'Institut Pasteur, la méganucléase de levure I-Sce I. Pour offrir une méganucléase capable de reconnaître n'importe quelle séquence de 18 paires de bases, Collectis génère par génie génétique des enzymes Scel et Cre I (cette dernière est isolée de l'algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*) présentant des modifications de séquences. Ces modifications affectent la séquence des acides aminés qui permettent la fixation de la nucléase sur la séquence d'ADN (technologie cGPS). En 2006, Precision Biosciences, PME des USA, liée à Bayer CropSciences voir (Precision Biosciences, 2011) se positionne également sur ce marché *via* une licence exclusive de la Duke University (USA) portant sur une technologie voisine appelée DNE. Puis DOW Chemical (USA) par sa filiale DOW Agro Sciences (voir lien internet Dow AgroSciences, 2011) obtient une licence exclusive de la part de SANGAMO BioSciences (USA) (voir lien internet Sangamo, 2011a) pour une méganucléase, commercialisée sous le sigle ExZact® (voir lien internet ExZact, 2011) et visant le marché des plantes (d'autres licences SANGAMO concernent les marches animaux et humains ; voir lien internet Sangamo 2011b). La compétition est très importante, et déjà émaillée par un procès pour contrefaçon entre Collectis et Precision Bio Biosciences (voir liens internet Collectis, 2009, et Precision Biosciences, 2010).

Toutes ces méganucléases incorporent des structures à doigts de zinc. Jusqu'à présent, la construction à la demande d'une méganucléase dont les deux séquences de positionnement sur l'ADN sont choisies par le "client" requiert de 3 à 6 mois, voire plus. Ce long délai résulte principalement de la concordance entre la structure en doigt de zinc et les 3 paires de bases consécutives reconnues dans l'ADN (voir figure 2.9b). En effet, une même suite de 3 paires de bases peut être reconnue par plusieurs doigts de zinc différents dans la séquence des d'acides aminés qui se lient à ces 3 paires de bases. Les différentes sociétés mentionnées ci-dessus se sont donc constituées des collections de plusieurs dizaines de milliers de doigts de zinc, qui leur servent à concaténer les différentes combinaisons possibles, puis à tester celles-ci sur des petits fragments d'ADN portant la séquence de 12-18 paires de bases à reconnaître, afin de sélectionner les 2 ou 3 meilleures en termes de sélectivité. L'approche reste donc en partie empirique, la modélisation n'ayant pas encore apporté des prédictions hautement fiables.

Une publication très récente (Boch et Bonas, 2010) décrit chez la bactérie phytopathogène *Xanthomonas* une nouvelle catégorie de protéines reconnaissant spécifiquement des séquences d'ADN. Ces protéines sont des effecteurs de la transcription d'une batterie de gènes impliqués dans les phénomènes d'excrétion durant l'infection de la plante hôte (Scholze et Boch, 2011). Elles ont été appelées TALEs (pour Transcription Activator Like Effectors) et chacune d'elles contient (Figure 2-11) une douzaine de répétition en tandem d'un motif de 34 acides aminés invariables, sauf les 2 acides aminés en positions 12 et 13 qui déterminent la fixation spécifique sur A, T, G, ou C suivant les combinaisons indiquées.

Figure 2-11. Les protéines TALE : une nouvelle catégorie de méganucléases utilisables en amélioration variétale



D'après <http://taleffectors.com>

Ces TALEs, greffées sur un domaine de coupure d'ADN de type Fok 1 ou similaire, constituent la toute nouvelle génération de méganucléases (Boch *et al.*, 2009; Morbitzer *et al.*, 2010; Miller *et al.*, 2011). En effet, à la différence des doigts de zinc où une même suite de 3 paires de bases peut être reconnue par plusieurs doigts différents, les TALEs montrent une correspondance simple et univoque entre chacune des paires de bases d'un brin d'ADN et les séquences d'acides aminés (Moscou et Bogdanove, 2009) comme indiqué dans la Figure 2-8. L'avantage est important puisque, ne nécessitant plus de combinatoire, la concaténation est plus rapide et moins onéreuse. L'étape de vérification de la spécificité devrait être considérablement allégée. Les applications sont en plein développement (Zhang *et al.*, 2011). Cette nouvelle technologie est cependant trop récente pour avoir fait l'objet de publications portant sur l'obtention de plantes VTH. A noter : Collectis vient d'obtenir en janvier 2011 la licence exclusive de distribution de TALEs par les Universités de Minnesota et de Iowa, détentrices du brevet (voir liens internet Collectis, 2011a, et Collectis, 2011b).

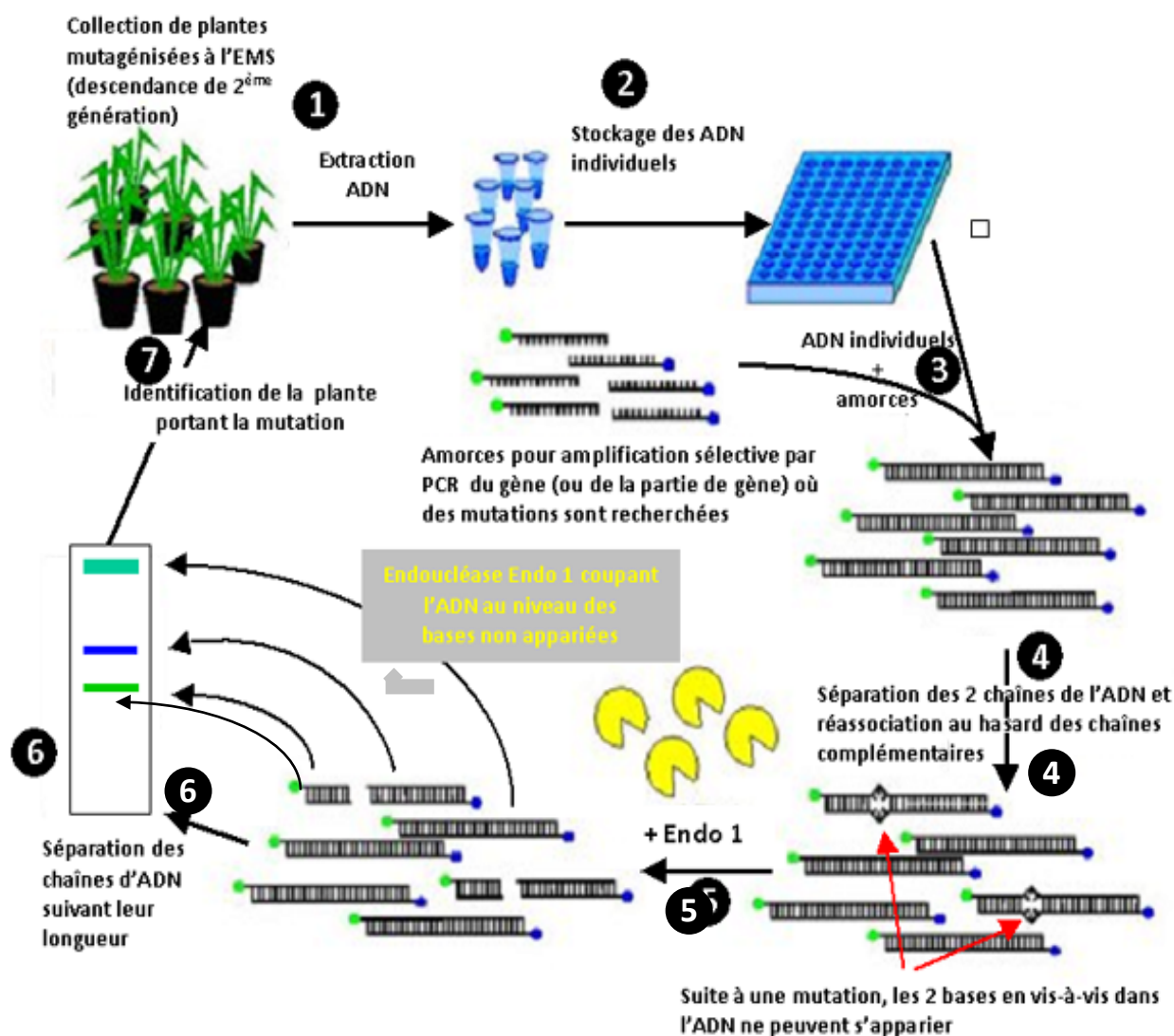
En conclusion de cette partie, plusieurs technologies concurrentes sont donc désormais disponibles pour réaliser des modifications ciblées dans les génomes en général, et les plantes en particulier. Des plantes tolérantes à des herbicides ont d'ailleurs déjà été produites en utilisant des méganucléases.

### 2.2.3.2. L'identification à haut débit des mutations par TILLING

La mutagenèse à l'EMS génère un grand nombre de plantes mutantes ; chacune peut porter plusieurs mutations et la grande majorité des modifications du génome sont des mutations ponctuelles dont une grande partie consiste en transversions G-C vers A-T. Les graines traitées à l'EMS sont semées ; celles qui ne contiennent pas de mutations létales produisent des plantes qui fleurissent et donnent par auto-fécondation des graines qui seront semées à leur tour. A ce stade, toutes les cellules d'une plante qui se développe portent les mêmes mutations. Ces plantes constituent une collection qui peut être exploitée en suivant la stratégie du TILLING (Targeting Induced Local Lesions In Genomes ; Mc Callum *et al.*, 2000a, 2000-b ; Colbert *et al.*, 2001). Le TILLING, qui comporte 7 étapes (Figure 2-12), a pour but d'identifier les plantes qui portent les différentes versions d'un gène d'intérêt. Ces versions peuvent être associées à des modifications du trait, allant jusqu'à sa suppression totale. Elles servent à établir la relation structure/fonction du gène pour les physiologistes et les biologistes moléculaires. Dans des cas relativement rares, une version mutée se révèle "supérieure" à la version résidente dans une plante cultivée (mutation apportant un gain de fonction) et elle peut être utilisée en amélioration des plantes, par introgression naturelle ou par transformation (maintenant ciblée, cf. ci-dessus).



Figure 2.12. Schéma de principe du TILLING



D'après <http://www.lookfordiagnosis.com/images.php?term=Heteroduplex+Analysis&lang=1&from2=36>

Les étapes principales d'un crible par TILLING sont les suivantes :

- Les plantes sont numérotées. L'ADN est extrait de chaque plante, en général à partir d'une feuille : le reste de la plante est amené à floraison et les graines sont conservées et identifiées avec le numéro de la plante.
- Les échantillons d'ADN sont stockés dans des plaques de 384 puits (ce format est nécessaire pour la robotisation des étapes ultérieures). Les étapes 3, 4 et 5 seront menées simultanément sur plusieurs dizaines de plaques 384 puits.
- Un aliquote de chaque échantillon d'ADN est mis en présence d'oligonucléotides amorces pour réaliser une amplification par PCR du gène – ou d'une partie du gène – d'intérêt. A la fin de l'opération, on obtient suffisamment de molécules d'ADN portant le gène d'intérêt ou la partie intéressante du gène pour les étapes suivantes.
- L'ensemble des molécules d'ADN double-chaîne obtenues sont dénaturées par un traitement à 100°C quelques minutes ; les 2 chaînes complémentaires d'ADN se séparent l'une de l'autre. La solution est alors ramenée à une température plus faible qui permet aux chaînes d'ADN présentant une séquence complémentaire de se réassocier de façon stable ; la présence de quelques mésappariements (paires de bases non appariées, donc autres que G-C et A-T) ne gênent pas la réassociation. Les collisions se faisant au hasard, les molécules réassociées en double chaîne rassemblent des molécules originelles parfaitement reconstituées et des molécules hybrides avec un mésappariement.
- L'ensemble des ADN réassociés est soumis à l'action d'une endonucléase particulière, Endo 1, qui reconnaît spécifiquement les mésappariements et coupe la double chaîne d'ADN à cet endroit.
- L'ensemble des molécules d'ADN réassociées et traitées par Endo 1 est analysé pour détecter la présence de molécules plus courtes que les molécules originelles. Plusieurs technologies sont disponibles, dont quelques unes à haut-débit.
- Les plantes pour lesquelles des produits de coupure ont été détectés sont identifiées grâce au numéro de la plaque, et les coordonnées de la ligne et de la colonne de l'étape 3. Les graines correspondantes sont disponibles immédiatement.

Les étapes 5 et 6 peuvent être réalisées en moyen débit avec d'autres technologies, comme par exemple la DHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography), qui ne requiert pas de coupure par une endonucléase (voir lien internet "WAVE"). En complément, les molécules plus courtes seront clonées et "séquencées", pour identifier la paire de base modifiée. La collection complète des différentes versions du gène d'intérêt - ou de sa partie d'intérêt - sera établie et accessible *via* les graines correspondantes. Le TILLING peut également être mené sur une collection de plantes de l'espèce agronomique d'intérêt ou d'une espèce voisine, récoltées dans l'agro-environnement ou dans différentes niches écologiques, dont des conditions extrêmes (latitude, altitude, etc.). Il s'agit alors d'Eco-TILLING (Till *et al.*, 2006).

Il est important de souligner qu'une des forces de cette technique réside dans son universalité : une fois les graines soumises à mutagenèse ou collectées dans des ressources génétiques, l'ADN extrait est stocké en plaques 384 puits. Cette ressource peut être utilisée pour rechercher des plantes présentant des versions mutées de n'importe quel gène ou séquence en général, cela ne dépendant que des amorces utilisées lors de l'étape d'amplification de l'ADN par PCR. De plus, des mutants de toutes les espèces végétales sont susceptibles d'être identifiés par TILLING. Il existe d'ailleurs au niveau mondial plusieurs plateformes de TILLING dédiées chacune à une espèce particulière (pois, tomate, melon, piment, concombre, pastèque...). Plusieurs se trouvent en France, dans des laboratoires INRA.

## 2.2.4. Bilan

Cet examen des modes d'obtention des variétés tolérantes aux herbicides révèle que trois modes principaux d'obtention ont été utilisés en amélioration variétale de plantes de culture : l'introgression de mutations spontanées ; l'introgression de mutations induites (par mutagenèse) ; la transgénèse. Ces trois modes d'obtention ont été mis à profits pour obtenir des VTH chez plusieurs espèces végétales (Tableau 2-5).

L'introgression de mutations spontanées ou induites a essentiellement (pour ne pas dire uniquement) visé à introduire dans une espèce cultivée une version insensible à l'herbicide de sa cible moléculaire (exemple des nombreuses variétés tolérantes aux imidazolinones et sulfonyle-urées). De telles cibles ont également été introduites par transformation dans les espèces de culture lorsqu'elles ne provenaient pas d'espèces végétales interfertiles (exemple de l'introduction d'une EPSPS de pétunia insensible au glyphosate dans plusieurs espèces végétales), ou lorsqu'elles provenaient de microorganismes. La transformation permet en effet de s'affranchir de la barrière d'espèce. En accord avec ceci, des techniques de transformation ont également été utilisées pour introduire dans les espèces cultivées un ou des déterminants codant des protéines détoxifiant l'herbicide (exemple des divers gènes codant la tolérance au glufosinate), le plus souvent d'origine microbienne. Le gène *pat* (ou *bar*) de *Streptomyces* a ainsi été très largement utilisé, souvent également en tant que marqueur de sélection. Le Tableau 2-5 récapitule les principales VTH commercialisées dans le monde et leurs caractéristiques principales.

Du point de vue chronologique, les premières VTH obtenues l'ont été par introgression de mutations spontanées ou induites. Les variétés de colzas tolérants aux triazines (Triton®) mises sur le marché dans les années 1980 s'inscrivent dans cette logique. Dès l'introduction des colzas Triton®, d'autres méthodes basées sur la sélection d'individus issus de populations sauvages, ou sur la mutagenèse, ont permis, dans les années 1990, d'obtenir des variétés également dotées d'une cible enzymatique modifiée : colzas tolérants aux sulfonyle-urées (classe B), mais tolérant au séthoxydime (classe A) et diverses variétés tolérantes à des imidazolinones (classe B). Dans le même temps, les outils nécessaires à l'obtention de variétés transgéniques se sont développés et ont rendu possible la production de cultures tolérantes à des herbicides à très large spectre, tels que le glyphosate et le glufosinate. Sans préjuger des raisons qui ont conduit à l'adoption forte des VTH, et qui seront présentées plus loin dans ce rapport, il est probable que la mise à disposition de ces variétés tolérantes à des herbicides à large spectre, composés phytosanitaires faciles d'emploi et globalement efficaces, a dû jouer un rôle. Un autre élément important est que les semences transgéniques et leur herbicide associé sont essentiellement produits par la même firme, et peuvent être commercialisés sous la forme d'un "kit". Notons cependant dans ce contexte, que le coton tolérant au bromoxynil a été, en 1995, l'une des premières VTH GM mise à disposition des agriculteurs. Des variétés RoundUp® Ready de nombreuses espèces sont ensuite apparues dans le milieu des années 90, ainsi que des variétés de colza et de maïs tolérantes au glufosinate, rejointes récemment par des variétés de coton et de soja tolérantes à cet herbicide, et par des variétés de luzerne et betterave tolérantes au glyphosate.

En résumé, les VTH actuellement commercialisées peuvent être distinguées selon à la fois leur mode d'obtention et la sélectivité des herbicides associés :

- des variétés tolérantes à des herbicides sélectifs à large spectre (principalement des classes A, B ou C), issues de mutation spontanée ou induite par mutagenèse
- des variétés tolérantes à des herbicides totaux (glyphosate et glufosinate), obtenues par transgénèse.

Les techniques d'obtention à l'origine de ces 2 types de VTH conditionnent le régime réglementaire auquel ces variétés sont soumises. Les VTH qui déposent actuellement des demandes d'inscription aux catalogues officiels communautaire et français relèvent de la première "catégorie". La mutagenèse figure dans l'annexe I B de la directive 2001/18 (en annexe 3 de ce rapport), en tant que technique induisant une modification génétique, mais produisant des organismes à exclure du champ d'application de ce texte. Aussi, les VTH qui en sont issues sont techniquement des OGM, mais exclues du champ de la directive. Contrairement aux VTH obtenues par transgénèse, elles sont donc soumises à la même réglementation que les variétés issues des techniques de sélection variétale classiques qui incluent l'introgression par croisements de mutations spontanées.

Distinguer plus finement *a posteriori* les variétés obtenues par introgression de mutations induites ou spontanées est techniquement impossible aujourd'hui, sur la base de séquences génétiques 'trace' une variété issue de l'introgression de mutations spontanées de variétés issues de l'introgression d'une mutation induite. Les processus physico-chimiques et moléculaire mis en jeu dans les deux cas sont en effet les mêmes, et les croisements en retour effectués dans les deux cas auront probablement effacé la présence de la plupart des autres mutations que la mutagenèse aurait pu induire. Cette trace aurait été de toute façon difficile à caractériser, même avec les outils de séquençage massif dont nous disposons, et ce d'autant plus que ces éventuelles mutations supplémentaires ne sont pas distinguables des mutations liées à la variation somaclonale naturelle. L'émergence du TILLING et de l'éco-TILLING renforcera la fragilité de la "barrière conceptuelle" séparant mutations spontanées et mutations induites. Ainsi, dans le cas d'école où des plantes issues de l'introgression d'une mutation ponctuelle d'intérêt agronomique induite seraient réglementairement considérées à l'identique des OGM issus de transgénèse, une version spontanée de cette mutation d'intérêt par Eco-TILLING détectée au sein d'individus constitutifs d'une population naturelle ne serait pas, elle, considérée comme caractéristique d'une lignée OGM.

De plus, la distinction entre variété mutante (quelle que soit la forme de la mutation) et variété GM issue de transgénèse risque d'être rendue plus complexe par le développement rapide des techniques de mutagenèse ciblée, que celles-ci impliquent des méganucléases ou des oligonucléotides. En effet, là encore, la variété végétale qui en résultera, portera dans certains cas une courte délétion ou une mutation unique, qui ne pourra pas techniquement être distinguée d'événements spontanés de délétions ou de mutations.

Tableau 2-5. Principales VTH commercialisées dans le monde

| Herbicide                    |   | Cultures TH concernées |   |  |   |   |             |
|------------------------------|---|------------------------|---|--|---|---|-------------|
| Classe<br>Famille            | Molécule active<br><i>nom commercial</i>  | Espèce                 | Première année de mise sur le marché – inscriptions aux Catalogues<br>Zone géographique de culture / surfaces cultivées (hectares ha)                                     | <i>nom commercial</i>                      | source du trait TH<br>mécanisme de résistance   | Mode d'obtention  |             |
| A<br>Cyclohexanediones       | Cycloxydime<br><i>Stratos ultra</i>   | Mais                   | 2000 – 35 variétés inscrites en France, 72 en Europe<br><b>Cultivé en France</b>  | <i>Duo System®</i><br>(BASF)               | Ressources génétiques sauvages<br>Modification de la cible                            | Introgression d'une mutation spontanée<br>par croisements sexuels                                       |             |
|                              | Séthoxydime   | Mais                   | 1996 Am Nord  |  | Mutants spontanés ou induits  |   |             |
|                              | Séthoxydime   | Millet                 | 2006 - Chine  |  | Ressources génétiques sauvages<br>Modification de la cible                            | Croisements sexuels   |             |
| B<br>Sulfonylurées           | Tribénuron-méthyle<br><i>Express SX</i>   | Tournesol              | <b>Des variétés inscrites en Europe<br/>France : introduction en 2010, env. 30000 ha en 2011</b>  | <i>Express Sun®</i><br>(Pioneer)           | mutant spontanés ou induits   |   |             |
|                              | Chlorsulfuron   | Soja                   | 1994 aux USA  | <i>STS soybean®</i><br>(DuPont de Nemours) | mutant spontanés ou induits   |   |             |
| B<br>Imidazolinones          | Substances enregistrées :<br>Imazamox, imazapyr,<br>imazethapyr, et imazapic<br><br><i>Pursuit, Onduty, Intervix,<br/>Newpath, Beyond,<br/>Clearpath, Midas, Solo,<br/>Pulsar 40...</i> | Mais                   | 1992 aux USA ( <i>IMI-corn®</i> ) – 3 variétés en Europe (2003 et 2004)   | <i>Clearfield®</i><br>(BASF)               | Ressources génétiques de l'espèce<br>Modification de la cible                         | Sélection de mutants en présence<br>d'herbicide   |             |
|                              |   | Colza                  | 1995 ( <i>Smart canola</i> )- 8 variétés en Europe (2010 et 2011)   |  |   | Mutagenèse chimique sur graines ou<br>microspores   |             |
|                              |   | Riz                    | 2001 aux USA - 2 variétés en Europe (2009 et 2011)  |  |   | Croisements sexuels à partir d'une<br>population de tournesols adventices<br>résistants à l'imazethapyr |             |
|                              |   | Blé                    | 2001  |  |   |   |             |
|                              |   | Lentille               |   |  |   |   |             |
|                              |   | Tournesol              | 2003 : USA, en Argentine et en Turquie – 1 variété au Catalogue français<br>(2009), 52 au Catalogue communautaire<br>France : introduction en 2010, env. 50000 ha en 2011 |  |   |   |             |
| C1<br>Triazines              | Atrazine  | Colza                  | 1984<br>Canada jusqu'au milieu des années 1990<br>Australie : 1 million ha mais diminuent en faveur des Colza RR®   | <i>Triton®</i>                             | Ressources génétiques sauvages<br>Modification de la cible                            | Croisements sexuels   |             |
| C3<br>Oxynils                | Bromoxynil  | Colza                  | 2000 au Canada – N'est plus commercialisé aujourd'hui   | <i>Westar-Oxy-235®</i><br>(Rhône-Poulenc)  | Gène <i>oxy</i> bactérie du sol<br>Métabolisation de l'herbicide                      | Transgénèse   |             |
|                              |   | Coton                  | 1995 - l'une des premières variétés transgéniques commercialisées<br>N'est plus commercialisé aujourd'hui   |  |   | Transgénèse   |             |
| G<br>glycines                | Glyphosate<br><i>Roundup</i>  | Soja                   | 1996 Am Nord  | <i>Roundup Ready®</i><br>(Monsanto)        | Gène CP4 <i>Agrobacterium</i><br>Modification de la cible                             | Transgénèse   |             |
|                              |   | Colza                  | 1996 <i>Hyola</i> au Canada   |  |   |   |             |
|                              |   | Sorgho                 |   |  |   |   |             |
|                              |   | Coton                  | 1997 Am Nord  |  |   |   |             |
|                              |   | Mais                   | 1998 Am Nord  |  |   |   |             |
|                              |   | Luzerne                | 2005 aux USA  |  |   |   |             |
|                              |   | Betterave              | 2007 aux USA → 95% d'adoption en 2009   |  |   |   |             |
|                              |   | Blé                    | En cours de développement   |  |   |   |             |
|                              | Glyphosate  | Colza                  |   |  |   | Gène GOX microbien<br>Métabolisation de l'herbicide   | Transgénèse |
|                              |   | Mais                   |   |  |   | Gène muté de maïs<br>Modification de la cible   | Transgénèse |
| H<br>Acides<br>phosphiniques | Glufosinate ammonium<br><i>Liberty®, Ignite®</i>  | Colza                  | 1995 pour Invigor au Canada   | <i>LibertyLink®</i><br>(Bayer)             | Gène <i>pat</i> ou <i>bar</i> de <i>Streptomyces</i><br>Métabolisation de l'herbicide | Transgénèse   |             |
|                              |   | Mais                   | 1997 Am Nord – 2 variétés inscrites en France mais non cultivées  |  |   |   |             |
|                              |   | Coton                  | 2005 pour les FiberMax  |  |   |   |             |
|                              |   | Soja                   | 2009 aux USA  |  |   |   |             |

## 2.3. Effets de la tolérance aux herbicide sur la production végétale

Henri Darmency

A partir du moment où les VTH résultent d'une modification génétique (au sens large) d'une variété préexistante, il est légitime de s'interroger sur les conséquences que pourrait avoir cette modification sur le végétal, à la fois en termes de physiologie, mais également en des termes plus agronomiques tels que rendement ou qualité des produits de récolte. Les effets au seul plan génétique de l'introduction du trait TH - et plus généralement de celle de tout trait agronomique dans un végétal - ont été présentés dans la section précédente.

Par ailleurs, une caractéristique majeure des VTH est d'associer à l'amélioration variétale l'usage d'une molécule chimique herbicide. Se pose donc la question des résidus d'herbicides dans l'espèce cultivée. Ces données seront présentées au chapitre 4 du présent rapport, qui traite de la contamination des milieux par les herbicides. Enfin, les données relatives à l'impact des herbicides sur la faune sauvage, et particulièrement sur la faune herbivore éventuellement consommatrice de VTH ou soumise aux pulvérisations d'herbicide, ne seront pas abordées ici mais présentées dans le chapitre 3.

En termes agro-écologiques, les résistances aux xénobiotiques ont souvent été supposées engendrer des coûts adaptatifs (Coustau *et al.*, 2000). Dans le cas des résistances aux herbicides, cette opinion a été confortée par l'un des premiers cas de résistance apparus chez les adventices (la résistance aux triazines), mais les études ultérieures portant sur de nouvelles résistances n'ont pas permis de généraliser ce phénomène (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Dans le cas des espèces cultivées, des effets secondaires des gènes de résistance pourraient modifier la qualité et la quantité des récoltes. Il est en effet concevable que les gènes de résistance à un herbicide provenant de ressources génétiques, de mutations, d'insertion de transgènes sur les chromosomes, ou encore les transgènes eux-mêmes, puissent introduire un dysfonctionnement ou un coût métabolique au fonctionnement habituel des cultures qui les reçoivent, en l'absence de l'herbicide spécifique appliqué. Cette question a reçu peu d'attention, car la commercialisation accélérée des VTH et la nature continue du processus de création variétale, ont conduit à la mise entre parenthèses de son évaluation rigoureuse, au profit de mises au point techniques au champ et/ou d'obtention de lignées présentant le meilleur rendement possible.

Nous ne considérons dans une première partie que des études présentant des résultats sur la comparaison tolérant/sensible pour du matériel quasi-isogénique en l'absence d'herbicide. C'est cette comparaison qu'il faut retenir pour évaluer le potentiel des VTH "toutes choses égales par ailleurs". Le référentiel retenu ici regroupe des références plutôt académiques cherchant à déterminer les processus impliqués ou leurs conséquences. Elles sont d'autant moins nombreuses et moins détaillées que la mise au point des variétés est récente. Devant la diversité des herbicides, des espèces, des processus de sélection et des gènes, ces effets doivent être étudiés au cas par cas. La comparaison des cultivars dans le cadre de leur utilisation commerciale, c'est-à-dire avec l'herbicide le plus approprié, est abordée au point suivant et se fonde principalement sur des publications à vocation technologique (dans *Weed Technology*, par exemple) qui sont abondantes mais peu généralisables.

La connaissance des effets secondaires liés à un gène de résistance doit permettre d'anticiper la valeur adaptative intrinsèque des repousses des VTH, c'est-à-dire leur potentiel invasif dans les champs et dans les communautés végétales non cultivées, en dehors du phénomène de résistance à l'herbicide (Wilkinson & Tepfer, 2009). Cela s'applique aussi au devenir des descendants d'hybrides entre les cultures tolérantes et des plantes apparentées sauvages (Liu *et al.*, 2010) (voir également le chapitre 3). Les valeurs de "fitness" peuvent alimenter les modèles démographiques de développement des populations férales et adventices.

L'ensemble des conclusions de ce chapitre, portant à la fois sur le potentiel de croissance des VTH en l'absence d'herbicide, et l'impact de l'acquisition du trait de tolérance sur la production (rendement et qualité des produits de récolte) seront regroupées sous forme de bilan à la section 2.3.4.

### 2.3.1. Potentiel de croissance des variétés tolérantes aux herbicides, en l'absence d'herbicides

#### 2.3.1.1. Variétés tolérantes aux herbicides de classe A

Sont étudiés dans cette section les cas des résistances aux aryloxyphénoxypropionates et cyclohexanediones.

### 2.3.1.1.1. Chez deux céréales

Plusieurs mécanismes de résistance se sont développés chez les graminées adventices pour des herbicides comme le diclofop et le sethoxydime qui inhibent la synthèse des lipides. Cependant, on ne compte chez les variétés cultivées que du maïs issu de mutants obtenus en culture de calus et du millet obtenu par croisement avec un *Setaria viridis* adventice résistant. Selon le patron de résistance croisée à plusieurs molécules d'inhibiteurs de l'acétyl coenzyme A carboxylase (ACCCase) (Young & Hart, 1997), ce maïs pourrait posséder la mutation la plus courante parmi les 8 connues du gène de l'ACCCase : Ile-1781-Leu. Il est suffisamment rustique pour poser des problèmes de repousse dans le soja qui le suit dans la rotation, et il ne semble pas avoir suscité d'interrogation sur son rendement. Pour le millet, il s'agit aussi de la même mutation. Étudiée en France sous plusieurs conditions avec du matériel quasi-isogénique (F<sub>2</sub> et BC<sub>7</sub>), la mutation n'a pas d'effet global sur le rendement : les semences sont 24% plus nombreuses mais elles sont moins lourdes. Malgré cela, les plantules tolérantes ont une dynamique de croissance plus rapide (Wang *et al.*, 2010). Comme pour le maïs, ces caractéristiques feraient des millets tolérants une repousse plus agressive que le type sensible. Il est cependant toujours possible qu'une partie des différences observées soit due à un gène avantageux fortement lié au gène d'ACCCase.

### 2.3.1.1.2. Chez les adventices

Les travaux sur les adventices résistantes, lorsque de nombreuses populations ou des populations isogéniques étaient comparées, n'ont pas montré de différence de production de semences pour la mutation Ile-1781-Leu (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Cependant, plusieurs travaux, et ceux sur le millet extrapolés à *Setaria viridis*, montrent que la résistance serait associée à une germination plus rapide, notamment grâce à une re-mobilisation des chaînes d'acides gras libres, un phénomène partiellement sous le contrôle de l'ACCCase (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Une autre mutation serait aussi sans conséquence, Ile-2041-Asn, alors qu'Asp-2078-Gly diminue l'activité de l'ACCCase et donne des plantes moins hautes (-6% de taille) et moins productives (biomasse végétative -42%, reproductrice -36%). En ce qui concerne les mécanismes de résistance par métabolisation et détoxification, les études montrent un coût reproductif (estimé au travers de la mesure du nombre de structures reproductives et du poids des graines) d'environ 23% (Vila-Aiub *et al.*, 2009). C'est ce type de résistance, "innée", qui constitue la base de la sélectivité des herbicides anti-dicotylédones utilisés actuellement dans les céréales.

## 2.3.1.2. Variétés tolérantes aux herbicides de classe B

Cette section s'intéresse aux seules résistances aux sulfonyle-urées et imidazolinones.

### 2.3.1.2.1. Chez les adventices

De très nombreuses espèces d'adventices ont développé des populations résistantes à ces inhibiteurs de la synthèse des acides aminés branchés. La littérature sur ces résistances chez les adventices n'est pas très riche d'information à cause des nombreuses mutations possibles, du cumul de plusieurs mécanismes de résistance (différents types de détoxification et mutation de la cible, l'acétolactate synthase (ALS)), de l'absence de matériel isogénique, et de l'absence d'étude dans la majorité des résistances (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Deux cas montrent cependant une pénalité d'environ 30% sur la production de semences, parmi d'autres différences : pour la mutation Pro-197-His (Tardif *et al.*, 2006), et pour Pro-197-Ser de l'ALS (Purrlington & Bergelson, 1997; Roux *et al.*, 2004), quoique dans ce dernier cas l'ajout d'engrais supprimait la différence. Des travaux sur du matériel divers montrent en plus que la mutation Pro-197-His entraînerait l'accumulation des acides aminés branchés (Val, Ile et Leu) libres dans certains tissus, ce qui pourrait en permettre la re-mobilisation plus rapide, en particulier lors de la germination à des températures fraîches (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Il n'y a cependant pas de travaux conclusifs à ce sujet.

### 2.3.1.2.2. Les mutants imidazolinones

En ce qui concerne les variétés cultivées, mises à part la sélection de lignées mutantes de soja possédant une résistance récessive (Sebastian *et al.*, 1989) et l'obtention de carottes tolérantes en lien avec une amplification du gène de l'ALS (Caretto *et al.*, 1994), toutes les autres plantes tolérantes à ces produits, quelle que soit la méthode d'obtention, présentent des mutations simples ou multiples du gène de l'ALS (Tan *et al.*, 2005). Pour autant, ces mutations confèrent différents patrons de résistance croisée aux deux familles d'inhibiteurs d'ALS et

peuvent donc avoir des effets secondaires différents sur la croissance, la productivité et la qualité des récoltes. On peut distinguer les mutations regroupées sous le terme commercial de Clearfield®, qui confèrent la tolérance aux imidazolinones : Ser-653-Asn pour le maïs, le riz, le colza et le blé ; Ala-205-Val pour le tournesol ; Trp-574-Leu pour le maïs et le colza (et qui confère aussi la tolérance aux sulfonyle-urées) (Tan *et al.*, 2005). D'autres mutations ponctuelles sont par ailleurs connues. Ser-653-Asn n'entraîne pas de différence de rendement au champ chez le blé au Canada (Pozniak *et al.*, 2004), ni en serre chez *Arabidopsis* (Roux *et al.*, 2004). Les comparaisons des premiers tournesols tolérants avec leurs homologues sensibles, de leurs hybrides sur des *Helianthus petiolaris* ou après croisement avec d'autres variétés n'ont pas montré de différences significatives dans la production de semences aux Etats-Unis et au Brésil (Adegas *et al.* 2007; Marshall *et al.*, 2001; Massinga *et al.*, 2005), bien qu'ils montrent souvent des feuilles plus grandes et qu'ils semblent être moins compétitifs en peuplement mixte. L'imazamox, appliqué à simple et double dose sur tournesol ou soja, n'a pas d'effet négatif sur le rendement et la qualité des produits récoltés, et aucun effet négatif sur la germination des semences issues de tournesol traité avec cet herbicide n'a été observé (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009a). De même, aucune différence n'a été mise en évidence chez des chicorées au champ en France (la mutation est probablement la même) (Lavigne *et al.*, 1995). Trois mutants de coton (avec probablement encore la même mutation) ont été comparés à leurs variétés parentes et ont montré un rendement supérieur de 10% en moyenne sur deux années d'expérimentation au champ, mais des effets sur la solidité de la fibre (résistance et qualité globale) ont été notés, surtout lors d'application d'imazamox à haute doses (Bechere *et al.*, 2009). Enfin, les premiers tests sur des mutants tolérants de colza ont montré qu'ils étaient autant, voire plus, productifs que leur variété parente au champ (Swanson *et al.*, 1989). Toujours sous dénomination Clearfield®, la mutation Gly-654-Glu est développée chez des variétés de riz à grain long qui sont de 5 à 11% moins productifs que des cultivars conventionnels selon les années dans des essais multi-variétaux aux Etats-Unis (Sha *et al.*, 2007), mais cette différence semblait se combler avec la mise au point de nouveaux cultivars.

#### 2.3.1.2.3. Les mutants sulfonyle-urées

Le second groupe concerne les mutations donnant plutôt une tolérance aux sulfonyle-urées, principalement Pro-197-His issue des ressources génétiques sauvages pour la laitue et chez *Arabidopsis*, cette dernière ayant été transférée par génie génétique à plusieurs espèces cultivées. Dans le cas d'*Arabidopsis*, un mutant rétrocroisé six fois avec sa lignée d'origine a été comparé à la lignée d'origine et à la même lignée transformée par insertion au moyen d'*Agrobacterium* d'un fragment contenant la forme mutante d'ALS isolée d'*Arabidopsis*. Mutants et plantes transformées ont produit 26% de moins de semences que le type d'origine. La fertilisation des pots a supprimé la différence chez les mutants, mais pas chez les transgéniques (Purrlington & Bergelson, 1997). Dans le cas de la laitue, après cinq générations de rétrocroisement, l'activité de l'ALS mutée était de 46% celle du type normal, mais moins sensible aux boucles de rétro-inhibition, elle conduisait à des concentrations en acides aminés branchés 1,5 fois plus élevées chez les semences des tolérants que chez les sensibles (Eberlein *et al.*, 1999). Aucune comparaison de croissance et de reproduction n'est disponible, mais la laitue étant plutôt sélectionnée sur des critères de qualité que de rendement en graines, il n'est pas sûr qu'on puisse extrapoler les résultats. Enfin, on peut rapprocher le cas de mutants de colza dont le patron de résistance croisée correspond à la même mutation Pro-197-His et qui étaient plus tardifs et de 6 à 14% moins productifs que la lignée parente dans un essai au champ en France (Magha *et al.*, 1993).

#### 2.3.1.2.4. Les transformants

Pour les variétés tolérantes obtenues par transformation avec le gène mutant de l'ALS (toujours Pro-197-His), les résultats sont variés. Aucune différence n'a été observée chez le lin (McHughen & Holm, 1991) ni sur du colza (Blackshaw *et al.*, 1994) dans des essais au champ au Canada. Chez le maïs testé au champ aux USA, la plupart des variétés tolérantes ne montraient pas de différences avec leur matériel quasi-isogénique d'origine, mais quelques variétés avaient des rendements supérieurs ou inférieurs (Boerboom & Lauer, 1997). En revanche, des essais sur du colza ont montré une perte de 18% du rendement, mais peu d'autres différences sur la qualité de la récolte (Brandle & Miki, 1993). Ces variations peuvent être dues à de nombreux facteurs : les plantes transformées sont régénérées à partir de cultures de tissus durant lesquelles d'autres mutations peuvent être acquises (variations somaclonales) ; les lignées sélectionnées sont choisies parmi les transformants ayant la meilleure expression de la résistance, ce qui ne garantit pas l'obtention d'un réel matériel isogénique ; le site d'incorporation du transgène sur un chromosome a pu rendre un gène constitutif de la plante non opérationnel (mutagenèse d'insertion) ; des génomes variétaux différents peuvent conduire à des interactions différentes.

#### 2.3.1.3. Variétés tolérantes aux herbicides de classe C

Dans une première partie, cette section s'intéresse au cas des triazines. La seconde partie sera dévolue au cas des nitriles, et plus particulièrement à celui du bromoxynil.

##### 2.3.1.3.1. Le premier exemple de VTH

Des variétés tolérantes aux triazines ont été développées à partir des ressources génétiques chez deux cultures : le colza et le millet. Comme indiqué plus haut, dans presque tous les cas, la résistance est due à une mutation ponctuelle (Ser-264-Gly) sur le gène chloroplastique *psbA* codant la protéine D1 du thylakoïde (Tian & Darmency, 2006). En retour, on peut s'attendre à ce que d'autres propriétés des thylakoïdes soient altérées chez les lignées mutantes. S'agissant d'un gène chloroplastique, c'est l'ensemble du cytoplasme qui a été transféré par croisement sexué aux deux espèces cultivées. De ce fait, aucune comparaison exacte des effets du gène muté à son original n'est possible. Cependant, il existe une large littérature sur ce sujet chez différentes adventices (références dans Vila-Aiub *et al.* (2009) qui converge vers des conclusions similaires, le seul point commun étant la présence de la mutation chloroplastique.

##### 2.3.1.3.2. Un effet pénalisant.

L'étude chez les deux cultures a été réalisée en milieu confiné et au champ en utilisant du matériel isogénique après sélection de lignées tolérantes : soit des hybrides de première génération entre la lignée tolérante et une variété (Beverdorsdorf *et al.*, 1988) ou des F<sub>2</sub> de ce croisement (Darmency & Pernes, 1989; Plowman *et al.*, 1999) qui partagent en moyenne le même patrimoine génétique quel que soit leur cytoplasme, soit des générations de rétrocroisement (Gressel & Ben-Sinai, 1985). En culture pure au champ, les rendements des VTH étaient réduits de 22 à 36% selon les variétés de colza au Canada (Beverdorsdorf *et al.*, 1988), 22% chez le millet en France (Darmency & Pernes, 1989). Ces différences pouvaient s'accroître encore plus en condition de culture mélangée des deux types (Gressel & Ben-Sinai, 1985) et selon la densité des plantes et les proportions des deux types (Reboud & Till-Bottraud, 1991), ou s'atténuer sous des conditions de faible température et de lumière réduite (Ricroch *et al.*, 1987; Hart *et al.*, 1992). La différence de vitesse de transfert des électrons dans le photosystème II a d'abord été considérée comme étant à l'origine de ces effets secondaires, mais en fait il s'agit plutôt d'une réorganisation du chloroplaste due à la mutation qui a des effets pléiotropiques (Hall *et al.*, 1996). Des modifications morphologiques apparaissent, liées à des phénomènes de compensation. En particulier, l'adaptation à de faibles éclaircissements, par exemple sous couvert, peut conduire des populations de repousses tolérantes à perdurer plus que prévu au champ, en Angleterre, sur la base des déficiences indiquées ci-dessus (Plowman *et al.*, 1999).

##### 2.3.1.3.3. La commercialisation.

Après l'enregistrement de quelques variétés de colza tolérantes aux triazines au Canada dès 1984 (Beverdorsdorf & Hume, 1984), leur usage a perduré dix ans, essentiellement dans les zones très infestées de mauvaises herbes et difficiles à désherber autrement, et en lien avec le faible prix du désherbage. Les raisons du manque d'attractivité de ces variétés étaient le rendement plus faible lié à l'échec de la sélection variétale pour compenser



la moins bonne efficacité photosynthétique, une moins bonne qualité de l'huile, une moins bonne vigueur à la levée (Hall *et al.*, 1996). En revanche, elles se sont développées en Australie jusqu'à couvrir un million d'hectares. Malgré des cultivars moins productifs de 15 à 20%, l'usage des triazines permet la destruction de la ravenelle, une brassicacée apparentée impossible à détruire avec les autres herbicides sélectifs du colza (Colton *et al.*, 1997). Leurs surfaces diminuent actuellement avec l'autorisation progressive de la mise en culture de colza tolérant au glyphosate.

#### 2.3.1.3.4. Le cas des nitriles

Très peu de cas de résistance aux nitriles, des herbicides qui perturbent la photosynthèse, ont été rapportés chez les adventices. Chez les variétés cultivées, la tolérance est conférée par un gène de nitrilase (*oxy*) issu d'une bactérie du sol, qui permet la métabolisation de l'herbicide. Du coton transgénique résistant au bromoxynil a d'abord été développé puis testé dans le sud des Etats-Unis. Les résultats ont été très variables, mais des lignées exprimant des potentiels élevés ont été sélectionnées (Stalker *et al.*, 1996). Dans le cas des pommes de terre, les meilleures des lignées transformées présentaient le même rendement que les lignées non transformées, mais avec un calibre de 15 à 30% inférieur au calibre standard. Ces différences ont été mises sur le compte de variations somaclonales lors du processus de régénération (Eberlein *et al.*, 1998). Pour le colza, des essais au champ dans plusieurs localités au Canada et sur plusieurs années n'ont pas montré de différences entre les descendants tolérants et sensibles (donc quasi-isogéniques) de deux colzas transformés croisés avec leur variété d'origine (Cuthbert *et al.*, 2001).

#### 2.3.1.4. Variétés tolérantes à l'herbicide de classe G

La résistance aux inhibiteurs de l'EPSPS (enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) chez les adventices est due à plusieurs mécanismes. Des comparaisons tolérant/sensible n'ont été réalisées que dans le cas d'une réduction de la translocation de l'herbicide, ce qui a révélé un coût reproductif (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Il serait intéressant de connaître le coût adaptatif dans le cas d'une amplification de l'ALS, comme cela est le cas chez l'amarante. Chez les cultures, la plupart des variétés commercialisées jusqu'à présent disposent du gène d'EPSPS de la souche CP4 d'un *Agrobacterium*. La diversité des cas rapportés ci-dessous pourrait donc traduire l'effet de la transgenèse (point d'insertion, régénération, interactions génétiques spécifiques) surimposée à un éventuel effet du transgène lui-même.

##### 2.3.1.4.1. Les premières données sur le soja

Les premières informations pour le soja ont montré de nombreux essais avec des pertes de rendement (Elmore *et al.*, 2001; Raymer & Grey, 2003). En comparant plusieurs variétés de parenté inconnue, un effet dépressif et une réduction des teneurs en lignine ont été enregistrés chez les variétés de soja tolérant au glyphosate sous des fortes températures (Gertz *et al.*, 1999), travaux présentés à un colloque et non confirmés dans un article. En utilisant cinq paires de descendants BC4 tolérant/sensible, des essais aux Etats-Unis sur deux ans ont montré un rendement plus faible de 5% en moyenne pour les tolérants (Elmore *et al.*, 2001). Dans une autre région, sans désherbage, c'est-à-dire en présence de la compétition par les mauvaises herbes, des pertes de rendement de 17 à 58% ont été enregistrées pour les cultivars tolérants (pas de matériel isogénique) (Shaw *et al.*, 2001). Les différences ont disparu en présence d'herbicide dans les zones irriguées, mais pas dans les autres, ce qui indique en fait une faible valeur compétitive des cultivars tolérants plutôt qu'un faible potentiel.

##### 2.3.1.4.2. La controverse sur la méthodologie de l'évaluation

La diversité des résultats a entraîné une polémique sur la manière de mener ces tests particuliers de comparaisons variétales, qui sont alors passés de conditions de désherbage "standard" à des conditions particulières : les tolérants glyphosate doivent être désherbés à l'aide d'une formulation glyphosate, les autres par un programme conventionnel (Raymer & Grey, 2003). Face au "technology drag" (ou boulet technologique), qui est une perte de potentiel liée à l'innovation elle-même, s'est développé le concept de "technology lag" (ou décalage technologique) qui recouvre le trouble transitoire dû à l'introduction d'une innovation dans un génome pas adapté à le recevoir. Les différences de rendements se sont par la suite atténuées du fait des efforts de sélection, avec notamment un choix plus grand de cultivars tolérants (Manning *et al.*, 2003). Ces rendements ont même pu être 4 à 8% supérieurs à ceux des cultivars non transgéniques (Beckie *et al.*, 2006; Owen *et al.*, 2010). Suite à l'adoption massive des VTH par les fermiers américains, favorisée par une offre variétale de plus en plus

diversifiée, les travaux ultérieurs n'abordent plus cette question ou ne trouvent plus de différences dans du matériel isogénique (Zobiolo *et al.*, 2010b). En revanche, ils s'attachent plutôt à montrer qu'il existe des différences de qualité de la récolte (Zobiolo *et al.*, 2010b), mais que ces différences sont moins fortes que des effets régionaux et qu'elles ne dépassent pas le domaine de variation connu pour l'espèce (Berman *et al.*, 2010).

#### 2.3.1.4.3. Les données sur d'autres plantes de grande culture

Chez le maïs, à côté du gène CP4 (type NK603), il existe aussi une EPSPS d'origine du maïs (type GA21). Peu de comparaisons de matériel isogénique ont été rendues publiques et le sujet n'a pas fait l'objet d'une controverse comme pour le soja. Les résultats parfois similaires (Beckie *et al.*, 2006) et parfois différents de cultivars tolérants au glyphosate par rapport à d'autres, conventionnels ou tolérants à d'autres herbicides, ont été attribués à des interactions génotype/environnement (Nolte & Young, 2002; Thelen & Penner, 2007). En particulier, l'utilisation du glyphosate sur des cultivars tolérants a permis de meilleurs rendements dans des conditions défavorables, en évitant des effets phytotoxiques que d'autres herbicides ont infligés aux cultivars conventionnels (Thelen & Penner, 2007). Avec la génération de maïs renfermant plusieurs transgènes, les comparaisons sont devenues compliquées et le transgène d'EPSPS non tenu comme responsable des différences observées (Cox *et al.*, 2009).

Dans le cas du coton, c'est aussi l'utilisation du glyphosate qui a posé problème, avec une réduction du taux de nouaison précoce dû à un effet sur la production de pollen entraînant un retard de maturité, (Jones & Snipes, 1999; Pline *et al.*, 2002), sans toutefois d'effet sur le rendement (Bauer *et al.*, 2006). Le jeu de la sélection et du fonds génétique a de nouveau été souligné, ce qui prive de toute généralisation (Jost *et al.*, 2008).

Dans le cas du colza, le matériel tolérant est moins productif que son homologue isogénique conventionnel en condition de compétition avec les adventices (Stanton *et al.*, 2010). Au Canada, on trouve essentiellement des résultats de comparaison avec les autres types de cultivars tolérants aux herbicides, imidazolinone et glufosinate, dans les différents systèmes de désherbage (Harker *et al.*, 2000; Senior & Bavage, 2003; Stringam *et al.*, 2003; Simard *et al.*, 2005; O'Donovan *et al.*, 2006). Si les premiers résultats montraient des variétés tolérantes légèrement moins productives, l'effort de sélection ciblé sur ces variétés (il n'existe plus de variété conventionnelle non tolérante à un herbicide au Canada) a rapidement conduit à des résultats supérieurs avec l'apparition de nouveaux cultivars tolérants à l'herbicide associé. La qualité des récoltes peut montrer des différences plus marquées dans les cultures au champ que dans les essais variétaux, les tolérants montrant plus d'acides gras insaturés (Daun, 2004).

#### 2.3.1.5. Variétés tolérantes à l'herbicide de classe H

La tolérance aux inhibiteurs de la glutamine synthétase (phosphinotricine, ou glufosinate) n'a été obtenue que par transformation avec le gène *pat* (ou *bar*) qui code une acétyl-transférase qui convertit l'herbicide en un dérivé inactif. Les premières comparaisons ont concerné trois variétés de pomme de terre et leurs transformants respectifs, et n'ont pas montré de différence de rendement au champ en Belgique (Greef *et al.*, 1989). Les études qui ont porté sur le lin au champ au Canada n'ont pas fait apparaître de différence significative de rendement (McHughen & Holm, 1995). De même pour le riz, dont les composantes du rendement n'ont pas été modifiées par la présence du gène *bar* (Jiang & Xiao, 2010), ni sa qualité nutritive (Oberdoerfer *et al.*, 2005). Les premiers travaux qui ont porté sur le colza ont concerné une démarche indirecte où des semences ont été implantées dans différents milieux en Grande Bretagne, mais ces milieux étaient particulièrement impropres à la culture et les résultats ont été très variables : en général, on peut dire que la survie et la reproduction des colzas transgéniques n'ont pas été plus affectées que celles des colzas témoins (Crawley *et al.*, 1993). En revanche, la survie des semences enfouies a été plus faible (Hails *et al.*, 1997). Des comparaisons par paire de lignées transformée/non transformée au champ au Canada ont ensuite montré qu'un tiers des transformants avaient les mêmes caractéristiques que leur contrepartie sensible, mais plusieurs montraient des rendements de 20 à 30% inférieurs et des contenus en huile et en protéines modifiés (Kumar *et al.*, 1998). Ceci montre l'intérêt de disposer d'un grand nombre d'événements de transformation afin de sélectionner les meilleurs.

#### 2.3.1.6. Variétés tolérantes aux herbicides de classe O

Les espèces tolérantes à ces herbicides montrent toutes des effets morphologiques et physiologiques évidents. Cependant, aucun effet sur la production de semences n'a été constaté chez *Arabidopsis* pour la mutation Gly-

459-Asp du gène du transporteur AUX1 qui donne la résistance aux dérivés auxiniques. D'autres mutations sur le gène de récepteur auxinique AXR (Cys-154-Tyr et Pro-87-Ser) ont au contraire des coûts très importants, respectivement 78 et 89%, et n'ont été obtenus qu'en mutagenèse (Roux *et al.*, 2004). On peut noter que, même importants, ces coûts peuvent être modulés par le fonds génétique dans lequel le gène de résistance s'exprime (Paris *et al.*, 2008), ce que les sélectionneurs explorent systématiquement, mais empiriquement, pour valoriser les nouveaux gènes. Avec la découverte du gène *ifdA* chez une bactérie du sol, *Alcaligenes eutrophus*, du coton transgénique tolérant au 2,4-D, par dégradation du produit, a été développé mais n'a pas atteint le stade commercial (Charles *et al.*, 2007). D'autres enzymes bactériennes, les aryloxyalkanoate dioxygénases (AADs) ont été découvertes depuis. Elles métabolisent ces herbicides. Transférées au maïs et au soja (Wright *et al.*, 2010), elles peuvent même conférer la tolérance à une autre famille d'herbicides, les aryloxyphénoxypropionates, et sont revendiquées comme n'entraînant pas de perte de rendement. Les AADs vont être incluses dans la nouvelle génération de plantes transgéniques tolérantes à un herbicide.

### 2.3.1.7. Variétés tolérantes aux herbicides d'autres classes

Deux graminées adventices sont devenues résistantes à des herbicides de la famille des dinitroanilines, inhibiteurs de la division cellulaire (classe K1). Elles ont servi de ressource génétique à l'origine de l'obtention d'un gène de résistance, dans un cas transféré au maïs par génie génétique, et dans l'autre par croisement sexué au millet (Darmency *et al.*, 2011). Des tentatives d'amélioration conventionnelle du maïs pour la résistance aux dinitroanilines n'ont pas été très fructueuses. Aucune étude comparative au champ n'est documentée pour le maïs. Dans le cas du millet, des descendants de croisement en F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub> avec la mutation Thr-239-Ileu du gène de l' $\alpha$ 2-tubulin ont montré des différences de croissance dès la levée, des plantes plus petites et des grains moins remplis, conduisant à une réduction de 20% du rendement par rapport aux descendants sans mutation (Darmency *et al.*, 2011). Le coût de la résistance peut être directement lié à la modification de la vitesse de polymérisation des tubulines, qui confère la résistance mais altère aussi la cinétique de la division cellulaire. S'agissant d'une mutation récessive, son utilisation par les sélectionneurs est possible pour maintenir ou sélectionner des lignées, puisque le gène mutant sera éliminé *in fine*, mais aucune commercialisation n'a été entreprise (Yemets & Blume, 2007).

## 2.3.2. Impacts sur la production

### 2.3.2.1. Les rendements

On a vu ci-dessus que les performances dépendaient beaucoup de la mutation ou de l'événement d'insertion du transgène, que les comparaisons de matériel isogénique n'étaient pas souvent disponibles et que la contestation du système ancien d'évaluation comparative des variétés dans des conditions standards avait abouti à comparer les variétés cultivées chacune avec sa propre solution de désherbage, préconisée par l'obtenteur. Les comparaisons de la fin des années 90 ne montrent alors plus de pénalité de rendement par rapport aux références conventionnelles chez les variétés tolérantes au glyphosate, au glufosinate et au bromoxynil, voire même parfois des rendements supérieurs, aussi bien dans le cas du soja que du maïs ou du colza (Shaw *et al.*, 2001; Nolte & Young, 2002; Stringam *et al.*, 2003). Plus récemment, c'est la globalité du système de désherbage dans la rotation qui est comparée et plus uniquement les performances des différentes variétés (Cathcart *et al.*, 2006; O'Donovan *et al.*, 2006; Jost *et al.*, 2008). Ceci permet d'éclairer le choix du "kit" variété + programme de désherbage proposé à l'agriculteur.

#### 2.3.2.1.1. Les comparaisons disponibles

La résolution des problèmes de désherbage devrait logiquement conduire à un meilleur rendement des variétés tolérantes (ou un rendement plus constant), mais les comparaisons ne montrent pas toujours un meilleur désherbage ou un meilleur rendement avec les systèmes comprenant des VTH (Burke *et al.*, 2008; Owen *et al.*, 2010). L'idée d'un rendement supérieur est véhiculée comme élément commercial par des synthèses financées par l'industrie (par exemple, CropLife International) (Carpenter, 2010), mais l'analyse de détail montre que l'impact positif sur le rendement trouve le plus souvent d'autres explications. Ainsi, l'examen des sources des résultats rapportés dans cette synthèse de Carpenter montre que les plus forts gains de rendement (85%) sont dus à une comparaison avec un témoin non désherbé (Gouse *et al.*, 2009), ou bien à des petites différences qui

sont en fait non significatives (Lin *et al.*, 2001; Fernandez-Cornejo & McBride, 2002; Wossink & Denaux, 2006). Par ailleurs, des auteurs émettent des réserves sur leurs résultats bruts du fait de biais dus au niveau technologique des fermes ayant adopté les VTH par rapport aux autres fermes (Fernandez-Cornejo & McBride, 2002; Hategekimana, 2002). D'autres compilations de données montrent un gain de 11% jusqu'en 2003 pour le colza au Canada (il faut remarquer qu'à partir de 2004, il n'y a plus de colza conventionnel cultivé au Canada, donc plus de référence !), mais pas de différence pour le soja sur la période 2000-2007 (Brookes & Barfoot, 2010). En conclusion, lorsque le système de désherbage est satisfaisant, il n'y a pas d'évidence d'une réduction du rendement par l'introduction d'une variété TH mais pas non plus d'un gain systématique avec ces mêmes variétés tolérantes.

#### 2.3.2.1.2. Le cas du désherbage des plantes parasites chez le tournesol

L'orobanche (*Orobanche cumana*) est un parasite obligatoire et spécifique du tournesol. Elle constitue un problème agronomique important, voire majeur, pour la culture du tournesol car elle est notamment présente sur tout le pourtour de la Méditerranée et plus particulièrement en Espagne, Turquie et Israël (Parker, 2009). Elle est particulièrement difficile à contrôler en production agricole en raison de la facilité de dispersion de ses minuscules graines très longévives et de son développement souterrain (Goldwasser & Kleifeld, 2004). De nombreuses stratégies ont été mises en œuvre pour tenter de contrôler son expansion sans pour autant que l'on puisse bien mesurer leurs efficacités (Goldwasser & Kleifeld, 2004). Entre autres, les sélectionneurs ont identifié des sources de résistance génétique (Lu *et al.*, 1999), mais le développement rapide de nouvelles races de parasite contournent son efficacité (Goldwasser & Kleifeld, 2004; Fernandez-Escobar *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'usage de désherbants efficaces se heurte à des effets phytotoxiques sur le tournesol (Garcia Torres *et al.*, 1995). L'introduction des tournesols tolérants aux imidazolinones (Tan *et al.* 2005 ; Gressel, 2009 ; Kurokelli *et al.*, 2007 ; Demirci & Kaya, 2009) a permis de développer des stratégies nouvelles de lutte. Une analyse des rendements observés chez un grand nombre de producteurs en Turquie (Demirci & Kaya, 2009) montre bien la supériorité du rendement des tournesols tolérants aux imidazolinones traités par l'herbicide correspondant, en condition de forte infestation d'orobanche. La comparaison est effectuée par rapport aux tournesols génétiquement résistants aux orobanches et non traités (diminution du rendement de l'ordre de 11%), et par rapport aux tournesols non traités et non génétiquement résistants (réduction du rendement de l'ordre de 35%). Ce travail montre notamment qu'en cas de faible infestation des sols par les orobanches, l'usage de variétés génétiquement résistantes aux orobanches suffit comme moyen de lutte et constitue donc une solution.

#### 2.3.2.2. La fiabilité du système de tolérance

De la même manière que pour les herbicides sélectifs utilisés sur les variétés conventionnelles, on peut s'attendre à observer des variations d'efficacité de la protection contre la toxicité de l'herbicide chez les variétés tolérantes. Cela concerne surtout les mécanismes de métabolisation de l'herbicide et de détoxification de métabolites toxiques car ils mettent en œuvre des processus enzymatiques qui dépendent des conditions climatiques, mais cela peut aussi être observé avec un gène de cible résistante (Pline *et al.*, 1999). Certains travaux montrent qu'on frôle parfois la toxicité sur la culture, en particulier avec un effet du glyphosate sur la photosynthèse du soja tolérant (Zobiolo *et al.*, 2010a), ou dans des conditions de stress hydrique (King *et al.*, 2001).

La "structure génétique" de la variété tolérante peut aussi exercer une influence sur la fiabilité du système. Ainsi, l'application de tribénuron-méthyle à double dose sur des variétés tolérantes de tournesol, hétérozygotes, induit une perte de rendement par rapport au témoin non traité. L'application de tribénuron-méthyle à double dose sur quatre variétés homozygotes, n'entraîne, elle, aucune diminution du rendement (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009b). Par ailleurs, des phénomènes de co-suppression (*gene silencing*) chez des plantes transgéniques parfaitement résistantes en serre mais sensibles au champ ont été rapportés (Brandle *et al.*, 1995). Pour éviter ces phénomènes, des auteurs préconisent de vérifier qu'une seule copie du transgène a été insérée et qu'elle s'est intégrée à un locus présélectionné, et qu'une phase de sélection des lignées candidates a été réalisée dans un large éventail de conditions de culture (Dietz-Pfeilstetter, 2010). En particulier, le contrôle épigénétique des séquences homologues (promoteurs, etc.) chez des plantes portant plusieurs transgènes (*gene stacking*) pourrait conduire à des réponses imprévues au champ. Dans le cas du colza, l'infection des plantes par le virus de la mosaïque du chou peut conduire à l'inactivation de la réplication du virus par *gene silencing*, ce qui a aussi pour conséquence le *silencing* du promoteur du transgène qui est une séquence homologue du virus, et conduit donc à la perte de la résistance au champ (Al-Kaff *et al.*, 2000).

### 2.3.2.3. Les effets secondaires

Des effets secondaires de l'herbicide rendu utilisable par l'existence de VTH ont été rapportés sur les microorganismes pathogènes et symbiotiques. Par exemple, l'usage du glyphosate sur du soja tolérant a initialement été rendu responsable d'une augmentation de la maladie de la mort subite due à *Fusarium solani*, mais en fait il s'agissait de différences variétales sans relation ni avec la résistance ni avec la pulvérisation du glyphosate (Sanogo *et al.*, 2001; Njiti *et al.*, 2003). De même, des lignées isogéniques tolérante et sensible au glyphosate n'ont pas montré de réponse différente à l'infection par *Sclerotinia sclerotinium*, et c'est seulement un agent de formulation de l'une des préparations commerciales de glyphosate qui montrait une activité sur les feuilles (Lee *et al.*, 2000).

Les herbicides peuvent cependant avoir des cibles secondaires, se révéler actifs contre des champignons pathogènes, et donc participer à la qualité sanitaire des cultures TH : le cas du glufosinate n'est pas surprenant puisqu'il est dérivé d'un antibiotique (Ahmad *et al.*, 1995; Tada *et al.*, 1996), mais cela peut avoir lieu aussi avec le glyphosate (Feng *et al.*, 2008). Des modifications de la rhizosphère associée sont aussi observées avec l'utilisation du glyphosate (Kremer & Means, 2009 (voir également la section traitant de l'effet des herbicides sur les populations microbiennes, au Chapitre 3). Dans une expérience (données n'ayant pas fait l'objet d'un article détaillé), le rendement des variétés de soja tolérantes au glyphosate, non traitées, a été plus réduit par les nématodes (*Heterodera glycines*) que celui de variétés traditionnelles (Giesler *et al.*, 2002). Le traitement peut induire, selon les années, des différences de développement des nématodes (Noel & Wax, 2009). En revanche, la culture seule (sans l'herbicide) de maïs (Schmalenberger & Tebbe, 2002), de betterave (Schmalenberger & Tebbe, 2003) et de riz (Kim *et al.*, 2008) tolérants au glufosinate n'a pas entraîné de différence dans les communautés bactériennes du sol.

### 2.3.4. Bilan

Au plan génétique, l'effet de l'insertion du transgène ou de l'introgression de la mutation déterminant la tolérance ne présente pas de caractéristique particulière dans le sens où le cas des VTH ne diffère pas sensiblement du cas d'autres fonctions ou mutations introgressées. Le "risque" associé à l'introgression de séquences non souhaitées reste en effet limité ; il s'agit de plus d'une caractéristique générale de tout processus d'obtention. Dans le cas de l'insertion d'un transgène, le cas des VTH ne fait pas exception à la règle générale. La position de l'insert T-DNA peut être déterminée avec précision lorsque la séquence génomique du végétal amélioré est connue par des techniques simples de biologie moléculaire, telle que la PCR inverse. Les gènes marqueurs de transformation, comme la résistance à certains antibiotiques, peuvent également être excisés par l'emploi du système Cre-*lox* décrit plus haut. Par ailleurs, bien que ceci ne soit pas une règle générale, certaines VTH ont été obtenues en utilisant le gène de tolérance comme gène marqueur de transformation, avec succès. Dans ce cas, la question de l'excision du gène marqueur ne se pose pas.

Au plan physiologique (métabolisme et effets du métabolisme sur le rendement et la qualité des produits de récolte), les effets pléiotropiques des gènes de résistance n'ont pas toujours été bien étudiés et isolés des autres sources de variation. De plus, certaines de ces comparaisons des variétés TH avec leurs homologues non-TH n'ont pas été effectuées sur du matériel complètement isogénique. Cependant, la nature même des cibles des herbicides (enzymes clés du métabolisme) laisse supposer qu'une modification de cible la rendant insensible pourrait s'accompagner d'une modification de l'activité de l'enzyme, et donc d'un "coût" métabolique. En accord avec cette supposition, un effet pénalisant de la tolérance à l'atrazine chez le colza Triton a été rapidement rapporté (rendements réduits de 22 à 36% au Canada selon les variétés, 22% chez le millet en France). La différence de vitesse de transfert des électrons dans le photosystème a d'abord été considérée comme étant à l'origine d'effets secondaires multiples, mais il s'agirait plutôt d'une réorganisation du chloroplaste liée à la mutation, qui présente des effets pléiotropiques et conduit aussi à une moins bonne qualité de l'huile.

Le Tableau 2-6. propose un résumé des effets rapportés du trait de tolérance aux herbicides, sur la qualité et le rendement de la production végétale.

**Tableau 2-6. Récapitulatif : effets du trait TH sur la qualité et le rendement de la production végétale**

| Espèce végétale | Tolérance à (classe)     | Effets observés   |
|-----------------|--------------------------|---|
| Blé             | Imidazolinones (B)       | Pas d'effet sur le rendement  |
| Chicorée        | Imidazolinones (B)       | Pas d'effet sur le rendement  |
| Colza           | Imidazolinones (B)       | Rendement au moins égal à celui de variétés non TH  |
|                 | Sulfonyl-urées (B)       | Selon les études, pas d'effet ou baisse de 18% du rendement   |
|                 | Triazines (C1)           | Baisse de rendement de 22 à 36% et huile de moins bonne qualité   |
|                 | Bromoxynil (C3)          | Pas d'effet sur le rendement  |
|                 | Glyphosate (G)           | Baisse de rendement de 5 à 58% dans certains essais, augmentation de rendement de 4 à 8% selon d'autres, selon le mode de comparaison. Réduction de la teneur en lignine sous fortes températures |
|                 | Glufosinate (H)          | Pas d'effet sur le rendement ou baisse de 30% selon les localisations. Survie des semences enfouies plus faible   |
| Coton           | Imidazolinones (B)       | Rendement supérieur de 10% et effet sur la solidité de la fibre   |
|                 | Bromoxynil (C3)          | Effets variables  |
|                 | Glyphosate (G)           | Pas d'effet sur le rendement. Réduction du taux de nouaison   |
| Lin             | Sulfonyl-urées (B)       | Pas d'effet sur le rendement  |
|                 | Glufosinate (H)          | Pas d'effet sur le rendement  |
| Maïs            | Plusieurs herbicides (A) | Pas d'effet sur le rendement. Semences plus nombreuses mais moins lourdes   |
|                 | Sulfonyl-urées (B)       | Pas d'effet sur le rendement  |
|                 | Glyphosate (G)           | Pas d'effet sur le rendement, voire une augmentation en conditions difficiles   |
|                 | Aryloxyalkanoates (Z)    | Pas d'effet sur le rendement  |
| Millet          | Plusieurs herbicides (A) | Pas d'effet global sur le rendement. Semences plus nombreuses mais moins lourdes  |
|                 | Triazines (C1)           | Baisse de rendement de 22%  |
|                 | Dinitroanilines (K1)     | Baisse de rendement de 20% en voie d'amélioration   |
| Pomme de terre  | Bromoxynil (C3)          | Pas d'effet sur le rendement. Calibre des tubercules plus petit   |
|                 | Glufosinate (H)          | Pas d'effet sur le rendement  |
| Riz             | Imidazolinones (B)       | Rendement inférieur de 5 à 11%, en voie d'amélioration  |
|                 | Glufosinate (H)          | Pas d'effet sur le rendement  |
| Soja            | Aryloxyalkanoates (Z)    | Pas d'effet sur le rendement  |
| Tournesol       | Imidazolinones (B)       | Pas d'effet sur le rendement. Feuilles plus grandes, et compétitivité limitée en peuplements mixtes   |

Dans le cas des variétés tolérantes aux sulfonyl-urées et imidazolinones, les études comparatives entre variétés TH et non TH n'ont globalement pas montré de différence de rendement. Ainsi, seuls une production supérieure de 10% (cas du coton tolérant aux imidazolinones) ou au contraire des rendements inférieurs de 5 à 11% (riz Clearfield®) ont été rapportés. Des efforts de sélection ultérieurs ont par ailleurs permis de combler les différences. En revanche, la mutation la plus utilisée pour transférer la tolérance aux sulfonyl-urées par génie génétique (Pro-197-His) entraîne une baisse de production de semences de 26% chez *Arabidopsis* et de 6 à 14% chez le colza. On retrouve cette pénalité chez le colza porteur de cette mutation. Cet impact limité des mutations sur le rendement et la qualité des produits de récolte doit être mis en regard du mode d'action de ces herbicides, qui ne ciblent pas le site actif de l'enzyme mais préviennent la fixation du substrat (voir section 2.1.1.2 et Figure 2-1). Les mutations associées, rendant l'enzyme insensible, n'affectent pas pour la plupart le site actif, et donc l'activité de l'enzyme.

Les variétés transgéniques RoundUp® Ready, tolérantes au glyphosate, ont fait l'objet de comparaisons avec des variétés non-TH. Les observations rapportent une grande diversité de résultats concernant notamment le

rendement de ces variétés, et suggèrent que cette apparente "diversité des cas" pourrait résulter de l'effet indirect de la transgénèse *via* des mutations somatiques lors de la régénération des cultures cellulaires, ou des interactions géniques spécifiques, plutôt qu'un éventuel effet du transgène lui-même. Globalement, les comparaisons de matériel isogénique TH et non-TH, ou de nombreuses variétés des deux types permettant de dégager des effets indépendants du patrimoine génétique des variétés, ont montré des baisses de rendement, estimées pour certaines autour de 5%, voire plus dans des situations de forte compétition avec des adventices. Ces travaux ont fait l'objet d'une polémique car les obtenteurs des VTH ont fait remarquer que les variétés TH et non-TH devaient être comparées en appliquant à chacune sa propre solution de désherbage (glyphosate sur les variétés RoundUp® Ready, programme conventionnel sur les non-TH). Dans le même temps, des efforts de sélection ont été réalisés. En prenant en compte ces observations, les comparaisons utilisant des VTH de seconde génération ne montrent alors plus de pénalité de rendement par rapport aux références conventionnelles chez les variétés tolérantes au glyphosate (ainsi qu'au glufosinate), voire même parfois des rendements supérieurs de 4 à 8%. On peut cependant retourner le raisonnement en supposant que l'effort de sélection s'est arrêté pour les variétés non-TH, et donc que l'on n'a jamais été en mesure de réellement comparer les deux stratégies.

D'une façon générale, les travaux les plus récents n'abordent pas les comparaisons variétés tolérantes *versus* variétés non tolérantes "toutes choses égales par ailleurs". Il est possible que ce travers soit lié à la "pression de commercialisation", en lien avec la demande des agriculteurs pour régler la question du désherbage au moindre coût, et avec la meilleure efficacité. D'ailleurs, dans de nombreux cas, ce ne sont plus des caractéristiques variétales qui sont évaluées, mais des systèmes de désherbage entiers, voire des systèmes de culture (Nolte & Young, 2002; Beckie et al., 2006; Owen et al., 2010; Stanton et al., 2010).

## 2.4. Conclusions générales

Yves Dessaux

Plusieurs conclusions importantes peuvent être tirées des résultats présentés ci-dessus. Celles-ci sont présentées des plus disciplinaires au plus interdisciplinaires.

### Sur l'action des herbicides et les mécanismes de résistance

Comme on l'a vu au paragraphe 2.1., les herbicides sont pour la plupart des inhibiteurs d'activités enzymatiques. Ceci n'est pas particulièrement surprenant. D'autres biocides présentent cette caractéristique (ex. antibiotiques des classes des bêta-lactames ou des sulfamides, insecticides carbamates, organophosphorés ou benzoyl-urées, etc.). Ce constat fait que l'on peut imaginer pouvoir développer de nouveaux herbicides à partir d'études académiques visant l'analyse fine d'activités enzymatiques et l'identification d'inhibiteurs de ces activités. Une des conditions limitant ce développement est que ces inhibiteurs devront présenter une spécificité forte vis-à-vis d'enzyme(s) végétale(s) et ne pas ou très peu interférer avec les activités présentes dans les autres organismes vivants, animaux ou microbiens.

L'analogie entre herbicides, antibiotiques et insecticides ne se limite pas aux observations ci-dessus. En effet, les mécanismes conduisant à la résistance à ces molécules sont similaires. Le Tableau 2-7 présente ces mécanismes, l'occurrence de l'apparition de résistances spontanées, et leur utilisation dans la production de VTH.

**Tableau 2-7.** Mécanismes de résistance spontanée et mécanismes de résistance utilisée en amélioration variétale pour l'obtention de VTH

| Mécanismes de résistance         | Résistance spontanée              | Utilisation pour la production de VTH   | Exemple de VTH cultivées produites                          |
|----------------------------------|-----------------------------------|---|---|
| Détoxication                     | Oui (possible par métabolisation) | Oui (OGM essentiellement)               | Colza Westar-Oxy-235, Variétés LibertyLink®                 |
| Amplification de la cible        | Oui (fréquemment)                 | Non (exceptionnellement*)               | -   |
| Insensibilisation de la cible    | Oui (fréquemment)                 | Oui (OGM ou mise à profit de mutations) | Colza Triton, variétés Clearfield®, variétés Roundup Ready® |
| Modification de la translocation | Oui                               | Non                                     | -   |

\* un seul cas de VTH obtenue par amplification de séquences génétiques est connu (Harms et al., 1992). Cependant de nombreuses constructions moléculaires utilisées actuellement en ingénierie génétique et qui sont aujourd'hui utilisées en plein champ impliquent le promoteur CaMV35S, réputé permettre une production notable de la protéine déterminée par le gène dont il permet l'expression.

L'examen de la littérature a fait ressortir l'existence de classes d'herbicides pour lesquelles de nombreuses espèces adventices résistantes et/ou de nombreuses mutations conférant la résistance ont été répertoriées. C'est le cas des imidazolinones et des sulfonyle-urées (classe B), ou des cyclohexanediones (classe A), par exemple. A l'inverse, peu d'adventices résistantes au glufosinate ont été décrites. En accord avec cela, l'obtention de variétés d'intérêt agronomique, tolérantes aux herbicides des classes A et B a pu découler de l'introgession de mutations issues de populations férales ou d'espèces végétales mutantes résistantes. Cependant, de telles mutations, qui apparaissent et se maintiennent "facilement", en particulier dans les populations férales ou les adventices, questionnent la durabilité des stratégies de désherbage reposant sur le recours au couple VTH et herbicide. En effet, idéalement, l'usage d'un herbicide ne devrait pas conduire à la sélection d'adventices résistantes, ou seulement à celle de lignées résistantes chez lesquelles les coûts métaboliques seraient tels que ces mutants présenteraient une *fitness* très limitée hors pression sélective.



## Sur les modes d'obtention des VTH et leurs qualités agronomiques

L'examen des données bibliographiques, et les conclusions ci-dessus, démontrent que de nombreuses VTH ont pu être obtenues par des technologies éprouvées. Celles-ci incluent l'introgression de mutations spontanées ou induites, ainsi que l'ingénierie génétique. Chacune de ces techniques présente des caractéristiques spécifiques. Ainsi, l'introgression de mutations spontanées, apparues dans des repousses ou des populations férales de l'espèce cultivée, ou dans des espèces voisines, permet de mettre à profit la variabilité naturelle du taxon auquel appartient l'espèce cultivée. Cette technique a été utilisée depuis des décennies par les améliorateurs de la plupart des espèces cultivées aujourd'hui. Elle présente donc, *a priori*, un historique d'utilisation réel.

L'introgression de mutations induites ne diffère pas dans son principe de l'introgression de mutations spontanées. La différence entre les deux techniques se situe en amont, au niveau des fréquences de mutation, la mutagenèse permettant simplement "d'accélérer" le processus qui conduit à l'obtention d'une mutation d'intérêt agronomique. A cet égard, les mécanismes moléculaires responsables de l'apparition de mutations spontanées sont les mêmes que ceux qui sont stimulés lors de la mutagenèse. Sans préjuger des conclusions de ce rapport sur la controverse relative aux plantes "mutantes", le recours aux agents mutagènes chimiques ou physiques pourrait cependant être interrogé, bien qu'utilisé largement en amélioration des plantes de par le monde depuis un siècle. Cette technique présente par ailleurs deux caractéristiques supplémentaires importantes. Tout d'abord, elle ne cible pas une région du génome particulière et permet donc l'obtention d'une diversité génétique large. La contrepartie est que la mutagenèse est susceptible d'induire des modifications génétiques non souhaitées au sein du génome de la plante traitée, mutations éventuellement délétères, d'autant plus que la mutagenèse a pour objectif d'augmenter, on l'a vu plus haut, les fréquences de mutation. Ces mutations non souhaitées sont classiquement éliminées par les rétrocroisements effectués par les améliorateurs. Néanmoins, les mécanismes de la recombinaison génétique font que ces rétrocroisements n'ont qu'une faible probabilité d'éliminer les mutations génétiquement très liées à la position de la mutation d'intérêt agronomique. L'examen de la littérature n'a pas permis de mettre en évidence une telle situation, même si celle-ci est suspectée dans le cas du millet tolérant aux inhibiteurs de l'ACCCase, où la présence d'un gène "avantageux" génétiquement lié au gène mutant est suspectée. D'une façon générale, une telle situation sera, si elle se produit, très probablement mise en évidence lors des multiples essais au champ, comme dans le cas du millet. La seconde caractéristique de cette technique d'obtention est qu'elle peut *a priori* être appliquée à n'importe quelle espèce végétale, donc directement à des espèces de grandes cultures, permettant une introduction du trait d'intérêt agronomique plus facile que ne l'est l'introgression de mutations naturelles apparues dans une espèce apparentée.

La transformation végétale, essentiellement réalisée au moyen d'*Agrobacterium*, a permis au cours des 30 dernières années d'obtenir des lignées végétales exprimant des fonctions dont l'origine génétique transcende la barrière actuelle d'espèce. Ainsi, ont été produites des lignées TH détoxifiant l'herbicide ou exprimant une cible insensible à l'herbicide issue de microorganismes. Une caractéristique notable de cette technique est de permettre en théorie une non-dispersion par le pollen, certes non absolue, au travers de la transformation des chloroplastes, ou *via* l'utilisation du système *Cre-lox* qui permet l'excision du transgène au niveau des anthères. Cette technique pourrait être appliquée également au niveau de cellules spécifiques des tissus femelles du végétal conduisant à une descendance "non transgénique". Cette caractéristique est particulièrement importante dans le cas des VTH, où la dispersion du trait à des espèces voisines ou à des populations férales pourrait rapidement entraîner la perte de l'intérêt agronomique du trait TH. La question de la dispersion du trait est discutée en détail au Chapitre 3 du présent rapport.

Les techniques de transgenèse restent cependant limitées par le fait qu'elles impliquent des étapes de régénération qui ne sont pas maîtrisées chez toutes les espèces végétales, et qu'elles peuvent, de plus, s'accompagner de variations somaclonales. Par ailleurs, des phénomènes d'extinction de l'expression de gènes ont été rapportés lors d'infection virale, en raison de la proximité évolutive des séquences des virus infectieux et des séquences introduites dans la plante. Cette technique pâtit également du fait indiscutable que le ou les transgène(s) s'insère(nt) "au hasard" dans le génome du végétal. Cette critique forte émise à l'encontre de la transformation pourrait rapidement tomber avec l'émergence des nouvelles technologies décrites ci-dessus. Enfin, cette technique fait et continue de faire l'objet de diverses controverses en lien avec son acceptabilité sociale (Cf. Chapitre 5).

Une relation existe entre les modes d'obtention de VTH et les mécanismes de résistance qui leur confèrent ce trait TH. En effet, la plupart - pour ne pas dire la totalité - des variétés tolérant l'application d'un herbicide par détoxification sont des variétés obtenues par transgenèse en raison de l'origine microbienne du déterminant génétique conférant la capacité à détoxiquer. En revanche, les plantes exprimant une cible insensible à

l'herbicide ont été obtenues soit par ingénierie génétique, par exemple parce que la cible est d'origine microbienne, soit par des techniques exploitant des mutations, que celles-ci soient spontanées ou induites par mutagenèse.

Un grand nombre d'herbicides étant des inhibiteurs d'activités enzymatiques, se pose donc la question des conséquences de l'acquisition de la tolérance sur le rendement et la qualité des cultures, particulièrement à la suite d'une modification de la cible la rendant insensible aux herbicides, et ce indépendamment du mode d'obtention. Cette interrogation existe à la fois en l'absence et en présence de l'herbicide, l'enzyme modifiée pouvant être moins efficace au plan métabolique. D'une façon générale, quelques effets secondaires sur la qualité de la production sont observés, par exemple sur le calibre des pommes de terre, sur la résistance des fibres du coton, ou sur la teneur en lignine pour certaines VTH. Peu d'effets sur le rendement ont été rapportés, sauf sur les variétés tolérantes aux triazines, probablement en lien avec une réduction de leur activité photosynthétique. Les quelques cas de baisse de rendement observés sont en cours de compensation par les sélectionneurs, qui construisent par recombinaison des génomes receveurs moins perturbés par l'intrusion du gène de résistance ou porteurs de gènes et d'allèles de compensation.

On peut conclure de l'ensemble de ces observations que les technologies mises en œuvre jusqu'à présent pour l'obtention de VTH ont permis la production de variétés d'intérêt portant ces traits. Ces VTH présentent des caractéristiques agronomiques telles qu'elles ont pu être adoptées puis utilisées massivement par le monde agricole, particulièrement dans les cas où le désherbage est difficile. Il n'est pas sûr en revanche qu'elles apportent des avantages certains lorsque des solutions classiques de désherbage efficaces existent, ou lorsque la concurrence des adventices est faible.

### **Sur le TILLING et la recombinaison homologue, deux ruptures technologiques aux conséquences agronomiques et potentiellement réglementaires fortes**

L'identification moléculaire de mutations par "TILLING" constitue une rupture technologique importante pour plusieurs raisons. La première est que cette technique est "généraliste" ; elle peut en effet être appliquée à différentes espèces végétales, pour n'importe quel gène ou fragment de gène, du moment que la séquence nucléotidique de ce gène est connue. La seconde est qu'elle peut aussi être appliquée à des populations végétales naturelles (éco-TILLING) comme à des populations végétales issues de traitements de mutagenèse. S'agissant d'une procédure de criblage sur des populations de plantes dont on a extrait l'ADN, elle permet aussi - troisième raison de la rupture technologique évoquée plus haut - un retour rapide à la plante portant la mutation recherchée, qui peut être utilisée directement comme ressource génétique, soit dans des croisements conventionnels, soit dans des opérations de transformation végétale, après clonage des ADN complémentaires (ADNc) du gène muté. Dans le cadre des VTH, l'intérêt de cette technique est qu'elle permet d'identifier de multiples formes alléliques d'un gène d'intérêt dans une ressource génétique vaste. Cette identification est en théorie indépendante de la façon dont les mutations se sont produites (mutations spontanées ou apparues suite à des traitements mutagènes).

La deuxième rupture technologique provient de l'émergence de techniques reposant sur l'utilisation de méganucléases ou d'oligonucléotides ADN/ARN, permettant la recombinaison homologue de séquences d'ADN dans un génome végétal. Ces méthodologies autorisent le remplacement d'un allèle du gène par un autre allèle, de façon exacte. La recombinaison basée sur l'usage de méganucléases a d'ores et déjà été appliquée, pour le moment seulement en laboratoire, à l'obtention de plantes tolérantes à des herbicides, en l'occurrence le chlorsulfuron, l'imazaquin et le glufosinate (Townsend *et al.*, 2009 ; Shukla *et al.*, 2009). Cette liste va sans nul doute s'allonger au cours des années à venir. De même, la recombinaison homologue fondée sur l'usage d'oligonucléotides a également permis l'obtention de plantes de tabac et de maïs tolérants à des herbicides de la classe B (Zhu *et al.*, 2000). Bien que ces techniques impliquent une étape de transformation *via Agrobacterium* (méganucléases) ou de transfert d'ADN par biolistique, elles conduisent à l'obtention de plantes dans lesquelles toute signature moléculaire de transformation est *a priori* invisible, sauf à pouvoir mesurer le degré de méthylation de la séquence introduite très rapidement après transformation, puisque ce signal n'est pas fortement rémanent. En particulier, et principalement dans le cas des tolérances aux herbicides, il n'y aura plus besoin de faire intervenir de marqueurs de sélection ou d'exprimer un quelconque transgène sous l'effet d'un promoteur hétérologue. Les lignées ainsi obtenues ressembleront donc à des lignées issues de croisement et de sélection classique introduisant une mutation pouvant être identifiée dans la variabilité naturelle de l'espèce d'application. Ceci pose clairement le problème de l'application de la réglementation actuelle, puisqu'il sera impossible de vérifier le statut OGM de telles variétés sur la base des éléments factuels pouvant être tracés. Sur

la base de ce constat (« *organisms developed through oligo-nucleotide mediated mutagenesis could in many cases not be distinguished at the molecular level from those developed through "traditional" mutation techniques [...] or from wild-type organisms* »), des auteurs ont d'ores et déjà proposé que les variétés issues de recombinaison homologue ne soient pas considérées comme des OGM au sens de la directive 2001/18/EC (Breyer et al., 2009). Un argument complémentaire est qu'il s'agit là avant tout d'une technique de mutagenèse, et que les variétés issues de mutagenèse échappent au champ d'application de la directive sus mentionnée. Lusser et al. (2011) indiquent d'ailleurs qu'une réflexion est en cours depuis peu au niveau européen en regard de la dénomination des variétés qui proviendront de l'usage de ces nouvelles technologies, et posent également la question de la protection de l'obtention et du coût des procédures de certification, élevé lorsqu'il s'agit de variétés GM, et moindre lorsqu'il s'agit de variétés non GM.

La limite d'utilisation de la technique de recombinaison reste néanmoins la nécessité de régénérer les plantes à partir d'événements de transformation, ce qui n'est pas, on l'a vu, possible pour toutes les variétés végétales. Par ailleurs, cette technique comme les techniques "conventionnelles" d'ailleurs (introgression de mutations spontanées ou induites, transgenèse), reste une technique d'obtention qui ne permet pas de s'affranchir de questionnements relatifs à l'accumulation de résidus d'herbicides dans les végétaux traités, pour laquelle il existe à l'évidence un manque de données dans la littérature scientifique, et une difficulté d'accès à la littérature grise. Ces techniques ne permettent pas non plus de s'affranchir des questionnements relatifs à la dispersion du trait de tolérance à des populations férales ou à des espèces voisines sexuellement compatibles et présentes dans les zones de culture, ou de façon plus générale à ceux traitant des impacts écotoxicologiques des herbicides. Enfin, si l'on considère le délai existant entre l'obtention de nouvelles variétés au laboratoire et leur mise sur le marché, on peut estimer en première approximation qu'il resterait entre 4 et 10 ans aux VTH qui serait issues de TILLING ou de recombinaison en laboratoire à la date d'aujourd'hui, pour aboutir en tant qu'innovation "industrielle" et pour que ce type de matériel accède éventuellement au marché. Ce laps de temps peut paraître long ; il est en revanche court par rapport au temps nécessaire aux instances européennes pour consulter, évaluer et décider de la réglementation à appliquer à ces innovations variétales.

Comme indiqué dans l'introduction de ce chapitre, l'objectif était de répondre en particulier aux deux questions suivantes : quelles sont les techniques d'obtention de variétés tolérantes aux herbicides actuellement utilisées, et quels sont les mécanismes biochimiques et modes d'action associés à cette tolérance. Il semble que ces objectifs ont été atteints en particulier au travers de la présentation des méthodologies émergentes susceptibles d'affecter dans les années à venir les processus d'obtention, et peut-être la réglementation associée. Ce chapitre a également permis de répondre à une troisième question, relative à l'induction de variations génétiques et phénotypiques non ciblées en lien avec les processus d'obtention des nouvelles variétés tolérantes, en présentant tout à la fois des données académiques mais également des données agronomiques, par exemple en termes de qualité des plantes et de leurs productions et de rendement des productions végétales issues de variétés tolérantes aux herbicides.

## Références bibliographiques citées

### Section 2.1. Mécanismes d'action des herbicides et mécanismes de la résistance

- Almquist K.C., Niu Y., McLean M.D., Mena F.L., Yau K.Y.F., Brown K., Brandle J.E., Hall J.C. (2004). Immunomodulation confers herbicide resistance in plants. *Plant Biotechnology Journal* 2:189-197.
- Amrhein N., Schab J., Steinrücken H.C. (1980). The mode of action of the herbicide glyphosate. *Naturwissenschaften* 67:356-357.
- Anderson, M. P. and J. W. Gronwald. 1991. Atrazine resistance in a velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S-transferase activity. *Plant Physiol.* 96:104-109.
- Baerson S.R., Rodrigues D.J., Biest N.A., Tran M., You J., Kreuger R.W., Dill G.M., Pratley J.E., Gruys K.J. (2002) Investigating the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* 50:721-730.
- Barrentine W.L., Hartwig E.E., Edwards C.J., Kilen T.C. (1982). Tolerance of 3 soybean (*Glycine max*) cultivars to metribuzin. *Weed Science* 30(4): 344-348.
- Behrens M.R., Mutlu N., Chakraborty S., Dumitru R., Jiang W.Z., Lavalley B.J., Herman P.L., Clemente T.E., Weeks D.P. (2007). Dicamba resistance: enlarging and preserving biotechnology-based weed management strategies. *Science* 316:1185-1188.
- Boschin G., D'Agostina A., Arnoldi A., Marotta E., Zanardini E., Negri M., Valle A., Sorlini C. 2003. Biodegradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by *Aspergillus niger* in laboratory conditions. *Journal of Environmental Science and Health, Part B.* 38:737-746.
- Botterman J., Leemans J. (1989). Discovery, transfer to crops, expression and biological significance of a bialophos resistance gene. *British Crop Protection Council monograph* 42:63-67.
- Brown H.M. (1990) Mode of action, crop selectivity and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pesticide Science*, 29:263-281.
- Buckland J.L., Collins R.F., Henderson M.A., Pullin E.M. (1973). Radiochemical distribution and decline studies with bromoxynil octanoate in wheat. *Pesticide Science* 4:689-700.
- Busi R., Vila-Aiub M.M., Powles S.B. (2011) Genetic control of a cytochrome P450 metabolism-based herbicide resistance mechanism in *Lolium rigidum*. *Heredity* 106:817-824.
- Choudhry A.E., Mandichak T.L., Broskey J.P., Egolf R.W., Kinsland C., Begley T.P., Seefeld M.A., Ku T.W., Brown J.R., Zalacain M., Ratnam K. (2003) Inhibitors of pantothenate kinase: novel antibiotics for staphylococcal infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47:2051-2055.
- Comai L., Sen L.C., Stalker D.M. (1983). An altered *aroa* gene product confers resistance to the herbicide glyphosate. *Science* 221:370-371.
- Cork D.J., Krueger J.P. (1991). Microbial Transformations of Herbicides and Pesticides. *Advances in Applied Microbiology* 36:1-66.
- Darmency H. (1994). Genetics of herbicide resistance in weeds and crops. In *Herbicide resistance in plants*, (Powles S.H., J. A. M., ed.), Boca Raton: 263-297.
- De Gournay X., Koller J., Dufour J.L. (1975). Difficultés rencontrées dans la prospection de géniteurs pour la résistance à un herbicide : cas de l'atrazine et du blé d'hiver, European weed research society symposium on status and control of grassweeds in Europe, Paris: 388-398.
- Délye C. (2005). Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. *Weed Science* 53:728-746.
- Devine M.D., Shukla A. (2000). Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection* 19:881-889.
- Dinelli G., Marotti I., Catizone P., Bonetti A., Urbano J.M., Barnes J. (2008) Physiological and molecular basis of glyphosate resistance in *C. bonariensis* (L.) Cronq biotypes from Spain. *Weed Research* 48:257-265.
- Don R.H., Pemberton J.M. (1985). Genetic and physical map of the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degradative plasmid pJP4. *Journal of Bacteriology* 161: 466-468.
- Duke S.O., Powles S.B. (2009). Glyphosate-resistant crops and weeds: now and in the future. *AgBioForum* 12:346-357.
- Feng P.C.C., Tran M., Sammons R.D., Heck G.R. & Cajacop C.A. (2004) Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Coryza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. *Weed Science*, 52, 498-505.
- Frear D.S. (1976). Ioxynil and bromoxynil. In: Kearney P.J., Kaufmann D.D. (eds), *Herbicides (Vol 2.)* Marcel Dekker, New York, pp. 582-587.
- Gaines T.A., Zhang W., Wang D., Bukun B., Chisholm S.T., Shaner D.L., Nissen S.J., Patzoldt W.L., Tranel P.J., Culpepper A.S., Grey T.L., Webster T.M., Vencill W.K., Sammons R.D., Jiang J., Preston C., Leach J.E., Westra P. (2010). Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proceedings of the National. Academy of Sciences USA* 107:1029-1034.

- Gray, J.A., Balke N.E., Stoltenberg D.E. (1996). Increased glutathione conjugation of atrazine confers resistance in a Wisconsin velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 55:157–171.
- Gressel J. (2002). Molecular biochemistry of resistances that have evolved in the field. *In: Molecular Biology of Weed Control*. Taylor and Francis, London, pp. 122–218.
- Gressel, J., Regev Y., Malkin S., Kleifeld Y. (1983). Characterization of an s-triazine-resistant biotype of *Brachypodium distachyon*. *Weed Science* 31:450–456.
- Grogan C.O., Eastin G.F., Palmer R.D. (1963). inheritance of susceptibility of a line of maize to simazine and atrazine. *Crop Science* 3(5): 451-451.
- Gronwald J. W. (1994). Resistance to photosystem II inhibiting herbicides. *In: Powles S.B., Holtum J.A.M. (eds.), Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry*. Boca Raton, FL, pp. 27–60.
- Gronwald, J. W., R. N. Andersen, and C. Yee. 1989. Atrazine resistance in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) due to enhanced atrazine detoxification. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 34:149–163.
- Grossmann K. (2000). Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long, drawn out story. *Trends in Plant Science*, 5:506–508.
- Harwood, J.L. (1988). Fatty acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology* 39:101–138.
- Heap I. (2011) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com). Consulté le 31 janvier 2011.
- Hess F.D. (2000). Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Science* 48:160-170.
- Hu T., Metz S., Chay C., Zhou H.P., Biest N., Chen G., Cheng M., Feng X., Radionenko M., Lu F., Fry J. (2003). *Agrobacterium*-mediated large-scale transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.) using glyphosate selection. *Plant Cell Reports* 21:1010-1019.
- Huang X., Pan J., Liang B., Sun J., Zhao Y., Li S. (2009). Isolation, characterization of a strain capable of degrading imazethapyr and its use in degradation of the herbicide in soil. *Current Microbiology* 59:363-367.
- Kishore G.M., Brundage L., Kolk K., Padgett S.R., Rochester D., Huynh Q.K., Della-Cioppa G. (1986) Isolation, purification and characterization of a glyphosate-tolerant mutant *E. coli* EPSP synthase. *Proceedings of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 45:1506.
- Lee L.J. & Ngim J. (1999). A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science* 56:336–339.
- Lorraine-Colwill D.F., Powles S.B., Hawkes T.R., Hollinshead P.H., Warner S.A.J., Preston C. (2002). Investigation into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 74:62–72.
- Lyon B.R., Llewellyn D.J., Huppertz J.L., Dennis E.S., Peacock W.J. (1989). Expression of a bacterial gene in transgenic tobacco plants confers resistance to the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Molecular Biology* 13:533-540.
- Ma J.P., Wang Z., Lu P., Wang H.J., Waseem Ali S., Li S.P., Huang X. (2009). Biodegradation of the sulfonylurea herbicide chlorimuron-ethyl by the strain *Pseudomonas sp.* LW3. *FEMS Microbiology Letters* 296:203-209.
- Mazur B.J., Falco S.C. (1989). The development of herbicide resistant crops. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40:441-470
- Michitte P., De Prado R., Espinoza N., Ruiz-Santaella J.P., Gauvrit C. (2007). Mechanisms of resistance to glyphosate in a ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotype from Chile. *Weed Science* 55:435–440.
- Montague A., Ziauddin A., Lee R., Ainley W.M., Strommer J. (2007). High efficiency phosphinothricin-based selection for alfalfa transformation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 91:29-36.
- Neskorodov Y.B., Rakitin A.L., Kamionskaya A.M., Skryabin K.G. (2010). Developing phosphinothricin-resistant transgenic sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 100:65-71.
- Perkins, E.J., Gordon, M.P., Caceres, O., and Lurquin, P.F. (1990) Organization and sequence-analysis of the 2,4-dichlorophenol hydroxylase and dichlorocatechol oxidative operons of plasmid pJP4. *Journal of Bacteriology* 172:2351–2359
- Pillmoor J.B., Gaunt J.K. (1981). The behaviour and mode of action of phenoxyacetic acids in plants. *In: Hutson D.H., Roberts T.R. (eds.), Progress in Pesticide Biochemistry (Vol 1)*. Wiley and Sons, New York, NY, pp. 147-218.
- Pornprom T., Prodmatee N., Chatchawankanphanich O. (2009). Glutamine synthetase mutation conferring target-site-based resistance to glufosinate in soybean cell selections. *Pest Management Science* 5:216–222.
- Powles S.B., Yu Q. (2010). Evolution in action: Plants resistant to herbicides. *Annual Review of Plant Biology* 61:317-47.
- Preston C., Mallory-Smith C.A. (2001). Biochemical mechanisms, inheritance, and molecular genetics of herbicide resistance in weeds. *In Powles S.B., Shaner D.L. (eds.), Herbicide Resistance and World Grains*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp 23–60.
- Ralebitso T.K., Senior E., van Verseveld H.W. (2002). Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments. *Biodegradation* 13:11-19.
- Roux F., Gasquez J., Reboud X. (2004) The dominance of the herbicide resistance cost in several *Arabidopsis thaliana* mutant lines. *Genetics*, 166:449-460.

- Sala CA, Bulos M, Echarte M, Whitt SR, Ascenzi R. (2008) Molecular and biochemical characterization of an induced mutation conferring imidazolinone resistance in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics* 118:105-112.
- Schloss J.V., Ciskanik LM, Van Dyck DE (1988). Origin of the herbicide binding site of acetolactate synthase. *Nature* 331:360-362.
- Seng C.T., Van Lun L., San C.T., Bin Sahid I. (2010). Initial report of glufosinate and paraquat multiple resistance that evolved in a biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) in Malaysia. *Weed Biology and Management* 10(4): 229-233.
- Snape J.W., Leckie D., Parker B., Nevo E. (1991). The genetical analysis and exploitation of differential responses to herbicides in crop species. In *Herbicide resistance in weeds and crops*, (Caseley J.C.C., G. W. Atkin, R.K., ed.), Butterworth, Oxford: 305-317.
- Stalker D Z.M., Malyj L.D., McBride K.E. (1988). Purification and properties of a nitrilase specific for the herbicide bromoxynil and corresponding nucleotide sequence analysis of the *bxn* gene. *Journal of Biological Chemistry* 263:6310-6314.
- Steinrücken H.C., Schulz A., Amrhein N., Porter C.A., Fraley R.T. (1986). Overproduction of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in a glyphosate-tolerant *Petunia hybrida* cell line. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 244:169-178.
- Streber W.R., Timmis K.N., Zenk M.H. (1987). Analysis, cloning, and high-level expression of 2,4- dichlorophenoxyacetate monooxygenase gene *tfdA* of *Alcaligenes eutrophus* JMP134. *Journal of Bacteriology* 169:2950–2955.
- Teixeira M.C., Duque P., Sa-Correia I. (2007). Environmental genomics: mechanistic insights into toxicity of and resistance to the herbicide 2,4-D. *Trends in Biotechnology* 25:363 – 370.
- Tian, X. and H. Darmency. 2006. Rapid bidirectional allele-specific PCR identification for triazine resistance in higher plants. *Pest Manag. Sci.* 62:531–536.
- Tranel P.J., Wright T.R. (2002). Resistance of weeds to ALS inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science* 50:700–712.
- Tsai C.J., Wang C.S., Wang C.Y. 2006. Physiological characteristics of glufosinate resistance in rice. *Weed Science* 54:634-640.
- Vila-Aiub M.M., Neve P., Powles S.B. (2009). Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist* 184:751-767
- Wang X., Liu X., Wang H., Dong Q. (2007) Utilization and degradation of imazaquin by a naturally occurring isolate of *Arthrobacter crystallopoietes*. *Chemosphere* 67:2156-2162.
- Wang H., Chen X., Xing X., Hao X., Chen D. (2010). Transgenic tobacco plants expressing *atzA* exhibit resistance and strong ability to degrade atrazine. *Plant Cell Reports* 29:1391-1399.
- Wright T.R., Shan G., Walsh T.A., Lira J.M., Cui C., Song P., Zhuang M., Arnold N.L., Lin G., Yau K., Russell S.M., Cicchillo R.M., Peterson M.A., Simpson D.M., Zhou N., Ponsamuel J., Zhang Z. (2010). Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National. Academy of Sciences USA* 107:20240-20245.
- Ye G.N., Hajdukiewicz P.T.J., Broyles D., Rodriguez D., Xu C.W., Nehra N., Staub J.M. (2001). Plastid-expressed 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase genes provide high level glyphosate tolerance in tobacco. *The Plant Journal* 25:261-270.
- Yu Q., Cairns A. & Powles S.B. (2007) Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta* 225:499–513.

### Brevets cités :

- Brevet US n°4940835 ; 1990  
 Brevet US n°5188642 ; 1993  
 Brevet US n° 5559024 ; 1996  
 Brevet US n° 2005/0223436 ; 2007

## Section 2.2. Modes d'obtention des variétés tolérantes aux herbicides

- Abernathy J.R., Keeling J.W., Ray L.L. (1979) Cotton cultivar response to propazine and atrazine. *Agronomy Journal* 71:929-931.
- Ahloowalia B.S., Maluszynski M., Nichterlein K. (2004) Global impact of mutation-derived varieties *Euphytica* 135: 187-204
- Al-Khatib K., Baumgartner J.R., Peterson D.E., Currie R.S. (1998). Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus*). *Weed Science* 46(4): 403-407.
- Anderson D., Pellow J., Palmer J., Grula J., Cooper H.B., Rajasekaran K. (1997) Field evaluation of cotton transformed for tolerance to imidazolinone herbicides. *Proceedings Beltwide Cotton Conferences, New Orleans, LA, USA, January 6-10, 1997: Volume 1., National Cotton Council, pp. 412-414.*

- Anziano PQ, Butow RA (1991). Splicing-defective mutants of the yeast mitochondrial coxi gene can be corrected by transformation with a hybrid maturase gene. *Proceedings of the national academy of sciences USA* 88:5592-5596
- Arnold W.E. (1975) Varietal tolerance of flax to selected herbicides, *Proceedings, 45th Annual Flax Institute of the United States*. pp. 2-3.
- Asad S., Mukhtar Z., Nazir F., Hashmi A.J., Mansoor S., Zafar Y., Arshad M. (2008) Silicon carbide whisker-mediated embryogenic callus transformation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and regeneration of salt tolerant plants. *Molecular Biotechnology* 40:161-169
- Asano Y., Ugaki M. (1994). Transgenic plants of *Agrostis alba* obtained by electroporation-mediated direct gene transfer into protoplasts. *Plant Cell Reports* 13:243-246.
- Avery OT, MacLeod CM, McCarty M (1944) Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *Journal of Experimental Medicine* 79:137-158
- Ayotte R., Harney P.M., Souza M. (1986) The transfer of atrazine resistance from *Brassica napus* to *B. oleracea*. *Cruciferae Newsletter* 11:95-96.
- Baldwin G.B., Panter D.M., Seay R.E., Corkern C.B., Reynolds D.B. (1997) Responses of selected cotton varieties to Staple (pyrithiobac) applications, 1997 Proceedings Beltwide Cotton Conferences, New Orleans, LA, USA (January 6-10, 1997), Volume 1., National Cotton Council, pp. 765-766.
- Barry G., Kishore G., Padgett S. et al. (1992) Inhibitors of amino acid biosynthesis: strategies for imparting glyphosate tolerance to crop plants. *Current Topics in Plant Physiology* 7, 139–145
- Bates G.W. (1989) Electroporation of protoplasts. *Methods in Cell Science* 12:121-126.
- Batista R., Saibo N. Lourenço T. Oliveira M.M. (2008). Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 105:3640-3645
- Bean B.W., Piccinni G., Salisbury C.D. (1999) Wheat cultivar tolerance to atrazine. *Journal of Production Agriculture* 12:597-600.
- Bechere E., Auld D.L., Dotray P., Kebede H. (2010) Registration of four upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genetic stock mutants with tolerance to imazamox. *Journal of Plant Registrations* 4:155-158.
- Bechtold N, Ellis J, Pelletier G (1993) In-planta *Agrobacterium*-mediated gene-transfer by infiltration of adult *Arabidopsis thaliana* plants. *Comptes rendus de l'Academie des sciences Série III* 316:1194-1199.
- Beetham P, Kipp P, Sawyky X, Arntzen C, May G: A tool for functional plant genomics; chimeric RNA/DNA oligonucleotides cause in vivo gene specific mutations. *Proceedings of the national academy of sciences USA* 1999, 98:8774-8778.
- Benfey P., Protopapas A.D. (2004). *Essentials of genomics*. Prentice Hall
- Boch J, Scholze H, Schornack S, et al. (2009) Breaking the Code of DNA Binding Specificity of TAL-Type III Effectors *Science* 326:1509-1512
- Boch J, Bonas U (2010) *Xanthomonas AvrBs3* family-type III effectors: discovery and function. *Annual Review of Phytopathology* 48:419-436
- Bock R (2007) *Plastid biotechnology: prospects for herbicide and insect resistance, metabolic engineering and molecular farming*. *Current Opinion in Biotechnology* 18:100–106.
- Botterman, J. and J. Leemans. 1989. Discovery, transfer to crops, expression and biological significance of a bialophos resistance gene. *British Crop Protection Council monograph* 42:63-67.
- Bourland F.M. (1985) Evaluation and selection for tolerance to dinitroaniline herbicides in cotton. *MAFES Research Highlights* 48:7.
- Bower R, Birch RG (1992). Transgenic sugarcane plants via microprojectile bombardment. *The Plant Journal* 2: 409-416
- Caboche M, Deshayes A (1984). Liposome-mediated transformation of tobacco mesophyll protoplasts by an *Escherichia coli* recombinant plasmid conferring kanamycin resistance. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Série III* 299:663-666.
- Choulika A, Perrin A, Dujon B, Nicolas JF (1994) The yeast I-Sce I meganuclease induces site-directed chromosomal recombination in mammalian cells. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, série III* 317:1013-1019.
- Christou P. (1992). Genetic transformation of crop plants using microprojectile bombardment. *The Plant Journal* 2: 275–281
- Christou P, Ford TL, Kofron M (1991). Production of transgenic rice (*Oriza sativa* L.) plants from agronomically important indica and japonica varieties via electric discharge particle acceleration of exogenous DNA into immature zygotic embryos. *Biotechnology* 9:97-962
- Clough S.J., Bent A.F. (1998). Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 16:735–743.
- Colbert TG, Till BJ, Tompa R, Reynolds SH, Steine MN, Yeung AT, McCallum CM, Comai L, and Henikoff S. 2001 High-Throughput Screening for Induced Point Mutations. *Plant Physiology* 126:480-484

- Comai L., Sen L.C., Stalker D.M. 1983. An altered aroA gene product confers resistance to the herbicide glyphosate. *Science* 221:370-371.
- Comai L., Facciotti D, Hiatt WR, et al. (1985) Expression in plants of a mutant aroA gene from *Salmonella typhimurium* confers tolerance to glyphosate. *Nature* 317:741-744
- Cullis C.A. (2004). *Plant genomics and proteomics*. John Wiley and sons. Hoboken, NJ.
- Cullis C.A., Creissen G.P. (1987). Genome organization and variation in higher plants. *Annals of Botany* 60:103-113.
- Da Silva J.F., Beltrao N.E.d.M.(1992). Tolerance of the herbicide diuron by cotton species and varieties (*Gossypium* spp.), Abstracts of the XIV Brazilian congress on herbicides and herbaceous weeds (SBHED) and the VI congress of the Latin American Weed Association (ALAM), Campinas, 1982, pp. 130-131.
- Dalton S.J., Bettany A.J.E., Timms E., Morris P. (1998) Transgenic plants of *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea*, and *Agrostis stolonifera* by silicon carbide fibre-mediated transformation of cell suspension cultures. *Plant Science* 132:31-43.
- Daniell H. (2002). Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nature Biotechnology* 20:581-586.
- De Freitas R.S., Berger P.G., Ferreira L.R., Cecon P.R., Silva M.d.P. (2007) Tolerance of cotton to trifloxysulfuron-sodium herbicide. *Revista Ceres* 54:304-309.
- Degrande D., Dewaele E., Rambour S. (2000) The AHAS gene of *Cichorium intybus* is expressed in fast growing and inflorescential organs. *Physiologia Plantarum* 110:224-231
- Deroles S.C., Gardner R.C. (1988) Analysis of the T-DNA structure in a large number of transgenic petunias generated by *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Molecular Biology* 11:365-377.
- Dessaux Y, Petit A, Farrand S K, Murphy P J. (1998) Opines and opine-like molecules involved in plant-*Rhizobiaceae* interactions. In: Spaink H.P., Kondorosi A., Hooykaas P.J.J. (eds). *The Rhizobiaceae: molecular biology of model plant-associated bacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 173-197.
- Dewaele E., Forlani G., Degrande D., Nielsen E., Rambour S. (1997) Biochemical characterization of chlorsulfuron resistance in *Cichorium intybus* L. var. Witloof. *Journal of Plant Physiology* 151:109-114.
- Dhalluin K, Bonne E, Bossut M, De Beuckeleer M., Leemans J. (1992). Transgenic maize plants by tissue electroporation. *Plant Cell* 4:1495-1505.
- Dill GM, Cajacob CA, Padgett SR (2008). Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. *Pest Management Science* 64:326-331.
- Dufourmantel N, Dubald M, Matringe M, Canard H, Garçon F, Job C, Kay E, Wisniewski JP, Ferullo JM, Pelissier B et al (2007). Generation and characterization of soybean and marker-free tobacco plastid transformants over-expressing a bacterial 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase which provides strong herbicide tolerance. *Plant Biotechnology Journal* 5:118-133
- Duke S.O. (2005). Taking stock of herbicide-resistant crops ten years after introduction. *Pest Management Science* 61:211-218.
- Finer J.J., McMullen M.D. (1990). Transformation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) via particle bombardment. *Plant Cell Reports* 8:586-589.
- Fitch M.M., Manshardt R.M., Gonsalves D., Slightom J.L., Sanford J.C. (1990) Stable transformation of papaya via microprojectile bombardment. *Plant Cell Reports* 9:189-194.
- Foster J.D., Jr., Verhalen L.M., Murray D.S. (1994) Prometryn tolerance in glanded versus glandless isolines of cotton. *Crop Science* 34:67-71.
- Frame, BR.; Drayton, PR.; Bagnall, SV.; Lewnau, CJ.; Bullock, WP.; Wilson, HM.; Dunwell, JM.; Thompson, JA. & Wang, K. (1994) Production of fertile transgenic maize plants by silicon carbide whisker-mediated transformation. *The Plant Journal* 6:941-948.
- Futtere J, Hohn T (1996). Translation en plants- rules and exceptions. *Plant Mol. Biol.* 32:159-189.
- Gelvin S.B. (2003) *Agrobacterium*-mediated plant transformation: the biology behind the "gene-jockeying tool". *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67:16-37.
- Gengenbach B.G., VanDee K.L., Egli M.A., Hildebrandt K.M., Yun S.J., Lutz S.M., Marshall L.C., Wyse D.L., Somers D.A. (1999) Genetic relationships of alleles for tolerance to sethoxydim herbicide in maize. *Crop Science* 39:812-818.
- Gustafsson A. (1947) Mutations in agricultural plants. *Hereditas* 33, 1-100
- Gustafsson A. (1963) Productive mutations induced in Barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* 50, 211-263
- Gustafsson A., Hagberg A., Lundqvist U. (1960) The induction of early mutants in bonus Barley. *Hereditas* 46 675-699
- Gustafsson A; Hagberg A. Persson G. , Wiklung K. (1971) Induced mutations and Barley Improvement Theor. and Apply. Genet. 41 239-248
- Hart S.E., Saunders J.W., Penner D. (1993) Semidominant nature of monogenic sulfonyleurea herbicide resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*). *Weed Science* 41:317-324.



- Haughn G.W., Smith J., Mazur B., Somerville C. (1988) Transformation with a mutant Arabidopsis acetolactate synthase gene renders tobacco resistant to sulfonyleurea herbicides. *Molecular and General Genetics* 211:266-271.
- Heller K., Adamczewski K., Nanaszko M. (2002) Susceptibility of fiber flax cultivars to herbicides. *Journal of Plant Protection Research* 42:117-130.
- Horsch, R.B. Rogers S.G., Fraley R.T. (1985). *Transgenic Plants*. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology 50:433-437.
- Hou BK, Zhou YH, Wan LH, Zhang ZL, Shen GF, Chen ZH, Hu ZM (2003) Chloroplast transformation in oilseed rape. *Transgenic Research* 12:111–114.
- Hu T., Metz S., Chay C., Zhou H.P., Biest N., Chen G., Cheng M., Feng X., Radionenko M., Lu F., Fry J. 2003. Agrobacterium-mediated large-scale transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.) using glyphosate selection. *Plant Cell Reports* 21:1010-1019.
- Iamtham S, Day A (2000) Removal of antibiotic resistance genes from transgenic tobacco plastids. *Nature/Biotechnol* 18:1172–1176
- James, C (2000). *Global status of Commercial Transgenic Crops*. ISAAA Briefs n° 21, ISAAA, Ithaca, New York.
- Jourdan P.S., Dickson M.H., Bellinder R., Mutschler M.A., Earle E.D. (1987) Production of atrazine-resistant Brassica oleracea from somatic hybridization between B. oleracea and atrazine-resistant B. napus. *Cruciferae Newsletter*:76-77.
- Kaeppeler H.F., Gu W, Somers DA et al. (1990). Silicon-carbide fiber-mediated DNA delivery into plant-cells. *Plant Cell Reports* 9:415-418.
- Kaeppeler S.M., Phillips R.L. (1993). DNA methylation and tissue culture-induced variation in plants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* 29:125-130.
- Kanamoto H, Yamashita A, Asao H, Okumura S, Takase H, Hattori M, Yokota A, Tomizawa K (2006) Efficient and stable transformation of *Lactuca sativa* L. cv. Cisco (lettuce) plastids. *Transgenic Res* 15:205–217
- Kaspar M., Grondona M., Leon A., Zambelli A. (2011) Selection of a sunflower line with multiple herbicide tolerance that is reversed by the p450 inhibitor malathion. *Weed Science* 59:232-237.
- Kaul S., Quétiér F., Mewes H.-W. (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408:796-815
- Khalafalla, M.; El-Sheny, HA.; Rahman, SM.; Teraishi, M.; Hasegawa, H.; Terakawa, T.; Ishimoto, M. (2006) Efficient production of transgenic soybean (*Glycine max* L. Merrill) plants mediated via whisker-supersonic (WSS) method. *African Journal of Biotechnology* 5:1594-1599
- Kishore G.M., Brundage L., Kolk K., Padgett S.R., Rochester D., Huynh Q.K., Della-Cioppa G. (1986) Isolation, purification and characterization of a glyphosate-tolerant mutant *E. coli* EPSP synthase. *Proceedings of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 45:1506
- Klein TM, Wolf ED, Wu R, Sanford JC (1987) High velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* 327:70-73.
- Klein TM, Harper EC, Svab Z, Sanford JC, Fromm ME, Maliga P. (1988a). Stable genetic transformation of intact *Nicotiana* cells by the particle bombardment process. *Proceedings of the national academy of sciences USA* 85:8502-8505.
- Klein TM, Fromm M, Weissinger A, Tomes D, Schaaf S, Sletten M, Sanford JC. (1988b). Transfer of foreign genes into intact maize cells with high-velocity microprojectiles. *Proceedings of the national academy of sciences USA* 85:4305-4309.
- Kloti A., Iglesias V.A., Wunn J., Burkhardt P.K., Datta S.K., Potrykus I. (1993) Gene-transfer by electroporation into intact scutellum cells of wheat embryos. *Plant Cell Reports* 12:671-675.
- Kolkman J.M., Slabaugh M.B., Bruniard J.M., Berry S., Bushman B.S., Olungu C., Maes N., Abratti G., Zambelli A., Miller J.F., Leon A., Knapp S.J. (2004) Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidazolinone or sulfonyleurea herbicides in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics* 109:1147-1159.
- Koulintchenko M, Konstantinov Y, Dietrich A. (2003). Plant mitochondria actively import DNA via the permeability transition pore complex. *EMBO Journal* 22:1245-1254.
- Kozziel M.G., Carozzi N.B., Deasi N. (1996) Optimizing expression of transgenes with an emphasis on post transcriptional events. *Plant Molecular Biology* 32:393-405.
- Kumar S, Dhingra A, Daniell H (2004a) Plastid-expressed betaine aldehyde dehydrogenase gene in carrot cultured cells, roots, and leaves confers enhanced salt tolerance. *Plant Physiology* 136:2843–2854
- Kumar S, Dhingra A, Daniell H (2004b) Stable transformation of the cotton plastid genome and maternal inheritance of transgenes. *Plant Molecular Biology* 56:203–216
- Kurth J, Varotto C, Pesaresi P, et al. (2002) Title: Gene-sequence-tag expression analyses of 1,800 genes related to chloroplast functions. *Planta* 215:101-109.
- Labana K.S., Banga S.S., Sashi B., Sandha G.S., Gupta M.L., Gupta T.R., Dhillon A.S. (1995) GSL 2: an atrazine resistant variety of gobhi sarson (*Brassica napus*). *Journal of Research, Punjab Agricultural University* 32:241.

- Lavigne C., Millecamps J.L., Manac'h H., Cordonnier P., Matejcek A., Vasseur J., Gasquez J. (1994) Monogenic semidominant sulfonylurea resistance in a line of white chicory. *Plant Breeding* 113:305-311.
- Lee SM, Kang K, Chung H, Yoo SH, Xu XM, Lee SB, Cheong JJ, Daniell H, Kim M (2006) Plastid transformation in the monocotyledonous cereal crop, rice (*Oryza sativa*) and transmission of transgenes to their progeny. *Mol Cells* 21:401-410.
- Lee H., Rustgi S., Kumar N., Burke I., Yenish J.P., Gill K.S., von Wettstein D., Ullrich S.E. (2011) Single nucleotide mutation in the barley acetohydroxy acid synthase (AHAS) gene confers resistance to imidazolinone herbicides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:8909-8913.
- Lee K.Y., Townsend J., Tepperman J., Black M., Chui C.F., Mazur B., Dunsmuir P., Bedbrook J. (1988) The molecular basis of sulfonylurea herbicide resistance in tobacco. *EMBO Journal* 7:1241-1248.
- Lelivelt C, McCabe M, Newell C, deSnoo C, Dun K, Birch-Machin I, Gray J, Mills K, Nugent J (2005) Stable plastid transformation in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Molecular Biology* 58:763-774.
- Lewin B. (2007). *Genes IX*. Jones & Bartlett Pub., Sudbury, MA.
- Li D., Barclay I., Jose K., Stefanova K., Appels R. (2008) A mutation at the Ala122 position of acetohydroxyacid synthase (AHAS) located on chromosome 6D of wheat: improved resistance to imidazolinone and a faster assay for marker assisted selection. *Molecular Breeding* 22:217-225.
- Li X, Song Y, Century K, Straight S, Ronald P, Dong X, Lassner M, Zhang Y. (2001). A fast neutron deletion mutagenesis-based reverse genetics system for plants. *The Plant Journal* ;27:235-242.
- Liu CW, Lin CC, Chen JJ, Tseng MJ (2007) Stable chloroplast transformation in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) by particle bombardment. *Plant Cell Reports* 26:1733-1744
- Lusser M., Parisi C., Plan D., Rodríguez-Cerezo E. (2011). *New plant breeding techniques : state-of-the-art and prospects for commercial development*. JRC scientific and technical reports. Publications Office of the European Union, Luxembourg, LU.
- Lutz KA, Knapp JE, Maliga P (2001) Expression of bar in the plastid genome confers herbicide resistance. *Plant Physiol* 125: 1585-1590
- Maliga P. (2004). Plastid transformation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology* 55:289-313.
- Maliga P., Bock R. (2011). *Plastid Biotechnology: Food, Fuel, and Medicine for the 21st Century*. *Plant Physiology* 155:1501-1510.
- Maluszynski M., Szarejko I, Bhatia C.R., Nichterlein K., Lagoda P.J.L (2009) Methodologies for generating variability: mutation techniques. In *Plant breeding and farmer participation* Ed. Cecarelli S., Guimbarães EP, Wellitzién E. FAO Corporate Document Repository
- Matzke A.J.M., Matzke M.A. (1998). Position effects and epigenetic silencing of plant transgenes. *Current Opinion in Plant Biology* 1:142-148.
- McCabe D.E., Swain W.F., Martinell B.J., Christou P. (1988). Stable transformation of soybean (*Glycine max*) by particle acceleration. *Nature / Biotechnology* 6:923 - 926.
- McCabe D, Christou P (1993) Direct DNA transfer using electric-discharge particle-acceleration (accel™ technology). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 33:227-236
- McCallum C.M., Comai L., Greene E.A., Henikoff S. (2000a). Targeted screening for induced mutations. *Nature Biotechnol.* 18:455-7
- McCallum C.M., Comai L., Greene E.A., Henikoff S. (2000b). Targeting Induced Local Lesions IN Genomes (TILLING) for plant functional genomics. *Plant Physiology* 123(2):439-42
- McElroy D., Brettell R.I.S. (1994). Foreign gene expression in transgenic cereals *Trends in Biotechnology* 12:62-68.
- Men S., Ming X., Wang Y., Liu R., Wei C., Li Y. (2003) Genetic transformation of two species of orchid by biolistic bombardment. *Plant Cell Reports* 21:592-598.
- Meyer P., Kartzke S., Niedenhof I., Heidmann I., Bussmann K., Saedler H. (1988). A genomic DNA segment from *Petunia hybrida* leads to increased transformation frequencies and simple integration patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 85: 8568-8572.
- Miller JC, Tan S, Qiao G, Barlow KA, Wang J, Xia DF, Meng X, Paschon DE, Leung E, Hinkley SJ, Dulay GP, Hua KL, Ankoudinova I, Cost GJ, Urnov FD, Zhang HS, Holmes MC, Zhang L, Gregory PD, Rebar EJ (2011). A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nature/Biotechnology* 29:143-148
- Molin W.T., Khan R.A. (1996) Differential tolerance of cotton (*Gossypium* sp.) cultivars to the herbicide prometryn. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 56:1-11.
- Montague A., Ziauddin A., Lee R., Ainley W.M., Strommer J. (2007). High efficiency phosphinothricin-based selection for alfalfa transformation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 91:29-36.
- Morbitzer R, Romer P, Boch J, Lahaye T (2010) Regulation of selected genome loci using de novo-engineered transcription activator-like effector (TALE)-type transcription factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107:21617-21622.

- Moscou MJ, Bogdanove AJ. (2009). A Simple Cipher Governs DNA Recognition by TAL Effectors. *Science* 326:1501-1501
- Nagatani, N.; Honda, H.; Shimada, H. & Kobayashi, T. (1997). DNA delivery into rice cells and transformation of cell suspension cultures. *Biotechnol. Tech.* 11, pp. 471 – 473
- Neskorodov Y.B., Rakitin A.L., Kamionskaya A.M., Skryabin K.G. (2010). Developing phosphinothricin-resistant transgenic sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 100:65-71
- Newhouse K.E., Smith W.A., Starrett M.A., Schaefer T.J., Singh B.K. (1992). Tolerance to imidazolinone herbicides in wheat. *Plant Physiology* 100:882-886.
- Newton K.J. (1988). Plant mitochondrial genomes: organization, expression and variation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39:503-532
- Nguyen TT, Nugent G, Cardi T, Dix PJ (2005). Generation of homoplasmic plastid transformants of a commercial cultivar of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Science* 168:1495–1500
- Nugent GD, Coyne S, Nguyen TT, Kavanagh TT, Dix PJ (2006). Nuclear and plastid transformation of *Brassica oleracea* var. botrytis (cauliflower) using PEG-mediated uptake of DNA into protoplasts. *Plant Science* 170:135–142
- O'Neill C, Horváth GV, Horváth E, Dix PJ, Medgyesy P. (1993). Chloroplast transformation in plants: polyethylene glycol (PEG) treatment of protoplasts is an alternative to biolistic delivery systems. *The Plant Journal* 3:729-738.
- Oakley S.R. (1986) Response of selected genotypes of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) to the herbicide acifluorfen. *Dissertation Abstracts International, B (Sciences and Engineering)* 46:3276B.
- Oh K., Park E., Yoon M., Han T., Choi J. (2001). Roles of histidine residues in tobacco acetolactate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 282:1237-1243.
- Oldach K.H., Peck D.M., Cheong J., Williams K.J., Nair R.M. (2008). Identification of a chemically induced point mutation mediating herbicide tolerance in annual medics (*Medicago* spp.). *Annals of Botany* 101:997-1005.
- Ott K.H., Kwagh J.G., Stockton G.W., Sidirov V., Kakefuda G. (1996). Rational molecular design and genetic engineering of herbicide resistant crops by structure modeling and site-directed mutagenesis of acetohydroxyacid synthase. *J. Mol. Biol* 263:359–368.
- Palafox de la Barrera A. (1981) Selection of flax (*Linum usitatissimum* L.) lines for tolerance to EPTC and trifluralin as a source of breeding stock. *Dissertation Abstracts International, B* 41:3974.
- Parker W.B., Somers D.A., Wyse D.L., Keith R.A., Burton J.D., Gronwald J.W., Gengenbach B.G. (1990) Selection and characterization of sethoxydim-tolerant maize tissue cultures. *Plant Physiology* 92:1220-1225.
- Petolino JF, Young S, Hopkins N, Sukhapinda K, Woosley A, Hayes C, Pelcher L. (2000). Expression of murine adenosine deaminase (ADA) in transgenic maize. *Transgenic Research* 9:1-9.
- Potrykus I. (1991). Gene Transfer to Plants: Assessment of Published Approaches and Results. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42:205-225.
- Primrose S., Twyman R., Old R. *Principes de Génie Génétique*. 2004. De Boeck, Bruxelles.
- Prina A.R. (1992) A mutator nuclear gene inducing a wide spectrum of cytoplasmically inherited chlorophyll deficiencies in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 85:245-251.
- Quétiér F. (1995). Le génome des organites cellulaires. *Biofutur* 146:12-16.
- Rack K. (1953). Untersuchungen über die Bedeutung der Verwundung und über die Rolle von Wuchsstoffen beim bakteriellen Pflanzenkrebs. *Phytopathol. Zeitung* 21:1-44.
- Reddy V.D., Reddy G.M. (1996). Molecular analysis of somaclonal variation in triticale. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology* 4:260-262.
- Regier C., Dilbeck R.E., Undersander D.J., Quisenberry J.E. (1986) Cotton resistance to 2,4-dichlorophenoxy acetic acid spray drift. *Crop Science* 26:376-377.
- Ridley M. (2006). *Genome*. Harper Perennial, New York, NY:
- Rios R.D., Saione H., Robredo C., Acevedo A., Colombo N., Prina A.R. (2003) Isolation and molecular characterization of atrazine tolerant barley mutants. *Theoretical and Applied Genetics* 106:696-702.
- Ruf S, Hermann M, Berger IJ, Carrer H, Bock R (2001). Stable genetic transformation of tomato plastids: foreign protein expression in fruit. *Nature/Biotechnology* 19:870–875.
- Sala C.A., Bulos M., Echarte A.M. (2008a) Genetic analysis of an induced mutation conferring imidazolinone resistance in sunflower. *Crop Science* 48:1817-1822
- Sala C.A., Bulos M., Echarte M., Whitt S.R., Ascenzi R. (2008b) Molecular and biochemical characterization of an induced mutation conferring imidazolinone resistance in sunflower. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 118:105-112.
- Sales M.A., Shivrain V.K., Burgos N.R., Kuk Y.I. (2008) Amino acid substitutions in the acetolactate synthase gene of red rice (*Oryza sativa*) confer resistance to imazethapyr. *Weed Science* 56:485-489.
- Samson F., Brunaud V., Balzergue S., Dubreucq B., Lepiniec L., Pelletier G., Caboche M., Lecharny A. (2002). FLAGdb/FST: a database of mapped flanking insertion sites (FSTs) of *Arabidopsis thaliana* T-DNA transformants. *Nucleic Acids Research* 30:94-97.

- Sanford JC, DeVit MJ, Russell JA, Smith FD, Harpending PR, Roy MK, Johnston SA (1991) An improved, helium-driven biolistic device. *Technique* 3:3-16.
- Sathasivan K., Haughn G.W., Murai N. (1991) Molecular basis of imidazolinone herbicide resistance in *Arabidopsis thaliana* var Columbia. *Plant Physiology* 97:1044-1050
- Satuti N, Moriguchi K, Sato M, Kataoka M, Maeda Y, Tanaka N, Yoshida K. Genome structure of Ri plasmid (3). Sequencing analysis of the vir region of pRi1724 in Japanese *Agrobacterium rhizogenes*. *Nucleic Acids Symp Ser.* 2000;(44):95-96.
- Schaefer D.G., Zryd J.P. (1997). Efficient gene targeting in the moss *Physcomitrella patens*. *The Plant Journal* 11:1195-1206.
- Scholze H et Boch J. (2011). TAL effectors are remote controls for gene activation. *Current Opinion in Microbiology* 14: 47-53
- Serik O., Ainur I., Murat K., Tetsuo M., Masaki I. (1996). Silicon carbide fiber-mediated DNA delivery into cells of wheat (*Triticum aestivum* L) mature embryos. *Plant Cell Reports* 16(3-4): 133-136.
- Shah D., Horsch R., Klee H. et al. 1986. Engineering herbicide tolerance in transgenic plants. *Science* 233:478-481.
- Shimizu M, Goto M, Hanai M, Shimizu T, Izawa N, Kanamoto H, Tomizawa K, Yokota A, Kobayashi H (2008) Selectable tolerance to herbicides by mutated acetolactate synthase genes integrated into the chloroplast genome of tobacco. *Plant Physiol* 147: 1976–1983
- Shukla VK, Doyon Y, Miller JC, DeKaveler RC, Moehle EA, Worden SE, Mitchell JC, Arnold NL, Gopalan S, Meng X, Choi VM, Rock JM, Wu YY, Katibah GE, Zhifang G, McCaskill D, Simpson MA, Blakeslee B, Greenwalt SA, Butler HJ, Hinkley SJ, Zhang L, Rebar EJ, Gregory PD, Urnov FD. (2009). Precise genome modification in the crop species *Zea mays* using zinc-finger nucleases. *Nature* 459:437-441.
- Slater A. Scott N.W., Fowler M.R. (2003). *Plant Biotechnology: The Genetic Manipulation of Plants*. Oxford University Press, Oxford.
- Smulders M.J.M., de Klerk G.J.(2011). Epigenetics in plant tissue culture. *Plant Growth Regulation* 63:137-146.
- Somers DA, Rines MW, Gu W, Kaeppler HF, Bushnell WR (1992). Fertile, transgenic oat plants. *Biotechnology* 10:1589-1594.
- Springer N.M., Kaeppler S.M. (2008). Chapter 3 : Epigenetics: The Second Genetic Code. *Advances in Agronomy* 100:59-80
- Stadler L.J. (1928) Mutation in Barley induced by X Ray and Radium. *Science* 68: 186-187
- Steinrücken H.C., Schulz A., Amrhein N., Porter C.A., Fraley R.T. 1986. Overproduction of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in a glyphosate-tolerant *Petunia hybrida* cell line. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 244:169-178
- Sugiura M. (1992). The chloroplast genome. *Plant Molecular Biology* 19, 149-168.
- Svab Z., Maliga P. (1993). High-frequency plastid transformation in tobacco by selection for a chimeric aadA gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90:913–917.
- Swanson E.B., Herrgesell M.J., Arnoldo M., Sippell D.W., Wong R.S.C. (1989) Microspore mutagenesis and selection: canola plants with field tolerance to the imidazolinones. *Theoretical and Applied Genetics* 78:525-530.
- Tan S., Evans R.R., Dahmer M.L., Singh B.K., Shaner D.L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science* 61:246-257.
- Taniguchi Y., Kawata M., Ando I., Shimizu T., Ohshima M. (2010). Selecting genetic transformants of indica and indica-derived rice cultivars using bispyribac sodium and a mutated ALS gene. *Plant Cell Reports* 29:1287-1295.
- Till BJ, Zerr T, Comai L, Henikoff S (2006) A protocol for TILLING and Eco-TILLING in plants and animals. *Nature Protocols* 1:2465 - 2477
- Townsend J.A., Wright D.A., Winfrey R.J., Fu F., Maeder M.L., Joung J.K., Voytas D.F. (2009). High frequency modification of plant genes using engineered zinc finger nucleases. *Nature* 459:442–445.
- Tranel P.J., Wright T.R. (2002) Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science* 50:700-712.
- Urbanczyk H, Suzuki K, Yoshida K, Kondo K. (2003). Physical and gene maps of *Agrobacterium* biovar 2 strains and their relationship to biovar 1 chromosomes. *Microbiology* 149:3035-3042.
- Valkov VT, Gargano D, Manna C, Formisano G, Dix PJ, Gray JC, Scotti N, Cardi T (2011). High efficiency plastid transformation in potato and regulation of transgene expression in leaves and tubers by alternative 5' and 3' regulatory sequences. *Transgenic Res* 20: 137–151.
- Vancetovic J., Vidakovic M., Babic M., Radojicic D.B., Bozinovic S., Stevanovic M. (2009) The effect of cycloxydim tolerant maize (CTM) alleles on grain yield and agronomic traits of maize single cross hybrid. *Maydica* 54:91-95.
- Vasil V, Castillo A, Fromm M, Vasil I (1992). Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus. *Biotechnology* 10: 667-674.
- Verma D, Daniell H. (2007). Chloroplast vector systems for biotechnology applications. *Plant Physiology* 145:1129–1143.

- Wan YC, Lemaux PG (1994). Generation of large numbers of independently transformed fertile barley plants. *Plant Physiology* 104:37-48.
- Wiersma P.A., Schmiemann M.G., Condie J.A., Crosby W.L., Moloney M.M. (1989). Isolation, expression and phylogenetic inheritance of an acetolactate synthase gene from *Brassica napus*. *Molecular and General Genetics* 219:413-420.
- Wright T.R., Penner D. (1998). Cell selection and inheritance of imidazolinone resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*). *Theoretical and Applied Genetics* 96:612-620.
- Wright T.R., Bascomb N.F., Sturmer S.F., Penner D. (1998). Biochemical mechanism and molecular basis for ALS-inhibiting herbicide resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*) somatic cell selections. *Weed Science* 46:13-23
- Xu X.P., Li B.J. (1994). Fertile transgenic indica-rice plants obtained by electroporation of the seed embryo cells. *Plant Cell Reports* 13:237-242.
- Ye G.N., Hajdukiewicz P.T.J., Broyles D., Rodriguez D., Xu C.W., Nehra N., Staub J.M. (2001). Plastid-expressed 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase genes provide high level glyphosate tolerance in tobacco. *The Plant Journal* 25:261-270.
- Yoon K, Cole-Strauss A, Kmiec E B (1996). Targeted gene correction of episomal DNA in mammalian cells mediated by a chimeric RNA/DNA oligonucleotide. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93:2071-2076.
- Zaenen I, Vanlarebeke N, Teuchy H et al. (1974). Supercoiled circular DNA in crown-gall inducing *Agrobacterium* strains. *Journal of Molecular Biology* 86:109-127.
- Zhang F, Cong L, Lodato S, Kosuri S, Church GM, Arlotta P. (2011). Efficient construction of sequence-specific TAL effectors for modulating mammalian transcription. *Nature/Biotechnology* 29:149-153
- Zhu J, Oger PM, Schrammeijer B, Hooykaas PJ, Farrand SK, Winans SC. (2000). The bases of crown gall tumorigenesis. *Journal of Bacteriology* 182:3885-3895.
- Zhu T, Mettenburg K, Peterson D, Tagilani L, Baszczynski C (2000). Engineering herbicide-resistant maize using chimeric RNA/DNA oligonucleotides. *Nature/Biotechnology* 18:555-558
- Zhu T, Peterson D, Tagilani L, St. Clair G, Baszczynski C, Bowen B (1999). Targeted manipulation of maize gene in vivo using chimeric RNA/DNA oligonucleotides. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96:8768-8773.
- Zubko MK, Zubko EI, van Zuilten K, Meyer P, Day A (2004). Stable transformation of petunia plastids. *Transgenic Research* 13:523-530

### Brevets cités

- Brevet mondial WO/2001/0165922 ; 2004
- Brevet mondial WO/2004/040012 ; 2004
- Brevet mondial WO/2006/024351 ; 2006
- Brevet mondial WO/2009/150441 ; 2009
- Brevet US n° 6472587 ; 2002
- Brevet US n° 2005/112571 ; 2005
- Brevet US n° 2005/0223436 ; 2005

### Liens internet d'intérêt pour cette section

- Cellectis 2011 : TALEN <http://www.cellectis-bioresearch.com/talen>
- Cellectis annonce Licence exclusive TALEs : <http://www.cellectis.com/media/press-release/2010/cellectis-acquires-exclusive-license-tal-effector-patents-university-minnes>
- Cellectis 2009 Plainte contre Precision Biosciences : <http://www.cellectis.com/media/press-releases/2009/cellectis-european-patent-ep-1-485-475-upheld-against-precision>
- Dow AgroSciences 2011 : <http://www.dowagro.com/>
- ExZact 2011 : <http://www.exzactprecisiontechnology.com/get/>
- Plant Genetic Systems 1991. <http://www.patentlens.net/daisy/AgroTran/g7/g2/940.html>
- Precision Biosciences 2010 : <http://www.businesswire.com/news/home/20101028005526/en/Precision-BioSciences-Announces-Patent-Office-Issues-Final>
- SANGAMO 2011a : <http://www.sangamo.com/technology/non-therapeutic-applications.htmlv>
- SANGAMO 2011-b : <http://www.sangamo.com/technology/therapeutic-applications.html>
- WAVE : <http://www.transgenomic.com/pd/Systems.asp>

## Section 2.3. Potentiel de croissance des variétés tolérantes aux herbicides, en l'absence d'herbicides

- Adegas F.S., Oliveira M.F., Brighenti A.M., Prete C.E.C., Vieira O.V. (2007). Growth analysis of resistant and susceptible sunflower cultivars to herbicides of the imidazolinones group, XVII Reuniao Nacional de Pesquisa de Girassol, V Simposio Nacional sobre a Cultura do Girassol, Uberaba, Minas Gerais, Brazil, 3-5 October 2007. Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Soja: 75-78.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009a). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation PULSAR 40 à base d'imazamox, de la société BASF AGRO S.A.S, AFSSA, dossier n° 2008-0026.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009b). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'extension d'usage majeur pour la préparation EXPRESS SX à base de tribénuron-méthyle, de la société DuPont Solutions (France), AFSSA, dossier n° 2008-0624.
- Ahmad I., Bissett J., Malloch D. (1995). Influence of the bioherbicide phosphinothricin on interactions between phytopathogens and their antagonists. *Canadian Journal of Botany* 73: 1750-1760.
- Al-Kaff N.S., Kreike M.M., Covey S.N., Pitcher R., Page A.M., Dale P.J. (2000). Plants rendered herbicide-susceptible by cauliflower mosaic virus - elicited suppression of a 35S promoter-regulated transgene. *Nature Biotechnology* 18: 995-999.
- Bauer P.J., McAlister D.D., III, Frederick J.R. (2006). A comparison of Bollgard/glyphosate-tolerant cotton cultivars to their conventional parents for open end yarn processing performance. *Journal of Cotton Science* 10: 168-174.
- Bechere E., Auld D.L., Dotray P.A., Gilbert L.V., Kebede H. (2009). Imazamox tolerance in mutation-derived lines of upland cotton. *Crop Science* 49:1586-1592.
- Beckie H.J., Harker K.N., Hall L.M., Warwick S.I., Legere A., Sikkema P.H., Clayton G.W., Thomas A.G., Leeson J.Y., Seguin-Swartz G., Simard M.J. (2006). A decade of herbicide-resistant crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 86:1243-1264.
- Berman K.H., Harrigan G.G., Riordan S.G., Nemeth M.A., Hanson C., Smith M., Sorbet R., Zhu E., Ridley W.P. (2010). Compositions of forage and seed from second-generation glyphosate-tolerant soybean MON 89788 and insect-protected soybean MON 87701 from Brazil are equivalent to those of conventional soybean (*Glycine max*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:6270-6276.
- Beversdorf W.D., Hume D.J. (1984). OAC Triton spring rapeseed. *Canadian Journal of Plant Science* 64:1007-1009.
- Beversdorf W.D., Hume D.J., Donnelly-Vanderloo M.J. (1988). Agronomic performance of triazine-resistant and susceptible reciprocal spring canola hybrids. *Crop Science* 28:932-934.
- Blackshaw R.E., Kanashiro D., Moloney M.M., Crosby W.L. (1994). Growth, yield and quality of canola expressing resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. *Canadian Journal of Plant Science* 74:745-751.
- Boerboom C.M., Lauer J.G. (1997). Performance of imazethapyr-resistant corn (*Zea mays*) compared with susceptible near-isogenic and commercial hybrids. *Weed Technology* 11:110-117
- Brandle J.E., Mchugh S.G., James L., Labbe H., Miki B.L. (1995). Instability of Transgene Expression in-Field Grown Tobacco Carrying the CsrI-L Gene for Sulfonylurea Herbicide Resistance. *Bio-Technology* 13:994-998.
- Brandle J.E., Miki B.L. (1993). Agronomic performance of sulfonylurea-resistant transgenic flue-cured tobacco grown under field conditions. *Crop Science* 33:847-852.
- Brookes G., Barfoot P. (2010). Global impact of biotech crops: environmental effects, 1996-2008. *AgBioForum* 13(1): 76-94.
- Burke I.C., Thomas W.E., Allen J.R., Collins J., Wilcut J.W. (2008). A comparison of weed control in herbicide-resistant, herbicide-tolerant, and conventional corn. *Weed Technology* 22:571-579.
- Caretto S., Giardina M.C., Nicolodi C., Mariotti D. (1994). Chlorsulfuron resistance in *Daucus carota* cell lines and plants: involvement of gene amplification. *Theoretical and Applied Genetics* 88:520-524.
- Carpenter J.E. (2010). Peer-reviewed surveys indicate positive impact of commercialized GM crops. *Nature Biotechnology* 28:319-321.
- Cathcart R.J., Topinka A.K., Kharbanda P., Lange R., Yang R.C., Hall L.M. (2006). Rotation length, canola variety and herbicide resistance system affect weed populations and yield. *Weed Science* 54:726-734.
- Charles G.W., Constable G.A., Llewellyn D.J., Hickman M.A. (2007). Tolerance of cotton expressing a 2,4-D detoxification gene to 2,4-D applied in the field. *Australian Journal of Agricultural Research* 58:780-787.
- Colton B., Butler B., Milne B.R. (1997). Using triazine herbicides in canola, *Agnote - NSW Agriculture*, DPI/183, 4.
- Corneille S., Lutz K., Svab Z., Maliga P. (2001). Efficient elimination of selectable marker genes from the plastid genome by the CRE-lox site-specific recombination system. *The Plant Journal* 27:171-178
- Coustau C., Chevillon C., Ffrench-Constant R. (2000). Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? *Trends in Ecology & Evolution* 15:378-383.

- Cox W.J., Hanchar J., Shields E. (2009). Stacked corn hybrids show inconsistent yield and economic responses in New York. *Agronomy Journal* 101:1530-1537.
- Crawley M.J., Hails R.S., Rees M., Kohn D., Buxton J. (1993). Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature* 363:620-623.
- Cuthbert J.L., McVetty P.B.E., Freyssinet G., Freyssinet M. (2001). Comparison of the performance of bromoxynil-resistant and susceptible near-isogenic populations of oilseed rape. *Canadian Journal of Plant Science* 81:367-372.
- Darmency H., Pernes J. (1989). Agronomic performance of a triazine resistant foxtail millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.). *Weed Research (Oxford)* 29:147-150.
- Darmency H., Picard J., Wang T. (2011). Fitness cost linked to dinitroaniline resistance mutation in *Setaria*. *Heredity*.
- Daun J.K. (2004). Quality of genetically modified (GM) and conventional varieties of canola (spring oilseed rape) grown in western Canada, 1996-2001. *Journal of Agricultural Science* 142:273-280.
- De Greef W., Delon R., Block M.d., Leemans J., Botterman J. (1989). Evaluation of herbicide resistance in transgenic crops under field conditions. *Bio/Technology* 7:61-64.
- Demirci M. Kaya Y. (2009) Status of *Orobanche cernua* and weeds in sunflower production in Turkey. *Helia* 32(51):153-160.
- Dietz-Pfeilstetter A. (2010). Stability of transgene expression as a challenge for genetic engineering. *Plant Science* 179:64-167.
- Eberlein C.V., Guttieri M.J., Berger P.H., Fellman J.K., Mallory-Smith C.A., Thill D.C., Baerg R.J., Belknap W.R. (1999). Physiological consequences of mutation for ALS-inhibitor resistance. *Weed Science* 47:383-392.
- Eberlein C.V., Guttieri M.J., Steffen-Campbell J. (1998). Bromoxynil resistance in transgenic potato clones expressing the *bxn* gene. *Weed Science* 46:150-157.
- Elmore R.W., Roeth F.W., Nelson L.A., Shapiro C.A., Klein R.N., Knezevic S.Z., Martin A. (2001). Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. *Agronomy Journal* 93:408-412.
- Feng P.C.C., Clark C., Andrade G.C., Balbi M.C., Caldwell P. (2008). The control of Asian rust by glyphosate in glyphosate-resistant soybeans. *Pest Management Science* 64:353-359.
- Fernandez-Cornejo J., McBride W.D. (2002). Genetically engineered crops: U.S. adoption & impacts. *Agricultural Outlook* (294):24-27.
- Fernandez-Escobar J., Rodriguez-Ojeda M.I., Fernandez-Martinez J.M., Alonso L.C. (2009) Sunflower broomrape in Castilla-Leon, a traditionally non broomrape infested area in Spain. *Helia* 32 (51): 57-63.
- Garcia-Torres L., Castejon-Munoz M., Lopez-Grandos F., Jurado-Exposito M. (1995) Imazapyr apply Postemergence in sunflower for Broomrape (*Orobanche Ceruna*) control. *Weed Technology* 9:819-824
- Gertz J.M., Jr., Vencill W.K., Hill N.S. (1999). Tolerance of transgenic soybean (*Glycine max*) to heat stress, Brighton crop protection conference: weeds, BCPC, Farnham, Surrey, UK, pp. 835-840.
- Giesler L., Graef G., Wilson J.D., Schimelfenig J., Powers T.O. (2002). Interaction of glyphosate tolerance with soybean cyst nematode resistance. *Phytopathology* 92:S29.
- Gleave AP, Mitra DS, Mudge SR, Morris BAM (1999) Selectable marker-free transgenic plants without sexual crossing: transient expression of Cre recombinase and use of a conditional lethal dominant gene. *Plant Molecular Biology* 40:223-235,
- Goldwasser Y. Kleifeld Y (2004) Recent approaches to orobanche management a review. In: *Weed biology and management*, pp. 439-466., Inderjit (ed.).
- Gouse M., Piesse J., Thirtle C., Poulton C. (2009). Assessing the performance of GM maize amongst smallholders in KwaZulu-Natal, South Africa. *AgBioForum* 12:78-89.
- Gressel J., (2009) Crops with targeted site herbicide resistance for orobanche and striga control. *Pest Management Science* 65:560-565
- Gressel J., Ben-Sinai G. (1985). Low intraspecific competitive fitness in a triazine-resistant, nearly nuclear-isogenic line of *Brassica napus*. *Plant Science* 38:29-32.
- Hails R.S., Rees M., Kohn D.D., Crawley M.J. (1997). Burial and seed survival in *Brassica napus* subsp *oleifera* and *Sinapis arvensis* including a comparison of transgenic and non-transgenic lines of the crop. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 264(1378):1 -7.
- Hall J.C., Donnelly M.J., Hume D.J. (1996). Triazine-resistant crops: the agronomic impact and physiological consequences of chloroplast mutation. In *Herbicide-resistant crops*, (Duke S.O., ed.), CRC Press, Boca-Raton, pp. 107-126.
- Harker K.N., Blackshaw R.E., Kirkland K.J., Derksen D.A., Wall D. (2000). Herbicide-tolerant canola: weed control and yield comparisons in western Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 80:647-654.
- Hart J.J., Radosevich S.R., Stemler A. (1992). Influence of light intensity on growth of triazine-resistant rapeseed (*Brassica napus*). *Weed Research (Oxford)* 32:349-356.
- Hategekimana B. (2002). Genetically modified grain corn and soybean in Quebec and Ontario in 2000 and 2001. *Agriculture and rural working paper series, No.54. Statistics Canada, Ottawa.*

- Jiang X., Xiao G. (2010). Detection of unintended effects in genetically modified herbicide-tolerant (GMHT) rice in comparison with non-target phenotypic characteristics. *African Journal of Agricultural Research* 5:1082-1088.
- Jones M.A., Snipes C.E. (1999). Tolerance of transgenic cotton to topical applications of glyphosate. *Journal of Cotton Science* 3:19-26.
- Jost P., Shurley D., Culpepper S., Roberts P., Nichols R., Reeves J., Anthony S. (2008). Economic comparison of transgenic and nontransgenic cotton production systems in Georgia. *Agronomy Journal* 100:42-51.
- Kim M.C., Ahn J.H., Shin H.C., Kim T., Ryu T.H., Kim D.H., Song H.G., Lee G.H., Kai J.O. (2008). Molecular analysis of bacterial community structures in paddy soils for environmental risk assessment with two varieties of genetically modified rice, Iksan 483 and Milyang 204. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 18:207-218.
- King C.A., Purcell L.C., Vories E.D. (2001). Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. *Agronomy Journal* 93:179-186.
- Kremer R.J., Means N.E. (2009). Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. *European Journal of Agronomy* 31:153-161.
- Kukorelli G., Nagy S., Reisinger P. (2007) Comparative experiments with imidazolinone and tribenuron-methyl tolerant sunflower hybrids. *Magyar Gyomkutadas es technologia* 8:67-73
- Kumar A., Rakow G., Downey R.K. (1998). Isogenic analysis of glufosinate-ammonium tolerant and susceptible summer rape lines. *Canadian Journal of Plant Science* 78:401-408.
- Lavigne C., Manac'h H., Guyard C., Gasquez J. (1995). The cost of herbicide resistance in white-chicory: ecological implications for its commercial release. *Theoretical and Applied Genetics* 91:1301-1308.
- Lee C.D., Penner D., Hammerschmidt R. (2000). Influence of formulated glyphosate and activator adjuvants on *Sclerotinia sclerotiorum* in glyphosate-resistant and susceptible *Glycine max*. *Weed Science* 48:710-715.
- Lin W., Price G.K., Fernandez-Cornejo J. (2001). Estimating farm-level effects of adopting herbicide-tolerant soybeans. *Oil Crops, Situation and Outlook Yearbook (OCS-2001)*, pp. 25-34.
- Liu Y.B., Wei W., Ma K.P., Darmency H. (2010). Backcrosses to *Brassica napus* of hybrids between *B. juncea* and *B. napus* as a source of herbicide-resistant volunteer-like feral populations. *Plant Science* 179:459-465.
- Lu Y.H., Melero-Vara M., Garcia-Tejada J.A., Blanchard P. (1999). Development of SCAR markers linked to the gene Or5 conferring resistance to broomrape in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics* 100(3-4): 624-632
- Magha M.I., Guerche P., Bregeon M., Renard M. (1993). Characterization of a spontaneous rapeseed mutant tolerant to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Plant Breeding* 111:132-141.
- Manning P.M., Popp M.P., Keisling T.C., Ashlock L.O., Dombek D.G. (2003). Comparison of yield potential and herbicide program cost between herbicide-resistant and conventional soybean. *Journal of Plant Nutrition* 26:915-934.
- Mariani C, De Beuckeleer M, Truettner J, Leemans J, Goldberg RB (1990). Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene. *Nature* 347:737-741
- Mariani C, Gossele V, De Beuckeleer M, De Block M, Goldberg RB, De Greef W, Leemans J (1992). A chimaeric ribonuclease-inhibitor gene restores fertility to male sterile plants. *Nature* 357:384-387.
- Marshall M.W., Al-Khatib K., Loughin T. (2001). Gene flow, growth, and competitiveness of imazethapyr-resistant common sunflower. *Weed Science* 49:14-21.
- Massinga R.A., Al-Khatib K., St Amand P., Miller J.F. (2005). Relative fitness of imazamox-resistant common sunflower and prairie sunflower. *Weed Science* 53:166-174.
- McHughen A., Holm F. (1991). Herbicide resistant transgenic flax field test: agronomic performance in normal and sulfonylurea-containing soils. *Euphytica* 55:49-56.
- McHughen A., Holm F.A. (1995). Development and preliminary field testing of a glufosinate-ammonium tolerant transgenic flax. *Canadian Journal of Plant Science* 75:117-120.
- Mlynárová L., Conner A.J., Nap J.-P. (1996) Directed microspore-specific recombination of transgenic alleles to prevent pollen-mediated transmission of transgenes. *Plant Biotechnology Journal* 4:445-452.
- Mlynárová L., Nap J.-P. (2003). A Self-Excising Cre Recombinase Allows Efficient Recombination of Multiple Ectopic Heterospecific Lox Sites in Transgenic Tobacco. *Transgenic Research* 12:45-57.
- Njiti V.N., Myers O., Jr., Schroeder D., Lightfoot D.A. (2003). Roundup Ready soybean: glyphosate effects on *Fusarium solani* root colonization and sudden death syndrome. *Agronomy Journal* 95:1140-1145.
- Noel G.R., Wax L.M. (2009). Heterodera glycines population development on soybean treated with glyphosate *Nematropica* 39:247-253.
- Nolte S.A., Young B.G. (2002). Efficacy and economic return on investment for conventional and herbicide-resistant corn (*Zea mays*). *Weed Technology* 16:371-378.
- O'Donovan J.T., Harker K.N., Clayton G.W., Blackshaw R.E. (2006). Comparison of a glyphosate-resistant canola (*Brassica napus* L.) system with traditional herbicide regimes. *Weed Technology* 20:494-501.



- Oberdoerfer R.B., Shillito R.D., De Beuckeleer M., Mitten D.H. (2005). Rice (*Oryza sativa* L.) containing the bar gene is compositionally equivalent to the nontransgenic counterpart. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1457-1465.
- Owen M.D.K., Pedersen P., Bruin J.L.d., Stuart J., Lux J., Franzenburg D., Grossnickle D. (2010). Comparisons of genetically modified and non-genetically modified soybean cultivars and weed management systems. *Crop Science* 50:2597-2604.
- Paris M., Roux F., Berard A., Reboud X. (2008). The effects of the genetic background on herbicide resistance fitness cost and its associated dominance in *Arabidopsis thaliana*. *Heredity* 101:499-506.
- Pline W.A., Viator R., Wilcut J.W., Edmisten K.L., Thomas J., Wells R. (2002). Reproductive abnormalities in glyphosate-resistant cotton caused by lower CP4-EPSPS levels in the male reproductive tissue. *Weed Science* 50:438-447.
- Pline W.A., Wu J., Hatzios K.K. (1999). Effects of temperature and chemical additives on the response of transgenic herbicide-resistant soybeans to glufosinate and glyphosate applications. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 65:119-131.
- Plowman A.B., Richards A.J., Tremayne M.A. (1999). Environmental effects on the fitness of triazine-resistant and triazine-susceptible *Brassica rapa* and *Chenopodium album* in the absence of herbicide. *New Phytologist* 141:471-485.
- Pozniak C.J., Holm F.A., Hucl R.J. (2004). Field performance of imazamox-resistant spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science* 84:1205-1211.
- Purrlington C.B., Bergelson J. (1997). Fitness consequences of genetically engineered herbicide and antibiotic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 145:807-814.
- Raymer P.L., Grey T.L. (2003). Challenges in comparing transgenic and nontransgenic soybean cultivars. *Crop Science* 43:1584-1589.
- Reboud X., Till-Bottraud I. (1991). The cost of herbicide resistance measured by a competition experiment. *Theoretical and Applied Genetics* 82:690-696.
- Ricroch A., Mousseau M., Darmency H., Pernes J. (1987). Comparison of triazine-resistant and susceptible cultivated *Setaria italica*: growth and photosynthetic capacity. *Plant Physiology and Biochemistry* 25:29-34.
- Roux F., Gasquez J., Reboud X. (2004). The dominance of the herbicide resistance cost in several *Arabidopsis thaliana* mutant lines. *Genetics* 166:449-460.
- Sanogo S., Yang X.B., Lundeen P. (2001). Field response of glyphosate-tolerant soybean to herbicides and sudden death syndrome. *Plant Disease* 85:773-779.
- Sauer B. (1987). Functional expression of the Cre-Lox site-specific recombination system in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology* 7:2087-2096.
- Sauer B., Henderson N. (1988). "Site-specific DNA recombination in mammalian cells by the Cre recombinase of bacteriophage P1. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 85:5166-5170.
- Schmalenberger A., Tebbe C.C. (2003). Genetic profiling of noncultivated bacteria from the rhizospheres of sugar beet (*Beta vulgaris*) reveal field and annual variability but no effect of a transgenic herbicide resistance. *Canadian Journal of Microbiology* 49:1-8.
- Sebastian S.A., Fader G.M., Ulrich J.F., Forney D.R., Chaleff R.S. (1989). Semidominant soybean mutation for resistance to sulfonylurea herbicides. *Crop Science* 29:1403-1408.
- Senior I.J., Bavage A.D. (2003). Comparison of genetically modified and conventionally derived herbicide tolerance in oilseed rape: a case study. *Euphytica* 132:217-226.
- Sha X.Y., Linscombe S.D., Groth D.E. (2007). Field evaluation of imidazolinone-tolerant clearfield rice (*Oryza sativa* L.) at nine Louisiana locations. *Crop Science* 47:1177-1185.
- Shaw D.R., Arnold J.C., Snipes C.E., Laughlin D.H., Mills J.A. (2001). Comparison of glyphosate-resistant and nontransgenic soybean (*Glycine max*) herbicide systems. *Weed Technology* 15:676-685.
- Simard M.J., Legere A., Seguin-Swartz G., Nair H., Warwick S. (2005). Fitness of double vs. single herbicide-resistant canola. *Weed Science* 53:489-498.
- Stalker D.M., Kiser J.A., Baldwin G., Coulombe B., Houck C. (1996). Cotton weed control using the BXN system. In *Herbicide-resistant crops*, (Duke S.O., ed.), CRC Press, Boca-raton, pp. 93-105.
- Stanton R.A., Pratley J.E., Hudson D., Dill G.M. (2010). Herbicide tolerant canola systems and their impact on winter crop rotations. *Field Crops Research* 117:161-166.
- Stringam G.R., Ripley V.L., Love H.K., Mitchell A. (2003). Transgenic herbicide tolerant canola - The Canadian experience. *Crop Science* 43:1590-1593.
- Sukno S., Melero-Vara J.M., Fernandez-Martinez J.M. (1999) Inheritance of resistance to *Orobanche cernua* in six Sunflower lines. *Crop Science* 39:674-678
- Swanson E.B., Herrgesell M.J., Arnoldo M., Sippell D.W., Wong R.S.C. (1989). Microspore mutagenesis and selection: canola plants with field tolerance to the imidazolinones. *Theoretical and Applied Genetics* 78:525-530.

- Tada T., Kanzaki H., Norita E., Uchimiya H., Nakamura I. (1996). Decreased symptoms of rice blast disease on leaves of bar-expressing transgenic rice plants following treatment with bialaphos. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9:762-764.
- Tan S.Y., Evans R.R., Dahmer M.L., Singh B.K., Shaner D.L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science* 61:246-257.
- Tardif F.J., Rajcan I., Costea M. (2006). A mutation in the herbicide target site acetohydroxyacid synthase produces morphological and structural alterations and reduces fitness in *Amaranthus powellii*. *New Phytologist* 169:251-264.
- Thelen K.D., Penner D. (2007). Yield environment affects glyphosate-resistant hybrid response to glyphosate. *Crop Science* 47:2098-2107.
- Thomson JG, Chan R, Thilmony R, Yau Y.-Y., Ow D.W. (2010). PhiC31 recombination system demonstrates heritable germinal transmission of site-specific excision from the Arabidopsis genome. *BMC Biotechnology* 10, article 17 (<http://www.biomedcentral.com/1472-6750/10/17>).
- Tian X., Darmency H. (2006). Rapid bidirectional allele-specific PCR identification for triazine resistance in higher plants. *Pest Management Science* 62 :531-536.
- Vila-Aiub M.M., Neve P., Powles S.B. (2009). Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist* 184:751-767.
- Wang Y, Chen BJ, Hu YL, et al. (2005) Inducible excision of selectable marker gene from transgenic plants by the Cre/lox site-specific recombination system. *Transgenic Research* 14:605-614
- Wang T., Picard J.C., Tian X., Darmency H. (2010). A herbicide-resistant ACCase 1781 *Setaria* mutant shows higher fitness than wild type. *Heredity* 105:394-400.
- Wilkinson M., Tepfer M. (2009). Fitness and beyond: preparing for the arrival of GM crops with ecologically important novel characters. *Environmental Biosafety Research* 8:1-14.
- Wossink A., Denaux Z.S. (2006). Environmental and cost efficiency of pesticide use in transgenic and conventional cotton production. *Agricultural Systems* 90:312-328.
- Wright T.R., Shan G.M., Walsh T.A., Lira J.M., Cui C., Song P., Zhuang M.B., Arnold N.L., Lin G.F., Yau K., Russell S.M., Cicchillo R.M., Peterson M.A., Simpson D.M., Zhou N., Ponsamuel J., Zhang Z.Y. (2010). Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107:20240-20245.
- Yemets A.I., Blume Y.B. (2007). Mutant genes of plant tubulins as selective marker genes for genetic engineering. *Cytology and Genetics* 41:156-166.
- Young B.G., Hart S.E. (1997). Control of volunteer sethoxydim-resistant corn (*Zea mays*) in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology* 11:649-655.
- Zobiole L.H.S., Kremer R.J., Oliveira Junior R.S.d., Constantin J. (2010a). Glyphosate affects photosynthesis in first and second generation of glyphosate-resistant soybeans. *Plant and Soil* 336:251-265.
- Zobiole L.H.S., Oliveira Junior R.S., Visentainer J.V., Kremer R.J., Bellaloui N., Yamada T. (2010b). Glyphosate affects seed composition in glyphosate-resistant soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:4517-4522.

## Section 2.4. Bilan

- Breyer D., Herman P., Brandenburger A., Gheysen G., Remaut E., Soumillon P., Van Doorselaere J., Custers R., Pauwels K., Sneyers M., Reheul D. (2009) Genetic modification through oligonucleotide-mediated mutagenesis. A GMO regulatory challenge? *Environ. Biosafety Res.* 8 :57–64.
- Harms C.T., Armour S.L., DiMaio J.J., Middlesteadt L.A., Murray D., Negrotto D.V. Thompson-Taylor H., Weymann K., Montoya A.L. Shillito R.D., Jen G.C. (1992). Herbicide resistance due to amplification of a mutant acetohydroxyacid synthase gene. *Molecular and General Genetics* 233:427- 435.

## Annexe. Résistances à un herbicide détectées chez des espèces adventices d'Europe

| Nom scientifique de l'espèce      | Nom vernaculaire  | Classe HRAC concernée (2) | Pays concernés (3)                                      | Année de détection (4) |
|-----------------------------------|---|---------------------------|---|------------------------|
| <i>Abutilon theophrasti</i>       | Abutilon à fleurs jaunes  | C1                        | ex-Y  |                        |
| <i>Agrostis stolonifera</i> (1)   | Agrostis stolonifère  | F3                        | B   |                        |
| <i>Alisma plantago-aquatica</i>   | Plantain d'eau  | B                         | P, E, I   |                        |
| <i>Alopecurus myosuroides</i>     | Vulpin des champs   | A                         | B, D, F, NL, DK, UK                                     | 1993                   |
|                                   |   | A B                       | D   |                        |
|                                   |   | A B C2 K3                 | D   |                        |
|                                   |   | B                         | D, F, UK  | 1993                   |
|                                   |   | C2                        | B, E, CH, NL, UK  |                        |
|                                   |   | K1                        | UK  |                        |
|                                   |   | A C2                      | D, NL   |                        |
| A B C1 C1 K1                      | B   |                           |   |                        |
| <i>Amaranthus albus</i>           | Amarante blanche  | C1                        | E   |                        |
| <i>Amaranthus blitoides</i>       | Amarante fausse-blette  | C1                        | E   |                        |
| <i>Amaranthus blitum</i>          |   | C1                        | F, CH   | 1981                   |
| <i>Amaranthus cruentus</i>        | Amarante couleur de sang<br>Amarante rouge                            | C1                        | E   |                        |
| <i>Amaranthus hybridus</i>        | Amarante hybride  | C1                        | E, F, I, CH   | 1980                   |
| <i>Amaranthus powellii</i>        | Amarante de Powell  | C1                        | CZ, F, CH, I  | 1982                   |
| <i>Amaranthus retroflexus</i>     | Amarante réfléchie  | B                         | I, ex-Y   |                        |
|                                   |   | C2                        | BG  |                        |
|                                   |   | C1                        | BG, CZ, F, GR, I, PL, E, CH, ex-Y                       | 1980                   |
|                                   |   | C1 C2                     | D   |                        |
| <i>Apera spica-venti</i>          | Jouet du vent, Epi du vent<br>Agrostis des champs,<br>Eternue éventée | C2                        | D, CH   |                        |
|                                   |   | B                         | CZ, D, PL   |                        |
|                                   |   | A B C2                    | D   |                        |
| <i>Arenaria serpyllifolia</i>     | Sabline à feuilles de serpolet  | C1                        | F   | 1980                   |
| <i>Atriplex patula</i>            | Arroche étalée<br>Arroche des champs                                  | C1                        | D   |                        |
| <i>Avena fatua</i>                | Folle avoine  | A                         | B, F  | 1996                   |
|                                   |   | A B Z                     | UK  |                        |
| <i>Avena sterilis</i>             | Avoine stérile  | A                         | UK  |                        |
| <i>Avena sterilis ludoviciana</i> | Folle avoine de Ludovic   | A                         | F, I  | 1996                   |
| <i>Bidens tripartita</i>          | Bident tripartite   | C                         | A   |                        |
| <i>Bromus tectorum</i>            | Brome des murs,<br>Brome des toits                                    | C1                        | E, F  | 1981                   |
|                                   |   | C2                        | E   |                        |
| <i>Capsella bursa-pastoris</i>    | Capselle<br>Bourse à Pasteur  | C1                        | PL  |                        |
| <i>Chamomilla suaveolens</i>      | Matricaire odorante<br>Matricaire fausse-camomille                    | C1                        | UK  |                        |
| <i>Chenopodium album</i>          | Chénopode blanc   | C1                        | B, BG, GR, N, CZ, D, E, F, NL, I,<br>P, PL, UK, CH, SLO | 1978                   |
|                                   |   | C2                        | N   |                        |
| <i>Chenopodium ficifolium</i>     | Chénopode à feuilles de figuier                                       | C1                        | D, CH   |                        |
| <i>Chenopodium hybridum</i>       | Chénopode hybride   | C1                        | ex-Y  |                        |

|  |   |        |                         |      |
|--|---|--------|-------------------------|------|
| <i>Chenopodium polyspermum</i>                           | Chénopode à graines nombreuses                    | C1     | D, F, CH                | 1980 |
| <i>Chenopodium strictum</i><br>var. <i>glaucophyllum</i> | Chénopode dressé                                  | C1     | CZ                      |      |
| <i>Cirsium arvense</i>                                   | Cirse des champs                                  | O      | H, S                    |      |
| <i>Conyza bonariensis</i>                                | Vergerette d'Argentine                            | C1     | E                       |      |
|  |   | G      | E, P                    |      |
| <i>Conyza canadensis</i>                                 | Vergerette du Canada                              | C1     | B, CZ, E, F, PL, CH, UK | 1981 |
|  |   | C2     | F                       | 1988 |
|  |   | B      | PL                      |      |
|  |   | D      | B                       |      |
|  |   | G      | CZ, E                   |      |
| <i>Conyza sumatrensis</i>                                | Vergerette blanchâtre<br>Erigeron blanc           | G      | E                       |      |
| <i>Cyperus difformis</i>                                 | Souchet à petites fleurs                          | B      | E, I                    |      |
| <i>Digitaria sanguinalis</i>                             | Digitaire sanguine<br>Millet sanguin              | A      | I                       |      |
|  |   | C1     | CZ, F, PL               | 1983 |
| <i>Echinochloa crus-galli</i>                            | Panic des marais<br>Pied-de-coq<br>Patte de poule | B      | I, ex-Y                 |      |
|  |   | C2     | GR, I                   |      |
|  |   | K1     | BG                      |      |
|  |   | C1     | CZ, E, F, I, PL         | 1982 |
| <i>Echinochloa erecta</i><br>(= <i>E. colona</i> )       | Echinochloé des cultures                          | C2 L   | I                       |      |
| <i>Epilobium ciliatum</i>                                | Epilobe cilié                                     | C1     | B, PL, UK               |      |
|  |   | D      | B, UK                   |      |
| <i>Epilobium tetragonum</i>                              | Epilobe à 4 angles                                | C1     | D, F                    | 1981 |
| <i>Fallopia convolvulus</i>                              | Renouée liseron                                   | C1     | D, A                    |      |
| <i>Galinsoga ciliata</i>                                 | Galinsoga cilié                                   | C1     | D, CH                   |      |
| <i>Kochia scoparia</i>                                   | -   | B C1   | CZ                      |      |
| <i>Lolium multiflorum</i>                                | Ray-grass d'Italie                                | A      | F, I, UK                | 1993 |
|  |   | C2     | UK                      |      |
|  |   | G      | E                       |      |
| <i>Lolium rigidum</i>                                    | Lvràie raide                                      | A      | F, GR, E                | 1993 |
|  |   | C1     | E                       |      |
|  |   | B      | F                       | 2006 |
|  |   | G      | F, I, E                 | 2005 |
|  |   | A C2   | E                       |      |
| <i>Lolium perenne</i>                                    | Ray-grass Anglais<br>Lvràie vivace                | A B    | D                       |      |
|  |   | A B K3 | D                       |      |
| <i>Matricaria chamomilla</i>                             | Matricaire camomille<br>Camomille                 | B      | D                       |      |
| <i>Matricaria matricarioides</i>                         | Matricaire odorante                               | C1     | UK                      |      |
| <i>Matricaria perforata</i>                              | Matricaire inodore,<br>Matricaire perforée        | O      | F, UK                   | 1975 |
|  |   | B      | D                       |      |
| <i>Panicum dichotomiflorum</i>                           | Panic dichotomique                                | C1     | E                       |      |
| <i>Papaver rhoeas</i>                                    | Coquelicot, Ponceau                               | B      | DK, F, GR, I, UK        | 2007 |
|  |   | B O    | E                       |      |
| <i>Phalaris paradoxa</i>                                 | Alpiste paradoxal                                 | A      | I                       |      |
| <i>Poa annua</i>   | Pâturin annuel                                    | C1     | B, CZ, D, F, N, NL, UK  | 1978 |
|  |   | D      | B, UK                   |      |
|  |   | F3     | B                       |      |
| <i>Polygonum aviculare</i>                               | Renouée des oiseaux                               | F3     | B                       |      |

|  |   |    |                                   |      |
|--|---|----|-----------------------------------|------|
|  |   | C1 | NL                                |      |
| <i>Polygonum hydropiper</i>  | Renouée poivre d'eau                          | C1 | F                                 | 1989 |
| <i>Polygonum lapathifolium</i>                                     | Renouée à feuilles de patience                | C1 | CZ, D, E, F                       | 1979 |
| <i>Polygonum persicaria</i> L.<br>(ou <i>Persicaria maculosa</i> ) | Renouée persicaire                            | C1 | CZ, F                             | 1980 |
| <i>Scirpus mucronatus</i>  | Scirpe mucroné                                | B  | I                                 |      |
| <i>Senecio vulgaris</i>  | Seneçon commun                                | C1 | B, CZ, D, F, NL, UK, N, CH        | 1982 |
|  |   | C2 | CH                                |      |
| <i>Setaria faberi</i>  | Sétaire géante                                | C1 | E                                 |      |
| <i>Setaria glauca</i>  | Sétaire glauca                                | C1 | E, F                              | 1981 |
| <i>Setaria verticillata</i>  | Sétaire verticillée,<br>Panic rude            | C1 | E                                 |      |
| <i>Setaria viridis</i>   | Sétaire verte                                 | C1 | E, F, ex-Y                        | 1982 |
| <i>Sinapis alba</i>  | Moutarde blanche                              | B  | E                                 |      |
| <i>Solanum nigrum</i>  | Morelle noire                                 | C1 | B, CZ, D, F, I, NL, PL, UK, E, CH | 1979 |
| <i>Sorghum halepense</i>   | Sorgho d'Alep                                 | A  | I, GR                             |      |
| <i>Sonchus asper</i>   | Laiteron rude                                 | C1 | F                                 | 1980 |
| <i>Stellaria media</i>   | Mouron des oiseaux<br>Stellaire intermédiaire | B  | DK, IRE, N, S, UK                 |      |
|  |   | C1 | D                                 |      |
|  |   | O  | UK                                |      |

(1) Les espèces résistantes détectées en France apparaissent en caractères bleus, ce qui ne signifie pas que celles mentionnées en caractères noirs soit absentes sous une forme non résistante.

(2) Les codes des classes d'herbicides sont les codes HRAC qui figurent en annexe 2 du rapport. Les multi-résistances apparaissent sous forme d'une combinaison de lettres.

(3) Les codes des pays concernés sont les suivants : B, Belgique ; CZ, République Tchèque ou Tchécoslovaquie (selon les années de détection) ; D, Allemagne (incluant ou non la partie Est du pays, également selon l'année de détection) ; E, Espagne, F, France ; H : Hongrie ; I, Italie ; IRE : Irlande ; NL, Pays-Bas, P, Portugal ; PL : Pologne ; UK, Royaume-Uni. Les espèces détectées en France apparaissent en caractères bleus.

(4) L'année de détection ne concerne que l'identification de la mauvaise herbe résistante en France.

Tableau construit d'après <http://www.weedscience.org>



## Chapitre 3.

# Utilisation des VTH et ses effets sur l'agroécosystème

**Coordinateur :**

Henri Darmency

**Contributeurs :**

Gérard Arnold  
Nathalie Colbach  
Henri Darmency  
Yves Dessaux  
Jane Lecomte  
Valérie Le Corre

**Expert ponctuel :**

Christian Huyghe

# Sommaire

|   |            |
|---|------------|
| <b>Introduction.....</b>  | <b>112</b> |
| <b>3.1. Conséquences sur le désherbage .....</b>  | <b>113</b> |
| <b>3.1.1. Efficacité de la technologie .....</b>  | <b>113</b> |
| 3.1.1.1. Introduction et référentiel utilisé .....  | 113        |
| 3.1.1.2. Résolution des problèmes de désherbage .....   | 113        |
| 3.1.1.3. Simplification du désherbage.....  | 115        |
| 3.1.1.4. Economie d'intrants .....  | 117        |
| 3.1.1.5. Conclusion .....   | 119        |
| <b>3.1.2. Effets de la simplification du contrôle non-chimique des adventices sur la flore adventice.....</b> | <b>119</b> |
| 3.1.2.1. Introduction .....   | 119        |
| 3.1.2.2. Méthode utilisée et description des publications analysées .....                                     | 120        |
| 3.1.2.3. Effet de la simplification ou de l'abandon du travail du sol sur la flore adventice .....            | 121        |
| 3.1.2.4. Abandon du désherbage mécanique et manuel en betterave sucrière .....                                | 130        |
| 3.1.2.5. Effet des modifications de pratiques agricoles sur la production .....                               | 131        |
| 3.1.2.6. Effet des modifications de pratiques agricoles sur les états du milieu .....                         | 133        |
| 3.1.2.7. Conclusion et application au cas français.....   | 136        |
| <b>3.2. Apparition et diffusion des résistances .....</b>   | <b>138</b> |
| <b>3.2.1. Expansion spontanée de la VTH .....</b>   | <b>138</b> |
| 3.2.1.1. Repousses de culture .....   | 139        |
| 3.2.1.2. Les populations férales ou la dynamique de retour à l'état sauvage .....                             | 143        |
| 3.2.1.3. Conclusion .....   | 145        |
| <b>3.2.2. Flux et transferts de gènes.....</b>  | <b>146</b> |
| 3.2.2.1. Flux vers les cultures non-TH .....  | 146        |
| 3.2.2.2. Flux vers les apparentées.....   | 151        |
| 3.2.2.3. Prévention des risques .....   | 162        |
| <b>3.2.3. Apparition de résistances spontanées.....</b>   | <b>163</b> |
| 3.2.3.1. Référentiel bibliographique utilisé .....  | 163        |
| 3.2.3.2. L'évolution de la résistance aux herbicides : généralités.....                                       | 164        |
| 3.2.3.3. Etat des lieux des résistances aux herbicides et impact constaté des cultures VTH .....              | 166        |
| 3.2.3.4. Impacts prévisibles de l'introduction de VTH en France.....  | 171        |
| 3.2.3.5. Méthodes de gestion pour prévenir ou retarder l'apparition et la diffusion des résistances .....     | 177        |
| 3.2.3.6. Conclusions .....  | 181        |
| <b>3.3. Effets de l'utilisation des VTH sur la biodiversité non cultivée.....</b>                             | <b>182</b> |
| <b>3.3.1. Toxicité des VTH et des herbicides associés pour la biodiversité .....</b>                          | <b>182</b> |
| 3.3.1.1. Eléments de contexte et limites de l'analyse bibliographique.....                                    | 182        |
| 3.3.1.2. Effets sur les plantes adventices .....  | 186        |
| 3.3.1.3. Effets sur les invertébrés terrestres .....  | 188        |
| 3.3.1.4. Effets sur la faune du sol .....   | 188        |



|   |            |
|---|------------|
| 3.3.1.5. Effets sur les vertébrés : micromammifères et oiseaux .....  | 189        |
| 3.3.1.6. Effets sur les amphibiens.....   | 190        |
| 3.3.1.7. Effets sur les pollinisateurs .....  | 190        |
| 3.3.1.8. Effets sur les populations et communautés de micro-organismes du sol.....                                    | 200        |
| 3.3.1.9. Conclusion .....   | 209        |
| <b>3.3.2. Perturbation physique du milieu et impact sur bioagresseurs et composantes biotiques non nuisibles.....</b> | <b>210</b> |
| 3.3.2.1. Cas des maladies fongiques.....  | 210        |
| 3.3.2.2. Cas de composantes biotiques non nuisibles.....  | 212        |
| 3.3.2.3. Conclusion .....   | 214        |
| <b>3.4. Bilan des effets et conclusion .....</b>  | <b>215</b> |
| <b>3.4.1. Impacts agronomiques .....</b>  | <b>215</b> |
| 3.4.1.1. A court terme et à l'échelle de la parcelle .....  | 215        |
| 3.4.1.2. A moyen terme et à l'échelle supra-parcellaire.....  | 217        |
| <b>3.4.2. Impacts sur l'environnement.....</b>  | <b>219</b> |
| 3.4.2.1. Contamination de l'environnement .....   | 219        |
| 3.4.2.2. Effets sur la flore, services et fonction .....  | 219        |
| 3.4.2.3. Effets sur la faune associée : les pollinisateurs .....  | 219        |
| 3.4.2.4. Risques de dispersion.....   | 220        |
| 3.4.2.5. Transfert horizontaux .....  | 221        |
| 3.4.2.6. Risque pour la biodiversité non cultivée .....   | 221        |
| 3.4.2.7. Conséquences sur la consommation d'énergie .....   | 222        |
| <b>3.4.3. Remarques .....</b>   | <b>222</b> |
| <b>Références bibliographiques citées .....</b>   | <b>223</b> |
| <b>Annexe. Les évolutions passées et présentes de l'agriculture française et européenne .....</b>                     | <b>263</b> |

## Introduction

Ce chapitre traite des effets des modalités d'utilisation des VTH sur l'efficacité du désherbage et de leurs conséquences sur les systèmes agri-environnementaux au sein desquels elles seront développées. Bien sûr, ces modalités d'utilisation dépendent largement des caractéristiques et des potentialités des variétés, des modes d'obtention et des types d'herbicides visés, tels que décrits au chapitre 2. Elles dépendent aussi du contexte socio-économique qui permet leur adoption ou freine leur développement, tel que discuté dans le chapitre 5. D'autres modalités, d'autres scénarios d'utilisation pourraient être proposés, mais ils sont contingents de nombreuses données variables selon les régions et les marchés. Ainsi, l'exemple américain est largement utilisé car il concentre la majorité des surfaces cultivées en VTH, mais il n'est pas sûr que son extrapolation à nos régions conduise, dans nos climats et dans nos systèmes agricoles avec nos traditions et nos économies, à des résultats similaires en termes de mise en œuvre, de commercialisation, d'efficacité et d'impacts sur l'environnement.

Si les VTH semblent être un élément nouveau dans la pratique agricole, probablement parce qu'une majorité d'entre elles est issue du génie génétique, il faut aussi garder en mémoire que les VTH se substituent à un autre système de désherbage qui utilise depuis soixante ans les produits de la pétrochimie sur 98% des surfaces cultivées. Si on se concentre sur le trait caractérisant ces variétés, la tolérance à un herbicide, on doit admettre que ce n'est pas nouveau et répond tout à fait au concept de familiarité, car la plupart de nos cultures résistent déjà à l'épandage des herbicides qui leur sont spécifiques (les herbicides sélectifs). Les questions inhérentes à l'utilisation des herbicides en général sur l'environnement ne seront pas traitées ici, et nous renvoyons à l'expertise collective "Pesticides, Agriculture et Environnement" de l'INRA et du Cemagref (2005). En revanche, les herbicides que l'on favorise en développant des VTH entraînent-ils une intensification des capacités biocides, des modifications des équilibres biologiques ou des changements dans les systèmes de culture par rapport au référentiel actuel ?

### Les questions traitées

Ce chapitre vise à extraire les éléments de la littérature scientifique permettant d'examiner, au point de vue agro-environnemental, si les bénéfices attendus des VTH sont réels et durables, techniquement possibles et effectivement obtenus sur le terrain, et modulés par d'éventuels effets indirects. Il doit contribuer à éclairer les lecteurs sur le rôle de ces variétés dans le cadre du plan Ecophyto 2018 qui vise à réduire de moitié l'usage des produits phytosanitaires en agriculture, et à évaluer leur apport pour répondre aux enjeux du développement durable et de la préservation des ressources naturelles. Il est donc très technique, proche des pratiques des agriculteurs et des indicateurs des composantes de l'agro-environnement.

Comme indiqué dans le cahier des charges, ce chapitre abordera dans un premier temps les impacts agronomiques pour l'agriculteur, instantanément à l'échelle de la parcelle pour l'efficacité du désherbage des adventices et le rendement des cultures, puis sur l'itinéraire technique, en particulier la simplification des rotations et ses effets. Puis il aborde les effets en retour sur le système de culture lui-même, comme l'apparition d'adventices résistantes et les repousses, et la diffusion des gènes chez d'autres variétés dans le voisinage ou dans la succession culturale. Il aborde dans une troisième partie les impacts sur l'environnement, comme les flux de gènes chez des plantes sauvages et l'effet sur les pollinisateurs, et la manière dont l'évolution des pratiques associées joue sur la biodiversité sauvage. C'est dans le bilan que seront examinées les possibilités d'application de ces connaissances aux situations prévisibles en France et les effets régionaux.

### La bibliographie

L'analyse des données bibliographiques a porté *a priori* sur les connaissances des experts et s'est appuyée *a posteriori* sur le corpus de références issues des équations de recherche originelles présentées au chapitre 1. Elle concerne des faits établis dans la littérature scientifique. Il s'agit donc d'informations au "cas par cas", par tolérance, voire par couple tolérance + variété. Un nombre non négligeable de publications ont été écartées car apportant des informations non validées et douteuses ; d'autres n'ont pas été citées car reprises ou complétées par celles indiquées dans la liste des références. Des études n'incluant pas de VTH ont été utilisées pour fournir des références ou des illustrations à des phénomènes avérés qui pourraient s'appliquer au cas des VTH. Les présupposés et les hypothèses non étudiés ou non démontrés n'ont été repris que dans la conclusion, comme sources d'incertitude et points de discussion supplémentaires.

## 3.1. Conséquences sur le désherbage

### 3.1.1. Efficacité de la technologie

Henri Darmency

#### 3.1.1.1. Introduction et référentiel utilisé

La vocation primaire des VTH est d'offrir un moyen de désherbage supplémentaire qui doit conduire à une gestion plus facile, plus efficace et plus économe des adventices (Burnside, 1992), en complément aux méthodes mécaniques (Kishore et al., 1992). Les VTH utilisant des herbicides "totaux" ont été aussi présentées comme des outils potentiels dans la gestion des adventices résistantes aux herbicides (Shaner, 1996) et dans l'intensification écologique des systèmes de culture car réduisant les intrants, limitant l'érosion, diminuant l'émission des gaz à effet de serre et privilégiant des herbicides ayant les meilleurs profils écotoxicologiques (Ammon, 1996). Leur utilité a fait débat entre industriels, sélectionneurs, conseillers phytosanitaires, professeurs et chercheurs gouvernementaux (voir Weed Science Society of America, 1992). Malgré les déclarations initiales (Kishore et al., 1992), dans la pratique, l'industrie phytosanitaire les a proposées aux agriculteurs comme une panacée. Les enquêtes menées auprès des agriculteurs américains à la fin des années 90, au moment des premières commercialisations des variétés transgéniques de soja et de maïs tolérantes à un herbicide, ont révélé une attente de meilleurs rendements et d'économies d'intrants (Shaner, 2000). En fait, de nombreux observateurs s'accordent à penser que l'innovation principale qui a conduit une majorité d'agriculteurs américains à privilégier les cultures tolérantes aux herbicides a été la résolution de problèmes de désherbage spécifiques ou dans des zones très infestées, et la souplesse d'emploi en adéquation avec la stratégie du non-labour qui ont amené une économie du temps de travail (voir Chapitre 5). Nous explorons ici de nombreux résultats publiés sur l'efficacité du désherbage et ses conséquences dans des journaux à vocation technique (exemple : *Weed Technology*).

#### 3.1.1.2. Résolution des problèmes de désherbage

##### 3.1.1.2.1. Adventices apparentées

L'exemple de l'expansion du colza tolérant aux triazines en Australie est emblématique du choix d'une variété tolérante pour résoudre un problème de désherbage. Il s'agit de la lutte contre la ravenelle (*Raphanus raphanistrum*), de la même famille botanique que le colza et donc impossible à tuer sélectivement dans la culture, alors même qu'un rendement potentiel plus faible de 15 à 20% était connu (Colton et al., 1997). On peut retrouver la même motivation vis-à-vis de la morelle noire (*Solanum nigrum*) dans la tomate de plein champ, la betterave adventice dans la betterave sucrière, etc. Des cas similaires de proximité taxonomique qui empêchent le désherbage sélectif ont été résolus avec le riz Clearfield® qui permet de détruire le riz rouge sauvage (*Oryza sativa*) à l'aide des imidazolinones (Steele et al., 2002), et avec le blé Clearfield® pour éliminer l'aegilops (*Aegilops cylindrica*) (Ball et al., 1999). Dans le cas de la tolérance aux inhibiteurs de l'ALS en France, la lutte est aussi plus efficace contre des espèces adventices de même famille que la culture, par exemple les crucifères comme la calepine (*Calepina irregularis*), la capselle (*Capsella bursa-pastoris*) et la sanve (*Sinapis arvensis*) dans le colza (Bertin, 2010), ou les astéracées comme l'ambrosie (*Ambrosia artemisiifolia*), le chardon (*Cirsium arvense*), la lampourde (*Xanthium strumarium*) et le tournesol adventice dans le tournesol (Duroueix et al., 2010).

##### 3.1.1.2.2. Spectre d'efficacité

Une deuxième catégorie de motivation est d'élargir le spectre d'efficacité du désherbage sur des adventices peu ou pas maîtrisées par les herbicides sélectifs homologués : dans ce cas, une variété tolérante peut permettre l'emploi de matières actives connues pour détruire ces plantes. C'est par exemple le cas des sétaires (*Setaria viridis*) et des renouées (*Polygonum convolvulus*) dans du blé tolérant aux imidazolinones (Pozniak et al., 2004). L'emploi des variétés tolérantes aux herbicides inhibiteurs d'ALS permet aussi un élargissement du spectre d'espèces contrôlées, par exemple, aux géraniums (*Geranium dissectum*, *G. rotundifolium*, *G. pusillum*) et à

l'anthriscus (*Anthriscus caucalis*) dans le colza, au datura (*Datura stramonium*), au chanvre d'eau (*Bidens tripartita*) et au liseron des haies (*Calystegia sepium*) dans le tournesol (Duroueix et al., 2010).

Dans le cas du tournesol, on bénéficie d'une possibilité de désherbage en post-levée (absente auparavant) qui offre une moindre dépendance vis-à-vis des conditions d'humidité du sol que le désherbage de pré-levée. De plus, on utilise un plus faible grammage d'herbicide à l'hectare (20 à 50 g, contre 1500 à 2400 pour la pré-levée). Dans le cas de la betterave sucrière, qui est une culture très sensible à la compétition par les adventices, plusieurs matières actives sont nécessaires en post-levée (plus un traitement en pré-levée selon les régions) : ces traitements peuvent être avantageusement remplacés par le glyphosate ou le glufosinate (Richard-Molard et al., 1996). Ils présentent un large spectre d'efficacité alors que beaucoup d'autres herbicides ne sont efficaces que sur un groupe d'adventices seulement, par exemple graminées ou dicotylédones : ils sont donc très attractifs. De plus, ils sont efficaces sur des plantes à des stades de développement tardifs, alors que la plupart des autres herbicides doivent s'employer sur des plantules au stade cotylédon ou 2-3 feuilles au plus, ce qui permet de retarder le traitement afin de traiter un maximum d'adventices ayant germé sur un laps de temps plus long.

### 3.1.1.2.3. Autres effets directs

#### *Réduction des phytotoxicités*

L'intérêt d'une variété tolérante à un herbicide est aussi d'éviter des effets toxiques des herbicides, soit en application directe, soit à partir des résidus dans le sol des produits utilisés dans la culture précédente. C'est le cas du lin utilisé après une céréale au Canada, à cause des effets résiduels persistants des sulfonyl-urées (McHughen & Holm, 1991).

#### *Possibilité de la lutte intégrée*

Les herbicides actuellement choisis pour être associés aux VTH sont des produits utilisés en post-levée, c'est-à-dire sur des cultures et des adventices déjà bien établies. Cette possibilité de traiter en post-levée, qui n'existait pas pour certaines cultures avant les VTH, permet théoriquement d'adapter le désherbage en fonction de la densité réelle d'infestation et du type d'adventices, et de leur nuisibilité probable pour la culture. Il deviendrait ainsi possible d'éviter un traitement, par exemple si un climat sec a réduit la levée des adventices, ou encore de ne traiter que les taches denses d'adventices si leur peuplement est agrégé. Les VTH contribueraient donc à éviter les traitements "d'assurance" réalisés en pré-semis des cultures, voire à raisonner les traitements de post-levée en fonction de modèles démographiques et de compétition. Cet effet n'est cependant pas spécifique aux VTH car il correspond à une démarche générale de la mise au point de nouveaux herbicides ou de nouvelles formulations plutôt orientée vers les traitements de post-levée.

#### *Utilisation de molécules ayant un meilleur profil environnemental*

Dans certains cas, on peut substituer une ancienne molécule sélective par une molécule plus récente dont le profil toxicologique ou écotoxicologique est meilleur et le grammage d'emploi plus faible. C'était le cas du glyphosate il y a 20 ans par rapport aux autres molécules disponibles. C'est aussi le cas pour les herbicides sélectifs récents, qu'ils soient ou non associés aux VTH, comme les inhibiteurs d'ALS (Couteux, 2011).

#### *Réduction des coûts*

Outre la possibilité de réduire le nombre de traitements, certains des herbicides utilisés avec les VTH, comme le glyphosate, sont bon marché et se substituent à des herbicides sélectifs souvent plus chers. C'est potentiellement le cas pour la betterave où un prix de revient de 150-200 €/ha pourrait être réduit des deux tiers par deux passages de glyphosate sur des VTH (Richard-Molard et al., 1996). D'autres alternatives sont cependant expérimentées (voir <http://www.itbfr.org/>, et Hermann, 2005).

#### *Garantie de pureté d'une récolte*

Dans le cas où la tolérance chez une variété hybride est apportée par le parent mâle, le désherbage au champ va supprimer toute plante non hybride, ainsi que tout hybride produit par un parent non désiré (Beverdorf et al, 1987, et voir le cas de la betterave). Il peut s'agir aussi de préserver la qualité de la récolte, outre la baisse de rendement due à la concurrence développée par des espèces apparentées, pour éviter que des graines de

sanve (*Sinapis arvensis*) se retrouvent avec le colza et augmentent le taux d'acide érucique au-delà des normes acceptées.

#### *Nouveauté pour une culture secondaire*

Le retrait du marché de molécules ne répondant plus aux normes Européennes peut laisser la culture "orpheline". Une variété tolérante est un moyen d'éviter l'abandon d'une culture dans le cas où seul le désherbage manuel est possible (Li, 2010).

#### *Possibilité de lutte contre les plantes parasites*

L'utilisation de mutants de cible (ALS, ACCase, EPSPS) est rendue possible pour lutter contre les plantes parasites comme le *Striga* sp. chez le maïs et l'*Orobanche* sp. chez le tournesol, car l'herbicide n'affecte pas la plante hôte mais est véhiculé intact chez le parasite (Radi et al., 2001; Groote et al., 2008).

### **3.1.1.3. Simplification du désherbage**

#### **3.1.1.3.1. Facilité d'utilisation**

Avant la commercialisation du soja et du maïs GM tolérant au glyphosate, les variétés tolérantes qui existaient étaient simplement utilisées au sein de rotations où chaque culture était accompagnée de son propre cortège d'herbicides, ce qui assurait une rotation des modes d'action des herbicides. Avec les cultures tolérantes au glyphosate, qui permettent de lutter contre un large spectre d'adventices monocotylédones et dicotylédones et avec une grande souplesse vis-à-vis du stade de développement des adventices, les agriculteurs américains ont rapidement adopté les variétés transgéniques TH chez le soja, le maïs et le coton. L'utilisation d'un seul produit simplifie le travail de l'agriculteur qui ne stocke plus qu'un seul désherbant qu'il connaît bien et manipule bien, et qui lui évite d'associer différentes matières actives pour compléter leurs spectres d'activité, ou encore de ne plus réaliser de désherbage mécanique d'appoint. Cela a entraîné une succession de traitements au glyphosate quelle que soit la culture dans la rotation et l'abandon d'une série de bonnes pratiques agronomiques : rotations longues, rotation des modes d'action des herbicides, utilisation de mélanges d'herbicides à modes d'action différents, programmes de désherbage et association à des interventions culturales. Ceci a contribué à une simplification excessive des conditions désherbage avec une homogénéisation des pratiques, mais a procuré des gains de temps de travail. Par exemple, dans le cas du colza, il n'est plus nécessaire d'utiliser la trifluraline qui nécessitait une incorporation dans le sol.

De plus, la simplification s'étend aux pratiques culturales car il y a compatibilité de la culture des VTH avec la réduction du travail du sol ou même le semis direct (voir section 3.1.2 et Chapitre 5). L'efficacité du désherbage chimique atteinte en système TH peut permettre de se passer du labour (opération nécessitant un tracteur puissant et réalisée à vitesse lente), voire de tout travail du sol avant semis, et de supprimer le désherbage mécanique, voire manuel. La suppression de ces opérations, et notamment le passage au non-labour, permettent donc un gain de temps ainsi qu'une économie de carburant et de matériel agricole. En Argentine ou aux Etats-Unis, le développement rapide et parallèle des systèmes sans labour et du soja Roundup Ready® en constitue une illustration claire : l'intérêt majeur des VTH est alors de permettre de supprimer le labour sans risque de ne pas maîtriser les adventices (voir 3.1.2 et chapitre 5).

#### **3.1.1.3.2. L'apparition des adventices résistantes**

Cette simplification du désherbage associée à l'usage répété de la même pression de sélection herbicide a aussi amené les conditions les plus appropriées au développement de populations d'adventices résistantes au glyphosate (Maxwell & Mortimer, 1994). Ils apparaissent naturellement de manière récurrente au sein d'une espèce préalablement complètement sensible. Ainsi, des érigerons, des amarantes et des ambrosies résistants sont apparus à partir de 2000 (VanGessel, 2001) et sont maintenant présents dans de nombreux états américains cultivant le coton, le soja et le maïs tolérant au glyphosate (Powles, 2008; Heap, 2010). Cela concernait 9% de la surface semée en variétés Roundup Ready® aux Etats-Unis en 2010 (un peu plus de 2% pour *Amaranthus palmerii*). On peut penser que ce phénomène aurait pu être retardé, voire évité, si des systèmes de culture moins simplifiés avaient été mis en œuvre. Par exemple, il n'existe aucun document décrivant un quelconque rapport

entre l'utilisation d'une variété tolérante conventionnelle dans un système classique et l'apparition d'adventices résistantes. En Australie de l'ouest, la résistance aux triazines est faiblement répandue chez les ravenelles, et elle se trouve plutôt dans les zones de culture ancienne du lupin (désherbé aux triazines) que dans les zones de culture des variétés de colza tolérantes aux triazines (Walsh et al., 2007).

On trouve maintenant des mises en garde des prescripteurs dans le cas des variétés Clearfield® et de l'usage des sulfonyle-urées chez d'autres cultures de la rotation. Dans le cas du tournesol, le problème principal est l'apparition de mauvaises herbes résistantes aux inhibiteurs d'ALS (Duroueix et al., 2010). On sait que c'est la famille la plus exposée à ce phénomène (Tranel & Wright, 2002). D'autre part, on utilise actuellement des inhibiteurs d'ALS dans toutes les cultures majeures à l'exception du colza et du tournesol. Ce ne sera plus le cas avec les nouvelles variétés et l'introduction de l'éthametsulfuron. En particulier, la culture du tournesol est déjà confrontée à l'ambrosie dans la vallée du Rhône au sens large (Duroueix et al., 2010). Les variétés résistantes de tournesol vont offrir aux agriculteurs une solution à ce problème et un engouement risque de se manifester. La richesse du sol en semences d'ambrosie et la longévité (plusieurs dizaines d'années) de celles-ci dans le sol, font que la sélection va s'opérer sur des populations extrêmement nombreuses d'une espèce dont on sait qu'elle a déjà produit ailleurs des populations résistantes aux inhibiteurs d'ALS (Heap, 2010).

### 3.1.1.3.3. Autres problèmes émergents

#### *Des espèces à risque*

De nouveaux problèmes sont apparus soit dans les autres cultures de la rotation, soit avec les variétés tolérantes elles-mêmes. Par exemple, si les triazines dans le colza contrôlent bien la ravenelle, elles sont moins efficaces sur l'ivraie (*Lolium rigidum*) qui est l'autre adventice principale dans les céréales. Le glyphosate, en revanche, permet un meilleur résultat sur l'ensemble d'une rotation (Stanton et al., 2010). Mais des adventices qui n'étaient pas auparavant des espèces déterminantes dans la conduite agronomique sont devenues préoccupantes : *Sesbania exaltata*, *Amaranthus rudis* et *Conyza* sp. dans le soja ; *Ipomea lacunosa* dans le maïs ; *Comelina diffusa* dans le coton, etc. (Shaner, 2000). Moins invoquée est la dérive de sensibilité de certaines adventices ; par exemple, les doses nécessaires pour détruire le chénopode blanc (*Chenopodium album*) ont progressivement augmenté au cours des 10 dernières années. Comme il est pour l'instant détruit par les doses homologuées, on ne parle pas de résistance (Owen, 2008). L'usage répété, grâce aux variétés tolérantes, des inhibiteurs d'ALS dans les années 1990, puis du glyphosate, a permis la multiplication de ces espèces peu sensibles à ces herbicides au moment du traitement. Pour autant, ces espèces ne sont pas devenues plus résistantes comme le montre la comparaison à 30 ans d'écart de populations d'*I. purpurea* (Baucom & Mauricio, 2010). Des interventions complémentaires sont donc devenues nécessaires pour contrôler ces plantes (Schutte et al., 2010).

#### *Glissements de flore*

On peut rapprocher ces observations du phénomène appelé "inversion de flore" en Europe à la suite de l'utilisation des dérivés hormonaux dans les années 1960 qui avait éliminé les dicotylédones en laissant le champ libre aux graminées (Longchamp et al., 1959). Ces changements de flore dépendent aussi beaucoup des conditions locales. Ainsi, une expérimentation multi-sites au Canada montre la progression d'un groupe d'espèces dans des rotations ne contenant pas de variétés tolérantes, alors que les espèces favorisées par les rotations contenant colza et blé tolérants au glyphosate sont différentes selon les sites (Harker et al., 2005). Par ailleurs, outre le spectre d'activité des herbicides, ce sont les modifications des systèmes de culture rendues possibles grâce à leur utilisation (voir section 3.1.2) qui peuvent entraîner des dérives de flore, ce qui n'a été cependant observé qu'entre grandes catégories : production biologique, intégrée ou conventionnelle (Hawes et al., 2010). Dans une compilation d'une série d'enquêtes auprès des agriculteurs américains, il ressort cependant que le pissenlit (*Taraxacum officinale*) et les amarantes sont apparus parmi les adventices les plus problématiques alors qu'elles n'étaient pas considérées auparavant (Johnson et al., 2009). Des expérimentations ont donc été mises en place pour évaluer l'efficacité de méthodes complémentaires pour limiter ces "glissements" de flore (Wilson et al., 2007). Les essais multiples à l'échelle du champ en Angleterre ont montré des changements d'abondance des espèces différents selon les cultures testées (maïs, betterave et colzas d'hiver et de printemps), mais il n'a pas été observé de modifications sur le plan fonctionnel de la flore adventice : variété tolérante ou variété conventionnelle traitées avec leurs herbicides correspondants ne retranchent ni n'ajoutent aucun type fonctionnel d'adventices (Squire et al., 2009).

#### 3.1.1.3.4. Programmes de désherbage

A côté de ces problèmes émergents, la recherche d'un optimum technique à chaque stade de croissance des cultures et à chaque étape de la rotation a entraîné l'expérimentation et l'adjonction d'autres options de désherbage. Il existe une large littérature technique concernant la comparaison des meilleurs programmes de désherbage sur différents types de variétés, mais il est difficile d'en tirer des généralités tant les milieux, les années climatiques, les programmes de désherbage et les cultivars sont variés (Askew & Wilcut, 1999; Bradley et al., 2000; Reddy & Whiting, 2000; Miller et al., 2010; Vidal et al., 2010). Ces publications montrent l'effet de différents régimes de traitement (types de produits, périodes et séquences d'application) sur la réduction des adventices les plus abondantes ou les plus menaçantes (Ferrell & Witt, 2002; Harker et al., 2004; Tingle & Chandler, 2004; Puricelli & Tiesca, 2005; Armel et al., 2008; Dillehay & Curran, 2010). On aurait pu espérer avoir un moindre, voire nul, recours aux herbicides agissant *via* le sol afin d'adopter une gestion intégrée du désherbage. Cependant, dans le cas du glyphosate, pour prévenir l'apparition de la résistance, il convient de lui associer un autre herbicide à large spectre. Les stratégies utilisées pour gérer la résistance en Amérique du nord et du sud (qui font souvent intervenir un herbicide de pré-levée) illustrent cette nécessité. Par ailleurs, la diversification de ces programmes de désherbage rend possible le contrôle des repousses d'une culture à l'autre même quand elles partagent le même herbicide principal (Beckie et al., 2006). Le cas s'est posé pour les repousses de maïs résistant au sethoxydime qui peuvent causer d'importantes pertes de rendement dans le soja (Young & Hart, 1997), puis à nouveau pour la résistance au glyphosate (Davis et al., 2008).

#### 3.1.1.4. Economie d'intrants

##### 3.1.1.4.1. Estimation des tonnages *a priori*

Les premières estimations des réductions des épandages d'herbicides sur les variétés transgéniques ont été très favorables. Il s'agissait de comparaisons en mini-parcelles de plusieurs options de traitement par l'herbicide toléré par la culture par rapport au programme de désherbage réalisé classiquement dans la région. Par exemple, pour une même efficacité de désherbage de la betterave en France, on pouvait supprimer les traitements de pré-levée et remplacer les mélanges pulvérisés en végétation par seulement deux passages de glyphosate en végétation, au lieu des quatre passages du programme régional (Richard-Molard et al., 1996). Et comme une partie des herbicides remplacés étaient de conception ancienne et nécessitaient des doses importantes de produit pour être efficaces, la masse d'herbicide épandue était aussi réduite. Ces données expérimentales ont été ensuite confirmées par des essais multi-locaux et pluriannuels, avec à la clé un rendement supérieur dû à un meilleur désherbage (Askew & Wilcut, 1999; Bradley et al., 2000; Reddy & Whiting, 2000).

Ce sont ce type de résultats qui ont ensuite été utilisés pour extrapoler les bénéfices sur un territoire entier à partir d'une dizaine de points de référence régionaux, où la pratique de désherbage conventionnel des années 1990 la plus répandue était comparée à celle de la culture GM (Gianessi, 2005). D'après le calcul fait sur ces bases, une économie de 27 600 tonnes d'herbicide aurait été réalisée en 2005 aux USA, soit environ 10% des herbicides agricoles (Sankula, 2006). En extrapolant aux superficies GM mondiales depuis le début de leur utilisation, et en s'appuyant sur des dires d'experts pour la ligne de base, on aboutirait à une économie de 352 000 tonnes d'herbicides en dix ans (Brookes & Barfoot, 2010). La faiblesse de ce bilan est cependant l'évaluation de la ligne de base, à savoir la consommation d'herbicides dans le système de référence conventionnel, car en réaction les industries concurrentes ont fait des efforts dans l'efficacité de leurs produits. De plus, l'apparition des problèmes cités plus haut ont fait évoluer les conditions de désherbage dans le nouveau système de culture.

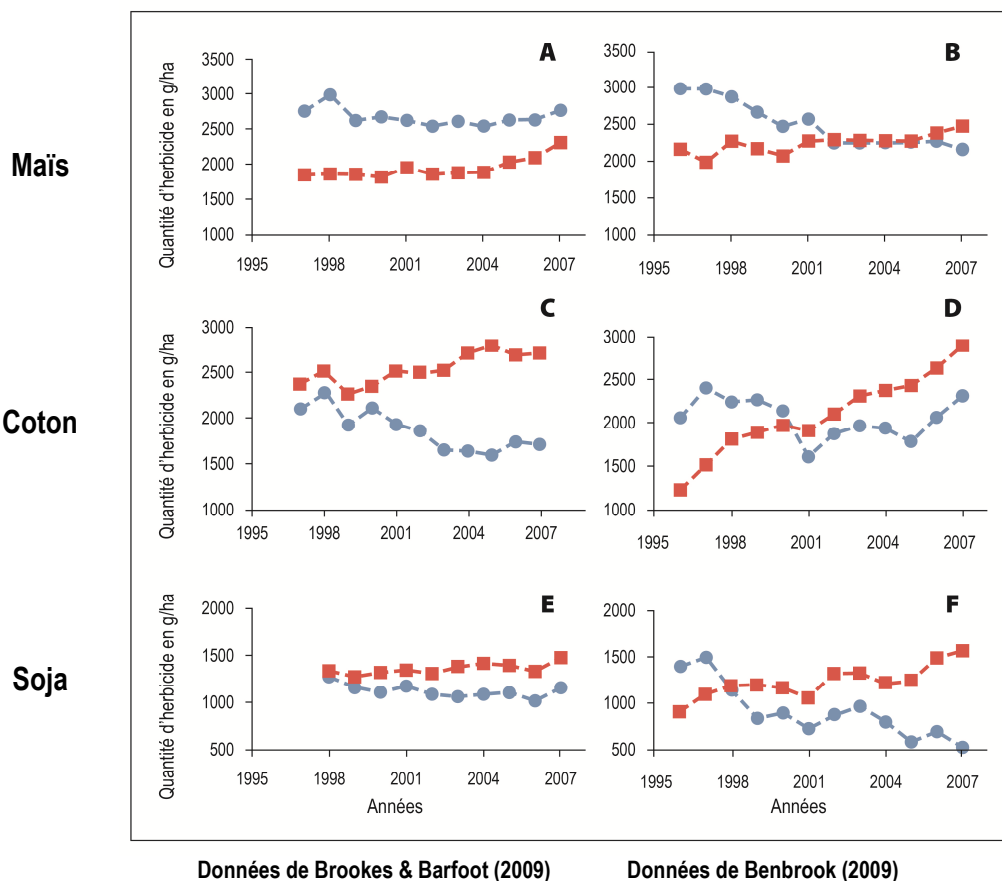
##### 3.1.1.4.2. Estimation des tonnages *a posteriori*

En alternative à ces estimations, l'évaluation *a posteriori* des consommations effectives de pesticides a été rendue possible par les enquêtes quinquennales de 2002 et 2007 du service statistique de l'USDA et celles réalisées par un cabinet d'étude privé (DMRKynetec). On constate alors qu'après quelques années où les cultures TH étaient effectivement les plus économes en quantités de matières actives épandues, une diversité de situations apparaît. Selon Fernandez-Cornejo et al. (2009), le total des quantités de glyphosate et des autres herbicides utilisés aux USA était réduit d'un cinquième en 2007 par rapport à 1996 pour le maïs, mais inchangé pour le coton et en augmentation de 10% pour le soja. L'interprétation dans le détail apparaît cependant difficile, car tous les indicateurs n'ont pas été recueillis systématiquement.

Selon Brookes & Barfoot et pour la même période (2009, tableaux 33, 39 et 43), c'est 17% en moins d'herbicide par hectare pour le maïs TH, mais 58% de plus pour le coton TH, et 27% de plus pour le soja TH. Ces auteurs interprètent la surconsommation apparente par le fait que les agriculteurs n'utilisant pas la stratégie TH sont ceux qui ne rencontrent pas de gros problèmes de désherbage dans leurs champs, et donc n'ont pas lieu de désherber intensivement, au contraire de ceux qui ont adopté les VTH. Pour lever ce biais, ils utilisent une méthodologie d'estimation plus détaillée (Sankula, 2006) afin de comparer des situations où les intensités de désherbage seraient similaires : on obtiendrait alors une économie des quantités épandues de 21% pour le maïs, 23% pour le coton et 7% pour le soja, en moyenne sur le territoire des USA.

Ces économies sont moindres que celles annoncées initialement, la tendance étant à l'augmentation des quantités d'herbicides utilisés par les cultures GM TH: de 1996 à 2007, on note 25% d'augmentation chez le maïs, 13% chez le coton et 11% chez le soja (tiré des tableaux 33, 39 et 43 de Brookes & Barfoot, 2009). Le rapport de Benbrook (2009), qui s'appuie sur des sources NASS fédérales mais a aussi ses propres méthodes d'estimation, montre que les cultures GM entraineraient une surconsommation en matière active de 10% pour le maïs, 23% pour le coton et 330% pour le soja par rapport aux équivalents non-GM TH en 2007. Les données des tableaux des deux types d'évaluations (Benbrook, 2009; Brookes & Barfoot, 2009) montrent que le différentiel de consommation d'herbicide entre les deux types de cultures, qui était initialement en faveur des VTH, est maintenant défavorable dans le cas du soja et du coton (Figure 3-1).

**Figure 3-1.** Evolutions de la consommation moyenne d'herbicides, aux Etats-Unis, pour les cultures transgéniques TH (carrés rouges) et non-TH (ronds bleus), de maïs, coton et soja, selon 2 rapports



Source : Darmency, 2010

Ces tendances sont confirmées dans le rapport 2011 (Brookes & Barfoot, 2011) avec des indications similaires pour le soja au Canada, au Brésil et en Argentine. La consommation d'herbicide en maïs TH resterait encore bénéficiaire par comparaison aux variétés non-TH, malgré une forte réduction de l'écart. Le colza TH reste aussi largement avantageux aux USA et au Canada, au contraire de la betterave sucrière (mais dans ce cas de commercialisation la plus récente, il y a encore peu de recul).



On a vu ci-dessus que certaines adventices étaient difficiles à détruire avec le glyphosate, soit parce qu'elles sont moins sensibles que d'autres, soit qu'elles arrivent à trouver un créneau de développement. Leur multiplication dans les champs a entraîné des difficultés de désherbage conduisant à une augmentation des doses et/ou du nombre de passages de glyphosate en dix ans : 39% en plus pour le maïs, 200% pour le coton, et 98% pour le soja (Benbrook, 2009). A part l'augmentation de la dose de glyphosate, la réponse à ce problème nécessite l'usage additionnel d'autres désherbants de synthèse, généralement appliqués en pré-levée, pour détruire spécifiquement les plantes résistantes. Ainsi, le "Roundup Ready® Corn 2 system" (monsanto.com) préconise des traitements en pré-semis contenant alachlor, acetochlor, atrazine ou diuron, plus éventuellement 2,4-D, dicamba et diuron en association avec le glyphosate. Ces produits supplémentaires doivent être épandus à des doses de matières actives bien supérieures à celle du glyphosate, et leurs profils écotoxicologiques sont nettement moins bons.

#### **3.1.1.4.3. Impact environnemental *a priori***

La quantité de produits de synthèse est souvent utilisée comme un indicateur de pression environnementale, mais peut-on comparer au kg près des matières actives très différentes ? Dans la majorité des cas, l'efficacité moyenne du désherbage n'a pas été modifiée. Si un indice d'efficacité biologique sur les adventices était calculé, il serait resté inchangé. Afin d'envisager les effets sur d'autres organismes, il a été proposé divers autres indicateurs que le tonnage d'herbicide, en particulier l'index d'impact environnemental, EIQ, qui a été utilisé pour suivre la réduction de l'usage des pesticides en Angleterre (Cross & Edwards-Jones, 2006). Cependant, c'est une valeur unique qui fait la synthèse des aspects concernant les applicateurs, les consommateurs et l'environnement. Elle est calculée sur la base de quelques descripteurs assignés à des valeurs arbitraires, et est donc très approximative et indépendante des formulations commerciales, des conditions d'usage et du milieu d'application. Des estimateurs multicritères régionalisés seraient mieux appropriés (Kleter et al., 2008) ainsi que l'utilisation de modèles simulant plus précisément le devenir des pesticides dans l'environnement (Mamy et al., 2011). A défaut d'autre évaluation de l'impact environnemental, le calcul de l'EIQ suggère un allègement de l'effet des pesticides de 16% lié au remplacement des programmes conventionnels par le glyphosate (Brookes & Barfoot, 2010).

#### **3.1.1.5. Conclusion**

Il existe de nombreuses motivations conduisant à l'adoption de variétés tolérantes à un herbicide. Elles s'inscrivent toutes dans une logique d'utilisation des herbicides pour gérer les effets nuisibles des adventices, pratique popularisée depuis le milieu du 20<sup>e</sup> siècle et prise comme référence. Elles offrent des solutions techniques de substitution pour résoudre des problèmes de désherbage. Les augmentations de rendement dues aux variétés tolérantes, quand elles sont attestées, proviennent d'un meilleur désherbage du fait de l'efficacité de la matière active, d'une période d'application plus appropriée, d'absence d'effet phyto-toxique sur la culture, ou encore d'un spectre d'activité élargi. Outre cet aspect technique, elles permettent souvent d'utiliser des herbicides meilleur marché et de standardiser les procédures tout en gagnant du temps de travail. La mise au point du génie génétique a permis leur développement sur de grandes surfaces, 61% des 148 Mha cultivés en variétés GM, en particulier 81% du soja mondial (James, 2010). Ces variétés permettent une simplification du désherbage qui a progressivement entraîné des dérives de flore et l'apparition d'adventices résistantes. Ces problèmes émergents ont altéré leur efficacité et demandé des solutions de désherbage complémentaires revenant à des programmes de désherbage plus diversifiés mais aussi à une augmentation des tonnages d'herbicides utilisés par rapport aux économies initiales réalisées.

### **3.1.2. Effets de la simplification du contrôle non-chimique des adventices sur la flore adventice**

*Nathalie Colbach*

#### **3.1.2.1. Introduction**

L'introduction des VTH dans les systèmes de culture s'accompagnera certainement de changements dans les pratiques agricoles. Le plus probable de ces changements est la simplification ou même l'abandon du travail du

sol. Le travail du sol est toute perturbation du sol avant le semis de la culture. Historiquement, cette opération, et particulièrement le labour, était un élément-clé pour le contrôle des adventices. Mais ses objectifs sont multiples et comprennent aussi la création d'une structure du sol favorable à la levée et l'enracinement de la culture.

La simplification ou l'abandon du travail du sol sont fréquemment rapportés après l'introduction des VTH transgéniques aux USA (Fernandez-Cornejo & McBride, 2002; Fawcett & Towery, 2004; Nafziger, 2004; English et al., 2005; Cerdeira & Duke, 2006; Frisvold et al., 2009; Givens et al., 2009), au Canada (Derksen et al., 1999), en Argentine (Trigo & Cap, 2003; Fawcett & Towery, 2004; Cerdeira & Duke, 2006), en Espagne (Costa et al., 2001). Cette tendance semble être cependant plus fréquente pour des cultures comme le soja (Trigo & Cap, 2003; Nafziger, 2004; Cerdeira & Duke, 2006; Beckie & Owen, 2007) ou le coton (Banerjee et al., 2009; Frisvold et al., 2009) que pour des cultures comme le maïs qui sont aussi cultivées à grande échelle en France (Givens et al., 2009). La raison essentielle de changement est le gain de temps et, dans une moindre mesure, la lutte contre l'érosion, avec l'apparition du "*conservation tillage*"<sup>2</sup> en Amérique du Nord.

Le gain de temps est également une des raisons d'autres changements de pratiques probables comme l'avancée des semis de certaines cultures (Davies & Finney, 2002) et l'abandon du désherbage mécanique<sup>3</sup> et manuel en betterave sucrière (Richard-Molard et al., 1996; May, 2003). Un des grands attraits des betteraves sucrières GM tolérantes au glyphosate et à d'autres herbicides non sélectifs (Richard-Molard et al., 1996; May, 2003) est d'ailleurs de disposer enfin d'un herbicide efficace contre la betterave adventice (*Beta vulgaris* spp. *vulgaris*), adventice apparentée à la culture (Hornsey & Arnold, 1979; Boudry et al., 1993; Desplanque et al., 1999). Dans les variétés non-TH, du désherbage mécanique et, surtout, du désherbage manuel sont indispensables pour éviter l'apparition et l'expansion des populations de betteraves adventices. L'abandon du travail du sol rendrait possible une pratique agricole innovante que sont les couverts permanents ("mulchs vivants"), couvrant le sol toute l'année. Cette couverture améliorerait considérablement la lutte contre l'érosion et limiterait également la lixiviation des nitrates vers les nappes phréatiques (voir section 3.1.2.6).

L'objectif principal de cette partie est l'étude des conséquences de la simplification du contrôle non chimique des adventices suite à l'adoption de VTH sur cette flore adventice, en mettant l'accent sur la composition spécifique. La variabilité intra-spécifique, notamment l'apparition de résistance à des herbicides, sera surtout traitée à la section 3.2. L'essentiel de cette section 3.1 se concentrera sur le facteur majeur qu'est le travail du sol, en distinguant l'abandon du labour (en tant que modification la plus probable dans les conditions françaises) de l'abandon total du travail du sol. Pour ce dernier cas, on étudiera aussi deux conséquences associées possibles, les mulchs vivants et l'avancée des semis. Ensuite, des parties plus courtes examineront les effets non intentionnels sur la production agricole ainsi que la capacité de ces changements de pratiques à limiter l'érosion et d'autres effets néfastes de l'agriculture sur l'environnement. A noter que la question du bilan agronomique et environnemental de l'abandon du labour dépasse largement le cadre de cette expertise.

### 3.1.2.2. Méthode utilisée et description des publications analysées

#### 3.1.2.2.1. Effet du travail du sol sur la flore adventice

Les sections concernant les effets du travail du sol (labour *versus* non-labour, travail du sol *versus* semis direct) sur la flore adventice sont les plus complètes. Elles sont fondées sur l'analyse de la base bibliographique ESCo VTH, complétée par des références bibliographiques n'abordant pas les VTH (portant notamment sur les processus liés à l'effet du travail du sol). N'ont été retenus que les travaux comparant des parcelles situées dans des conditions pédo-climatiques suffisamment proches pour ne pas confondre les effets de la région et du travail du sol (e.g. Gulden et al., 2010). Ont été éliminées les études provenant de régions et/ou cultures trop différentes des grandes cultures françaises. Ont aussi été ignorées les études provenant de l'agriculture biologique où la pression adventice est généralement très différente de celle des systèmes à base d'herbicides. Les publications scientifiques (avec comité de lecture) ont été préférées aux travaux présentés à des congrès et aux articles de vulgarisation, surtout si les conditions expérimentales étaient insuffisamment décrites. La plupart des travaux

---

<sup>1</sup> <http://www.asa-europe.org/>

<sup>2</sup> Tout travail du sol laissant plus de 30% de la surface du sol couverte avec des résidus végétaux après le semis de la culture (Fawcett & Towery, 2004).

<sup>3</sup> Passage d'une bineuse ou d'outils similaires dans l'interrang.

synthétisés ici ne concernent pas des VTH, mais ont été menés sur des cultures classiques, en grande partie d'Amérique du Nord, d'avant l'apparition des cultures GM TH. Beaucoup d'articles sur les VTH GM ne peuvent pas être utilisés ici parce qu'ils ne distinguent pas l'effet VTH de l'effet de la simplification/abandon du travail du sol puisque les deux vont souvent ensemble. Un grand nombre de travaux concerne cependant des espèces adventices résistantes à des herbicides, ce qui est un artefact dû à la constitution de la base ESCo VTH sur la base des mots-clés "résistance" et "herbicides").

#### 3.1.2.2. Effet des autres pratiques agricoles étudiées sur la flore adventice

Le même principe a été utilisé pour l'étude des autres changements de pratiques agricoles, en complétant par des recherches bibliographiques spécifiques hors base ESCo, pour ne pas être limité par les mots-clés "résistance" et "herbicides". Cette approche a surtout été fructueuse pour les mulchs vivants bien que les recherches sur l'effet du mulch vivant n'en soient qu'à leur début, notamment en France (e.g. Carof et al., 2007). La même méthode a été utilisée pour l'effet de la date de semis. Cependant, peu de travaux ont effectivement été réalisés en semis direct ou travail du sol de conservation (Harker et al., 2005). Les travaux analysés ici datent essentiellement d'avant l'apparition des variétés TH et ont plutôt étudié l'effet d'un retard de semis comme moyen de gérer les adventices.

Il y a peu de littérature utilisable sur le cas particulier de l'abandon du désherbage mécanique et manuel en betterave sucrière, cette pratique n'existant pas vraiment au champ. Il existe certes une importante littérature sur les effets du désherbage mécanique sur la flore adventice, mais elle ne nous apprendra pas grand-chose dans un contexte de remplacement du désherbage mécanique par des traitements herbicides, notamment non-sélectifs, en culture. Les quelques résultats existants ont été obtenus à l'aide de modèles de simulation élaborés par l'INRA Dijon (Sester et al., 2007; Tricault et al., 2009; Colbach et al., 2010a).

#### 3.1.2.3. Effets secondaires sur la production agricole et les états du milieu

Aucune recherche bibliographique spécifique concernant l'effet des pratiques agricoles analysées sur la production agricole et les états du milieu n'a été faite dans le cadre de ce travail, puisque la présente synthèse avait comme objectif d'étudier l'impact sur les adventices. Les sections en question sont basées uniquement sur les références listées dans le corpus ESCo et ne couvrent donc qu'une faible partie des connaissances existant, notamment en ce qui concerne l'élaboration du rendement. Certains travaux non européens ne peuvent pas nécessairement être extrapolés aux conditions françaises<sup>4</sup>.

#### 3.1.2.3. Effet de la simplification ou de l'abandon du travail du sol sur la flore adventice

##### 3.1.2.3.1. Identification des processus liés à l'effet du travail du sol

Le travail du sol a de nombreux effets directs et indirects sur la flore adventice (Figure 3-2). Le labour (travail du sol profond et inversant, avec une charrue à versoir) est un cas particulier dans la mesure où il maximise généralement tous ces effets. La plupart des effets de l'abandon du travail du sol vont être similaires à ceux de l'abandon du labour, en exacerbant les tendances observées.

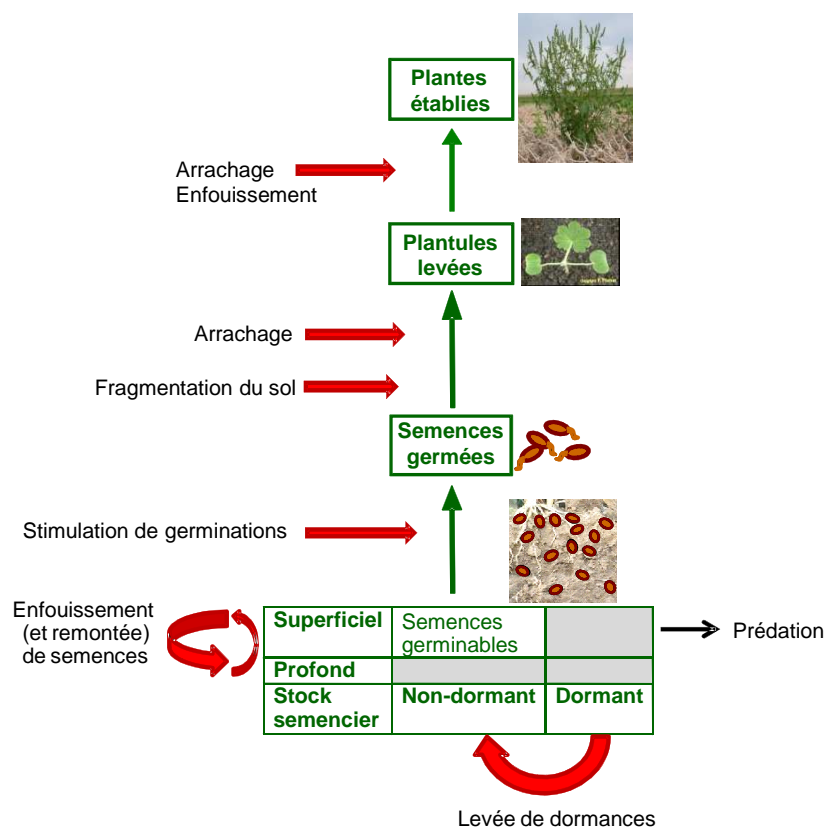
Le travail du sol :

- **enfouit les semences adventices les plus récemment produites et remonte une partie des semences plus anciennes** (Cousens & Moss, 1990; Grundy et al., 1999; Colbach et al., 2000; Roger-Estrade et al., 2001; Gruber et al., 2010) (Figure 3-3). Or la germination et la probabilité de levée diminuent fortement avec la profondeur des semences (Clements et al., 1996; Bàrberi & Lo Cascio, 2001; Benvenuti et al., 2001; Colbach & Dürr, 2003; Gardarin et al., 2010a), avec une sensibilité qui diminue cependant avec la taille des semences de la population (Colbach & Dürr, 2003) ou l'espèce (Gardarin et al., 2010a).

---

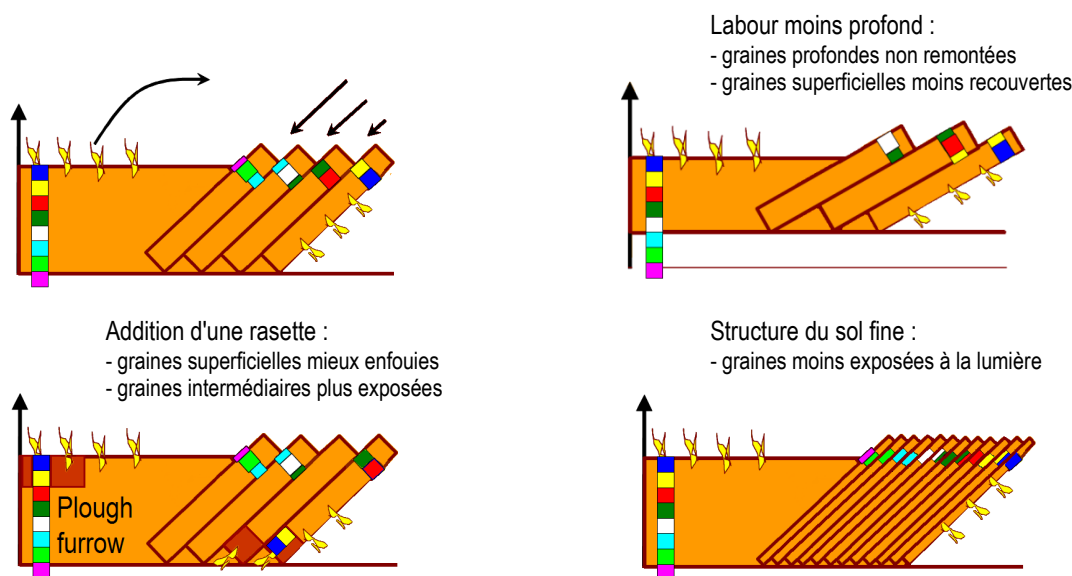
<sup>4</sup> Exemple des études canadiennes sur l'effet de l'avancée du semis du colza sur le rendement puisqu'au Canada: avancer le semis équivaut à le déplacer du printemps à l'automne, risquant ainsi des pertes hivernales (Kirkland & Johnson, 2000; Clayton et al., 2004a; Clayton et al., 2004b) ; en France, cela équivaut à le déplacer de fin août à juillet, augmentant le potentiel de rendement.

**Figure 3-2.** Représentation schématique des effets majeurs du travail du sol sur les différents stades des adventives



Crédit N. Colbach

**Figure 3-3.** Conséquence du labour sur la position des semences d'adventices basé sur Colbach et al., 2000 et Roger-Estrade et al., 2001



Une des raisons de la meilleure germination proche de la surface du sol sont les alternances de températures et humidités plus fortes (Thompson & Grime, 1983), alternances souvent nécessaires pour lever les dormances des semences (Thompson et al., 1977; Colbach et al., 2002a; Colbach et al., 2002b).

Cependant, en cas d'abandon du travail du sol, les semences adventives se concentrent sur la surface du sol (Clements et al., 1996; Bàrberi & Lo Cascio, 2001), réduisant ainsi l'imbibition et la germination des semences

adventices et donc la levée des espèces sensibles à cet effet (Gardarin, 2008). La germination de certaines autres espèces est par contre favorisée lorsque les semences se retrouvent en surface (ex. *Stellaria media*, *Capsella bursa-pastoris*, Gardarin, 2008). La remontée des semences par le labour n'a d'effet que pour les espèces dont les semences survivent pendant le temps d'enfouissement. Or la persistance des semences varie fortement entre espèces (Lonchamp et al., 1984; Barralis et al., 1988; Thompson et al., 1993), diminuant lorsque les semences germent ou meurent. Ce dernier processus dépend par exemple de l'épaisseur des téguments des semences (Gardarin et al., 2010b).

- **expose les semences à la lumière et les change de milieu**, ce qui peut contribuer à lever des dormances et stimuler des germinations (nombreuses références, dont Dickens & Moore, 1974; Froud-Williams et al., 1984; Bliss & Smith, 1985; Baskin & Baskin, 1990; Bouwmeester & Karssen, 1993; Bai et al., 1995; Andersson et al., 1997; Buhler, 1997; Forcella et al., 2000; Benvenuti et al., 2001; Colbach et al., 2002a; Colbach et al., 2002b; Vidal et al., 2007), et ce sur une profondeur bien plus importante que les autres modalités de travail du sol.

- **détruit les plantes adventices ayant levé auparavant** (par arrachage et enfouissement), avec une mortalité variant avec le stade et l'espèce des adventices et des caractéristiques du travail du sol (Kurstjens & Perdok, 2000; Kurstjens et al., 2000; Kurstjens & Kropff, 2001). Le labour est particulièrement efficace puisqu'il travaille profondément et inverse le sol. Le labour fragmente aussi les organes souterrains des espèces pérennes, ce qui en détruit certains mais contribue à disperser d'autres (Légère & Samson, 2004).

- **fragmente les mottes de terre et produit ainsi une structure du sol plus fine** (Hughes & Baker, 1977; Roger-Estrade et al., 2000; Chatelin et al., 2005)<sup>5</sup>, ce qui diminue la mortalité pré-levée des adventices (Terpstra, 1986; Colbach et al., 2006; Gardarin et al., 2010a), mortalité qui diminue avec la taille des semences de l'espèce adventice (Terpstra, 1986; Gardarin et al., 2010a).

- **réduit la présence de matière organique et résidus de culture en surface du sol** (notamment de cultures GM TH, Lachnicht et al., 2004). Une accumulation de ces résidus peut limiter l'efficacité de certains herbicides (Parochetti et al. 1979; Orson & Livingston, 1987), en jouant le rôle de parapluie ou en absorbant les molécules à mode de pénétration racinaire (e.g. Kudsk et al., 2007; Asai & Yogo, 2010). En cas de forte accumulation comme en semis direct, ces résidus peuvent aussi être un obstacle à la levée des adventices (Reddy, 2003; Anderson, 2004).

- **peut réduire la prédation de semences adventices par la macro-faune** (Baraibar et al., 2009) et pourrait ainsi favoriser la survie d'espèces fortement consommées. Cependant, ces effets ne sont étudiés que depuis peu et les conclusions ne sont pas encore claires (voir section 3.3.2.2).

Le travail du sol est donc à l'origine de processus dont certains favorisent et d'autres défavorisent la levée et la reproduction des adventices ; de plus, ces effets et leurs poids relatifs dépendent des espèces adventices (pérennes *versus* annuelles, taille et persistance des semences). En plus de cette multitude d'effets, l'analyse de la littérature est rendue difficile par la diversité des outils (le labour et le non-travail du sol sont comparés à une multitude d'outils de fonctionnement et d'effet contrastés) et des conditions au moment de l'opération, résultant dans une variabilité d'effets pour un "même" changement de pratique analysé (abandon du labour, abandon du travail du sol). De plus, les effets dépendent considérablement de l'échelle d'analyse, avec, par exemple, une augmentation à court terme (levée après l'opération) et une diminution à moyen et long terme (infestation des cultures et des rotations). L'analyse de la littérature ne se limite pas seulement à synthétiser les tendances observées, mais tente aussi de comprendre les raisons de divergences pour arriver à des conclusions plus génériques.

### 3.1.2.3.2. Effet de l'abandon du labour sur la flore adventice

#### *Augmentation des graminées annuelles*

Pour les graminées annuelles ayant des semences petites et/ou à persistance limitée (*Avena fatua*, *Alopecurus myosuroides*, *Lolium rigidum*), la conclusion basée aussi bien sur des expérimentations (Orson & Livingston, 1987; Moss & Clarke, 1994; Chauvel et al., 2001; Torra et al., 2003; Douglas & Peltzer, 2004; Peltzer & Matson, 2006; Moss et al., 2007; Chauvel et al., 2009; Cirujeda & Taberner, 2009), que des enquêtes (Moss et al., 2010) et des simulations (Cavan et al., 2000; Cavan et al., 2001; Drobny et al., 2006; Colbach et al., 2007; Colbach et al., 2010a; Colbach et al., 2010b; Moss et al., 2010), est claire. Le labour permet de réduire considérablement (de

<sup>5</sup> Ce qui peut aussi augmenter le risque d'érosion, mais ce n'est pas la question ici.

plusieurs ordres de grandeur) les fortes infestations par les adventices, qu'elles soient résistantes ou non, dans des conditions aussi différentes que la France (Colbach et al., 2007; Colbach et al., 2010a; Colbach et al., 2010b), la Grande-Bretagne (Orson & Livingston, 1987; Moss & Clarke, 1994; Cavan et al., 2000; Cavan et al., 2001; Chauvel et al., 2001; Moss et al., 2007; Chauvel et al., 2009; Moss et al., 2010), l'Allemagne (Drobny et al., 2006), l'Espagne (Torra et al., 2003; Cirujeda & Taberner, 2009) ou l'Australie (Douglas & Peltzer, 2004; Peltzer & Matson, 2006). L'effet du labour est non seulement visible dans la culture suivante, mais pendant plusieurs années après (Douglas & Peltzer, 2004; Colbach et al., 2010a; Colbach et al., 2010b).

#### *Apparition de résistances à des herbicides*

Dans le cas des graminées annuelles en Europe, des simulations et enquêtes montrent que le labour annuel, comparé au non-labour, retarde l'apparition des résistances à des herbicides de 8 à 20 ans suivant l'espèce et/ou la mutation, de 3 à 20 ans suivant la fréquence de labour (*Avena fatua* résistant aux aryloxyphenoxypropionate et cyclohexanedione (Cavan et al., 2001); *Alopecurus myosuroides* résistant aux aryloxyphenoxypropionate et cyclohexanedione (Cavan et al., 2000); *A. myosuroides* résistant aux ALS (Moss et al., 2010)). Ce type de tendance a également été observé sur des adventices et des dicotylédones dans des enquêtes pluri-annuelles en grandes cultures au Canada (Beckie et al., 2008). La raison en est la même dans tous les cas : le non-labour permet plus de reproduction d'adventices, augmentant ainsi le risque d'apparition de mutation conférant une résistance, et réduit les moyens de lutte non-sélectifs des résistances.

#### *Augmentation des repousses de culture*

De même, les repousses et espèces apparentées des cultures à petites semences peu dormantes et peu persistantes comme le colza sont également favorisées par l'abandon du labour, comme le montrent aussi bien des expérimentations (Roller et al., 2002; Roller et al., 2003; Gruber et al., 2004) que des simulations (Squire et al., 1997; Colbach et al., 2008; Colbach, 2009). L'effet du labour peut cependant être gommé en cas de très forte pluie de semences récurrente en cultures de colza, due à la déhiscence précoce des siliques causant une perte de semences proche de 100% (Squire et al., 1997). Des observations similaires ont été rapportées pour les repousses de blé (Christian, 1993), dont les semences sont très peu persistantes (Gruber et al., 2008).

Le cas des repousses de culture et des espèces apparentées est particulièrement important puisque ces types d'adventices peuvent se croiser avec les VTH et ainsi récupérer des allèles de tolérance à des herbicides. Il y a ainsi apparition de populations d'adventices plus difficiles à gérer (voir section 3.2.1.1). De plus, ces repousses et apparentées de culture participent aux flux de gènes entre VTH et autres variétés, contribuant à la présence de gènes ou allèles étrangers à la récolte de ces dernières, et pouvant ainsi les exclure de filières hypothétiques non-VTH (voir section 3.2.2).

#### *Augmentation des espèces pérennes*

Un autre type d'espèces clairement favorisé par la réduction et l'abandon du labour sont les pérennes, dans des conditions aussi différentes que l'Italie (Catizone et al., 1990), la France (Vullioud, 1981), l'Allemagne (Pekrun & Claupen, 2004), la Norvège (Torresen & Skuterud, 2002; Tørresen et al., 2003), le Canada (Légère & Samson, 2004; Carter & Ivany, 2006), les USA (Miller & Nalewaja, 1985; Buhler et al., 1994; Murphy & Lemerle, 2006). La raison en est une moindre destruction des organes de survie souterrains. Ces observations proviennent uniquement d'enquêtes (Vullioud, 1981) et d'essais pluri-annuels au champ (les autres).

Certains types de pérennes peuvent cependant être favorisés par le travail du sol, y compris le labour. Il s'agit d'espèces dont le fractionnement des organes favorise la multiplication dans le champ, comme *Elytrigia repens* (Légère & Samson, 2004).

#### *Effet variable en fonction de la rotation pour les dicotylédones*

Les espèces à semences plus persistantes (car plus dormantes et/ou moins sensibles à la mortalité), comme beaucoup de dicotylédones, ne sont pas beaucoup affectées par le labour (Morris et al., 2010) ou sont même favorisées puisque l'enfouissement protège les semences de la prédation et des germinations fatales (Lutman et al., 2002). Pour la maîtrise de telles espèces, la réduction de la fréquence de labour peut être bénéfique (ex. *Chenopodium album*, *Brassica* spp., *Raphanus* spp. : Buhler et al., 1994; Clements et al., 1996; Liebman et al., 1996), particulièrement si ce labour occasionnel est réalisé après une culture où il enfouit plus de semences qu'il

n'en remonte (*Raphanus raphanistrum*, Murphy et al., 1999 ; ex. *Papaver rhoeas*, Cirujeda et al., 2003; Torra et al., 2003). Et même dans les cas où le labour réduit systématiquement la levée, il peut être plus intéressant à long terme de ne labourer qu'avant la culture (la betterave sucrière) où l'adventice (*B. vulgaris* spp. *vulgaris*) lève et se reproduit le mieux, mais de ne pas labourer avant les cultures où l'adventice se reproduit peu ou bien où l'on dispose de solutions herbicides pour vider le stock semencier en maximisant les germinations (Sester et al., 2008; Tricault et al., 2009).

*Quel est le changement de flore résultant ?*

Ces interactions entre caractéristiques des espèces adventices, histoire culturale et labour résultent, à long terme, dans un changement de la flore adventice en cas d'abandon du labour. En terme d'abondance et de richesse spécifique, la tendance observée dans les études pluri-spécifiques peut être très variable (ex. Légère & Samson, 2004; Sosnoskie et al., 2009), en fonction de la flore initialement présente et du potentiel régional. De nombreuses publications observent sur le terrain (Buhler et al., 1994; Stevenson et al., 1997; Légère & Samson, 2004; Carter & Ivany, 2006; Murphy et al., 2006; Sosnoskie et al., 2009) ou prédisent par simulation (Fykse et al., 2002) malgré tout une augmentation, tant en terme de densité que de nombre d'espèces. Et tous les travaux concordent sur le changement de la composition spécifique, avec une augmentation des pérennes et des graminées à semences petites et/ou à persistance limitée.

*Effet sur les parcelles voisines*

En cas d'adventices dont les semences sont facilement dispersées par le vent, l'abandon du labour facilite également leur dispersion vers et à partir des champs voisins (Puricelli & Tuesca, 2005b). La dispersion de pollen vers les champs voisins peut aussi contribuer à répercuter l'effet de l'abandon du labour vers les champs voisins, par exemple avec une réduction dans le cas d'espèces à semences persistantes (ex. *Beta vulgaris* spp. *vulgaris*, Sester et al., 2008) et une augmentation dans le cas d'espèces à semences petites et peu persistantes (ex. *Brassica napus*, Colbach, 2009). Ces derniers effets ont cependant surtout été démontrés par simulations. L'effet sur les parcelles voisines est particulièrement important lorsqu'on s'intéresse au flux de gènes et allèles des VTH vers les repousses et apparentées de culture (section 3.2.1) ou vers d'autres variétés (section 3.2.2).

*Importance de l'efficacité des herbicides*

En plus des études sur les dicotylédones peu sensibles au labour, un certain nombre de travaux rapporte l'absence d'effets de l'abandon du labour sur la flore adventice, en cas de programmes herbicides efficaces, conventionnel (Mulugeta & Stoltenberg, 1997) ou associé à une VTH (ex. riz tolérant à l'imidazolinone, Levy et al., 2006 ; maïs et soja tolérants au glyphosate, Gulden et al., 2010). Ces études sont cependant en nombre assez faible, dont une qui ne permet pas de distinguer l'effet région de l'effet travail du sol (Gulden et al., 2010). De plus, d'autres études réalisées avec des VTH et herbicides associés indiquent bien un effet du labour sur le terrain (ex. Sosnoskie et al., 2009) et en simulation (Squire et al., 1997; Colbach, 2009). Plusieurs explications sont possibles pour cette variabilité d'effet : (1) l'état initial de la flore adventice, (2) l'efficacité de certains herbicides, y compris du glyphosate et d'autres herbicides non sélectifs, varie fortement avec les conditions d'application et le stade des adventices, (3) un effet cumulatif de l'abandon du labour, avec l'accumulation des semences dans les horizons superficiels du sol, qui ne peut se voir qu'après quelques années.

### **3.1.2.3.3. Effet de l'abandon du travail du sol**

*Réduction de la germination et de la levée d'adventices en semis direct*

Popay et al. (1994) rapportent ainsi une levée plus importante après travail du sol qu'en semis direct en Grande-Bretagne. Cet effet est fréquemment rapporté dans des conditions pédo-climatiques très diverses pour les adventices graminées au champ et en simulation (Tableau 3-1.A), mais avec un effet variable suivant l'humidité du sol au moment du travail du sol (*Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galli*, US, Buhler, 1997) (Colbach et al., 2006). Des réductions de levées sont également observées ou simulées en semis direct pour les dicotylédones (Tableau 3-1.B). Il découle deux tendances contradictoires de cet effet : si les adventices levées en interculture ne se reproduisent pas, il y a diminution du stock semencier à long terme (voir section 3.1.2.3.2) ; si par contre les adventices ne sont pas détruites, cette levée accrue conduit à une infestation croissante du champ.

**Tableau 3-1.** Synthèse des travaux rapportant une augmentation de la levée d'adventices en parcelles travaillées versus semis direct

| Pays                    | Condition            | Espèce adventice  | Référence                                    |
|-------------------------|----------------------|---|--|
| <b>A. Graminées</b>     |                      |   |  |
| USA                     | Champ                | <i>Setaria faberi</i> , <i>Setaria glauca</i> , <i>Setaria viridis</i> , <i>Echinochloa crus-galli</i>  | (Buhler, 1997)                               |
| Australie               | Champ                | <i>Lolium rigidum</i>   | (Davidson, 1990)                             |
| Australie               | Champ                | <i>Avena fatua</i> , <i>A. sterilis</i>   | (Martin & Felton, 1993)                      |
| France                  | Modèle de simulation | <i>Alopecurus myosuroides</i>   | (Colbach et al., 2006)                       |
|                         | Champ                | Repousses de blé  | (Harker et al., 2004)                        |
| <b>B. Dicotylédones</b> |                      |   |  |
| Australie               | Champ                | <i>Sisymbrium orientale</i>   | (Boutsalis & Powles, 1998)                   |
| France                  | Modèle de simulation | <i>Beta vulgaris</i> spp. <i>vulgaris</i>   | (Sester et al., 2008; Tricault et al., 2009) |
| USA                     | Champ                | <i>Xanthium strumarium</i>  | (Norsworthy & Oliveira, 2007)                |
| USA                     | Champ                | <i>Ambrosia trifida</i> , <i>Abutilon theophrasti</i> , <i>Chenopodium album</i> , <i>Solanum ptycanthum</i> , <i>Ambrosia artemisiifolia</i> , <i>Amaranthus powellii</i> , <i>Brassica kaber</i> , <i>Xanthium strumarium</i> | (Buhler, 1997)                               |

Cependant, il ne faut pas oublier que le travail du sol, surtout profond et/ou inversant, enfouit une bonne partie des semences à une profondeur où elles germent et lèvent mal, ce qui peut conduire à des réductions de levées en parcelles travaillées (*Conyza canadensis*, *Amaranthus retroflexus*, Italie, Bàrberi & Lo Cascio, 2001), surtout pour des espèces à petites semences dont la germination et la levée sont plus affectées par la profondeur des semences (Gardarin et al., 2010a).

*Des cultures en semis direct plus infestées à cause d'une moindre décroissance du stock semencier pendant l'interculture*

La réduction de la germination et levée d'adventices en l'absence de travail du sol induit un stock semencier plus important au semis de la culture suivante, et donc généralement une infestation plus importante des cultures en semis direct, notamment par des adventices graminées, dans des cultures et des conditions pédo-climatiques diverses (Tableau 3-2.A). Des observations similaires sont rapportées pour des dicotylédones (Tableau 3-2.B) et la flore en général, sans distinction d'espèces (Tableau 3-2.C).

**Tableau 3-2.** Synthèse des travaux rapportant des cultures plus infestées par des adventices annuelles en semis direct

| Pays                       | Condition            | Culture                | Espèce adventice   | Référence                                 |
|----------------------------|----------------------|------------------------|--|---|
| <b>A. Graminées</b>        |                      |                        |  |   |
| Australie                  | Champ                | Céréales, lupin        | <i>Lolium rigidum</i>                                    | (Davidson, 1990; Douglas & Peltzer, 2004) |
| USA                        | Champ                | Maïs et soja HT        | <i>Digitalis aegyptium</i>                               | (Norsworthy, 2008)                        |
| USA                        | Champ                | Millet                 | <i>Panicum miliaceum</i>                                 | (Anderson, 2000)                          |
| Argentine                  | Champ                | Maïs et soja HT, blé   | <i>Digitaria sanguinalis</i> ,                           | (Puricelli & Tiesca, 2005b)               |
| USA                        | Champ                | Soja HT                | <i>Echinochloa crus-galli</i> , <i>Brachiaria ramosa</i> | (Reddy, 2003)                             |
| France                     | Modèle de simulation | Colza, céréales, pois  | <i>Alopecurus myosuroides</i>                            | (Colbach et al., 2006)                    |
| Espagne                    | Champ                |                        | <i>Lolium rigidum</i>                                    | (Recasens et al., 2001)                   |
| <b>B. Dicotylédones</b>    |                      |                        |  |   |
| USA                        | Champ                | Soja HT                | <i>Sesbania exaltata</i> , <i>Senna obtusifolia</i>      | (Reddy, 2003)                             |
| Argentine                  | Champ                | Maïs et soja HT, blé   | <i>Parietara debilis</i>                                 | (Puricelli & Tiesca, 2005b)               |
| Australie                  | Champ                | Cultures d'hiver       | <i>Raphanus raphanistrum</i>                             | (Murphy et al., 1999)                     |
| USA                        | Champ                | Maïs, soja             | <i>Amaranthus hybridis</i>                               | (Ritter et al., 1985)                     |
| <b>C. Sans distinction</b> |                      |                        |  |   |
| Norvège                    | Modèle de simulation | Grandes cultures       |  | (Fykse et al., 2002)                      |
| USA                        | Champ                | Maïs, soja et coton HT |  | (Gardner & Nelson, 2008)                  |
| USA                        | Champ                | Maïs HT                | Espèces à levée précoce                                  | (Norsworthy, 2008)                        |
|                            | Synthèse             |                        | Espèces à petites graines                                | (Owen, 2008)                              |
| Allemagne                  | champ                | Maïs HT                |  | (Schier, 2006)                            |
| USA                        | Champ                | Maïs et soja HT        | Flore plus dense et plus diverse                         | (Sosnoskie et al., 2009)                  |



### Importance du contrôle des adventices levées avant et pendant la culture

Cependant, l'effet du "vidage du stock semencier" par le travail du sol n'est bénéfique que si les adventices levées pendant l'interculture sont détruites avant le semis de la culture suivante, par d'autres opérations de travail du sol ou des applications d'herbicides. Si ce n'est pas le cas, les parcelles travaillées peuvent être plus infestées que les parcelles en semis direct (*Lolium rigidum* HR, Australie, Davidson, 1990 ; *Chenopodium album*, Canada, Clements et al., 1996). Le glyphosate n'est d'ailleurs pas toujours suffisant pour nettoyer la parcelle avant le semis ; un travail du sol ou l'application d'un autre herbicide peuvent être nécessaires (*Polygonum convolvulus* ou *Salsola* ssp., Canada, Blackshaw & Lindwall, 1995).

Un programme herbicide efficace avant (USA, Buhler et al., 1994) et/ou pendant la culture peut également atténuer ou faire disparaître les différences entre parcelles travaillées et semées directement, en cultures classiques ou tolérantes à des herbicides (Tableau 3-3).

**Tableau 3-3.** Synthèse de travaux rapportant une atténuation ou une disparition du surplus d'infestation en semis direct versus parcelle travaillée en cas de programme herbicide efficace

| Pays      | Condition | Culture                      | Espèce adventice                     | Référence                        |
|-----------|-----------|------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| Australie | Champ     | blé et lupin                 | <i>Lolium rigidum</i>                | (Davidson, 1990)                 |
| USA       | Champ     | soja et maïs HT (glyphosate) | graminées, dicotylédones et pérennes | (Norsworthy, 2008)               |
| Allemagne | Champ     | maïs HT                      |                                      | (Schier, 2006)                   |
| USA       | Synthèse  | Cultures HT                  | Pérennes                             | (Nalewaja, 2001)(Nalewaja, 2003) |
| USA       | Champ     | Coton HT                     |                                      | (Askew et al., 2004)             |

### Effet réducteur des résidus de culture en surface en semis direct

D'autres effets peuvent limiter l'augmentation de l'infestation en semis direct. Il s'agit de la présence accrue de résidus d'anciennes cultures et adventices à la surface du sol qui limitent la croissance des plantules d'adventices (Anderson, 2004; Anderson, 2007). Cet effet est rapporté fréquemment aux Etats-Unis, dans des cultures très diverses (maïs, tournesol, millet : Anderson, 1999), mais aussi en Inde (blé, riz : Malik et al., 2000).

### Variation de l'effet du travail du sol au cours des saisons

Si les semences adventices sont très dormantes au moment du travail du sol, celui-ci a peu d'effet sur la germination, ce qui explique pourquoi un travail du sol versus un semis direct peut augmenter ou diminuer la levée en culture pour une espèce donnée, selon que l'adventice est peu ou très dormante au moment du travail du sol (*Lolium rigidum* en blé versus lupin, Australie, Davidson, 1990). De plus, la sensibilité des espèces à l'exposition à la lumière pendant le travail du sol varie au cours des saisons et de l'âge des semences (Taylorson, 1972; Froud-Williams et al., 1984; Baskin & Baskin, 1986; Scopel et al., 1991; Bouwmeester & Karssen, 1993; Colbach et al., 2002a; Colbach & Dürr, 2003).

### Effet différentiel suivant les cycles de dormances des espèces

Les cycles de dormances ne sont pas les mêmes suivant les espèces, ce qui explique en bonne partie les différences entre espèces adventices dans une expérimentation donnée, surtout pour les dicotylédones (USA, Reddy, 2003; Argentine, Puricelli & Tiesca, 2005b). Ainsi, les espèces levant précocement, au moment du semis de la culture (*Portulaca oleracea*, *Datura ferox*), sont plus fréquentes en parcelles travaillées ; pour les espèces à levée tardive, l'effet dépend des espèces avec plus d'infestation en parcelles travaillées (*Anagallis arvensis* et *Coronopus didymus*) ou en semis direct (*Gamochaeta spicata*, *Bowlesia incana*, *Parietaria debilis*, *Stellaria media*, *Lamium amplexicaule* L. et *Viola arvensis* : Puricelli & Tiesca, 2005b).

### Faible persistance des semences non dormantes en semis direct

Les semences présentant une faible dormance primaire comme celles des repousses de colza ont une très faible persistance à la surface du sol où elles germent très rapidement (contrairement à la plupart des adventices, Colbach et al., 2008; Gardarin, 2008) ; par conséquent, en cas de semis direct, peu ou pas de stock semencier se crée (Allemagne, Gruber et al., 2004 ; Australie, Baker & Preston, 2008). Par exemple, aucune semence de

repousse de colza n'est retrouvée dans un blé suivant la culture de colza à l'origine des semences (Allemagne, Gruber et al., 2004). Le même type d'observations est rapporté pour les repousses de blé (Canada, Harker et al., 2005).

#### Augmentation du risque de repousses en semis direct

Malgré cette absence de stock semencier pour les repousses de cultures en semis direct, c'est justement dans cette situation que les repousses fleuries et mures sont le plus fréquemment observées en culture (Allemagne, repousse de colza, Gruber et al., 2004), notamment les repousses de colza et blé TH (USA, Rainbolt et al., 2004 ; Canada, Beckie & Owen, 2007) mais aussi de maïs (Owen, 2005; Owen & Zelaya, 2005). Il s'agit donc d'une situation à risque pour le transfert des gènes/allèles de tolérance à des herbicides des VTH vers les repousses et autres adventices apparentées aux cultures (voir section 3.2.1).

#### Résistance à des herbicides

Outre le transfert de tolérance des cultures vers les adventices, le semis direct favorise la sélection de résistances "naturelles" (voir aussi section 3.1.1.3.2). Des enquêtes au Canada ont identifié l'absence de travail du sol comme facteur de risque pour l'apparition de résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase et de l'ALS (Beckie et al., 2008). En effet, l'abandon du travail du sol est compensé par une augmentation de traitements herbicides, donc une augmentation de la pression de sélection des populations résistantes. De plus, il conduit à la disparition du stock semencier enfoui qui permettait de stocker et mélanger diverses populations, résistantes et sensibles. L'espèce résistante majeure observée au Canada est *Avena fatua*, d'autres espèces résistantes, graminées et dicotylédones, étant rapportées moins fréquemment (*Setaria viridis*, *Kochia scoparia*, *Stellaria media*, *Sonchus oleraceus*, *Amaranthus retroflexus*). La même conclusion est rapportée en Australie pour *Lolium rigidum* résistant au glyphosate (Neve et al., 2003).

#### Quels types d'adventices sont favorisés en semis direct ?

Les sections précédentes indiquent que le semis direct va fortement favoriser les adventices graminées ainsi que les dicotylédones n'ayant pas besoin de stimulation par le travail du sol pour germer. Les autres types d'adventices qui sont plus fréquents en semis direct sont les espèces anémochores (*Carduus acanthoides*, *Sonchus oleraceus*, Argentine, Puricelli & Tiesca, 2005b) et les pérennes. Certains types de pérennes peuvent cependant être favorisés par le travail du sol, y compris le labour (Tableau 3-4). Il s'agit d'espèces dont le fractionnement des organes favorise la multiplication dans le champ, comme *Elytrigia repens* (Canada, Légère & Samson, 2004), *Cyperus esculentus* (Argentine, Puricelli & Tiesca, 2005b) ou *Teucrium canadense* (USA, Buhler et al., 1994).

**Tableau 3-4.** Synthèse des travaux rapportant une augmentation des pérennes en semis direct

| Pays      | Condition | Espèce adventice   | Référence                   |
|-----------|-----------|--|-----------------------------|
| USA       | Champ     | <i>Apocynum cannabinum</i> , <i>Convolvulus arvensis</i>                       | (Buhler et al., 1994)       |
| USA       | Champ     | <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Cyperus rotundus</i> , <i>Solanum carolinense</i> | (Norsworthy, 2008)          |
| Argentine | Champ     | <i>Solanum chacoense</i>   | (Puricelli & Tiesca, 2005b) |
| Norvège   | Champ     | <i>Cirsium arvense</i> , <i>Elymus repens</i>                                  | (Tørresen et al., 2003)     |

#### 3.1.2.3.4. Semis de la culture dans un mulch vivant

Le semis d'une culture dans un mulch vivant se fait après réduction du couvert permanent, généralement par un traitement herbicide à dose subléthale, pour faciliter la levée de la culture et limiter la compétition exercée par le couvert. Le couvert permanent reprend pleinement sa croissance après la récolte de la culture commerciale. L'objectif d'un tel couvert est multiple, notamment l'étouffement des adventices et la réduction de la compaction du sol, la protection contre l'érosion, le stockage de carbone dans le sol, mais aussi la fixation d'azote en cas de légumineuse. Certains couverts permanents (luzerne, certains trèfles ou graminées) peuvent même produire du fourrage en interculture ou entre deux cultures commerciales (Singer et al., 2009). Nous allons nous concentrer ici sur l'effet sur la flore adventice.

De nombreuses espèces de mulchs vivants réduisent les adventices (Tableau 3-5) en limitant la lumière perçue (Teasdale et al., 1991; Teasdale & Mohler, 1993), ou par libération de molécules allélopathiques (ex. du seigle,

Barnes & Putnam, 1983). Retarder la réduction du couvert après la levée de la culture (possible notamment en VTH) permet un meilleur contrôle des adventices (Tharp & Kells, 2001 : USA, *Abutilon theophrasti*). Il en est de même pour les couverts pluri-spécifiques (Singer et al., 2009). L'effet du mulch dépend de l'espèce : certains auteurs rapportent par exemple que l'avoine est plus efficace que le seigle pour réduire les adventices (Norsworthy, 2004) ou mentionnent même des différences entre espèces de trèfle (Lake, 1991). La maîtrise des adventices dépend aussi de la méthode de réduction du mulch vivant, c'est-à-dire des herbicides appliqués avant et pendant la culture (Regnier & Stoller, 1981; Vrabel et al., 1982) ou même de la fauche (Regnier & Stoller 1981).

**Tableau 3-5.** Synthèse des travaux rapportant une meilleure maîtrise des adventices en cas de mulch vivant

| Pays      | Condition | Culture commerciale | Espèce de mulch vivant      | Référence  |
|-----------|-----------|---------------------|-----------------------------|--|
| USA       | champ     | Maïs                | Seigle, avoine, blé         | (Norsworthy, 2004)                                     |
| USA       | champ     | Maïs, soja          | Luzerne, trèfle, graminées  | (Singer et al., 2009)                                  |
| Lithuanie | champ     | Betterave sucrière  | Moutarde                    | (Romaneckas et al. 2009)                               |
| USA       | champ     | Maïs, soja          | Trèfle souterrain           | (Ilnicki & Enache, 1992)                               |
| USA       | champ     | Maïs doux           | Trèfle blanc, seigle        | (Mohler, 1991)   |
| USA       | champ     | Maïs ensilage       | Trèfle souterrain, seigle   | (Enache & Ilnick, 1990)                                |
| USA       | champ     | Maïs                | Luzerne, trèfles, graminées | (Lake, 1991)   |
| USA       | champ     | Pois                | Seigle                      | (Barnes & Putnam, 1983)                                |
| USA       | champ     | Maïs doux, haricot  | Trèfle blanc                | (DeGregorio & Ashley, 1985; DeGregorio & Ashley, 1986) |
| USA       | champ     | Soja                | Blé, seigle                 | (Regnier & Stoller 1981)                               |
| USA       | champ     | Maïs, maïs doux     | Trèfle blanc, luzerne       | (Vrabel et al. 1982, 1983)                             |

Un mulch vivant ne donne pas nécessairement une meilleure maîtrise de l'infestation adventice en culture qu'un mulch mort, i.e. une couverture du sol par des résidus d'anciennes cultures (betterave sucrière : Romaneckas et al. 2000; Petersen & Rover, 2005). Les résidus morts réduisent aussi l'arrivée de la lumière au niveau des adventices (Teasdale et al., 1991; Teasdale et al., 1993), peuvent diffuser des substances allélopathiques (ex. seigle, (Barnes & Putnam, 1983) et présentent plusieurs avantages comparé au mulch vivant (moins de travail, pas de compétition pour la culture, compatibilité avec un travail du sol simplifié).

### 3.1.2.3.5. Avancée du semis

La plupart des travaux rapportent une réduction de l'infestation des cultures par les adventices en cas de retard du semis des cultures (Tableau 3-6). La raison majeure donnée pour cette moindre infestation est une augmentation de la levée des adventices pendant l'interculture, avant le semis des cultures, adventices qui pourront être détruites par des herbicides (Blackshaw et al., 2005) ou un travail du sol avant semis (Chauvel et al., 2001; Recasens et al., 2001; Chauvel et al., 2009) au lieu de lever en culture. De plus, les populations d'adventices présentes dans la culture auront levé plus tard et seront plus sensibles aux applications d'herbicides (Recasens et al., 2001).

Le retard du semis est souvent cité comme moyen pour gérer des populations d'adventices résistantes à des herbicides (Planes et al., 1999; Powles & Matthews, 1996; Chauvel et al., 2001; Chauvel et al., 2009; Cirujeda & Taberner, 2009). Cependant, Neve et al. (2003), travaillant avec un modèle de simulation, prédisent plus de populations résistantes au glyphosate en semis tardif que précoce, en expliquant cette tendance par des levées plus étalées en semis précoce. Sur le terrain, des réductions d'infestations en semis avancé ont également été rapportées, expliquées justement par la moindre levée en interculture et donc moins de risque de repousses survivant aux herbicides en semis direct (Harker et al., 2005).

Il existe une grande variabilité de l'effet en fonction des conditions (Colbach et al., 2006; Cirujeda & Taberner, 2009); s'il n'y a pas assez d'humidité ou de température avant le semis des cultures pour permettre la germination des semences, un retard de semis ne permettra pas une augmentation de la levée adventice en interculture (Colbach et al., 2006).

De plus, l'augmentation de la levée adventice en interculture en cas de semis retardé est surtout valable pour des adventices non dormantes au moment du semis des cultures. Ainsi, un retard de semis des cultures d'hiver n'aura pas d'effet sur la levée d'adventices de printemps (Schneider et al., 1984). De plus, un retard de semis

pour les cultures de printemps (ex. maïs) peut signifier un semis en meilleures conditions, et donc une meilleure levée et reproduction des adventices (Beale, 1986).

**Tableau 3-6.** Synthèse des travaux rapportant l'effet d'un retard du semis sur la flore adventice.

| Pays   | Condition            | Culture  | Espèce adventice   | Référence                                    |
|--|----------------------|--|--|--|
| <b>A. Réduction de l'infestation et/ou de la reproduction</b>    |                      |  |  |  |
| US   | Champ                | Millet   | <i>A. retroflexus</i> , <i>A. albus</i>  | (Anderson, 2000)                             |
| Canada   | Champ                | Colza de printemps, blé de printemps             | <i>Avena fatua</i> , <i>Setaria viridis</i> , <i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>Chenopodium album</i> , <i>Erodium cicutarium</i> , <i>Brassica kaber</i> | (Blackshaw et al., 2005)                     |
| France   | Champ                | Grandes cultures dont céréales d'hiver           | <i>Alopecurus myosuroides</i>  | (Chauvel et al., 2001; Chauvel et al., 2009) |
| Espagne  | Champ                | Céréales d'hiver                                 | <i>Lolium rigidum</i>  | (Cirujeda & Taberner, 2009)                  |
| Canada   | Champ                | Colza TH de printemps, blé TH de printemps, pois | <i>Avena fatua</i> , <i>Polygonum convolvulus</i>  | (Harker et al., 2005)*                       |
| Australie  | Champ                | Blé d'hiver                                      | <i>Lolium rigidum</i>  | (Powles & Matthews 1996)                     |
| Espagne  | Champ                | Céréales d'hiver                                 | <i>Lolium rigidum</i>  | (Recasens et al., 2001)                      |
| France   | Modèle de simulation | Grandes cultures dont betterave TH               | <i>Beta vulgaris</i> spp. <i>vulgaris</i>  | (Tricault et al., 2009)                      |
| Espagne  | Champ                | Blé d'hiver                                      | <i>Lolium rigidum</i>  | (Planes et al. 1999)                         |
| Allemagne  | Champ                | Céréales d'hiver                                 | <i>Alopecurus myosuroides</i>  | (Schneider et al., 1984)                     |
| France   | Modèle de simulation | Grandes cultures                                 | <i>Alopecurus myosuroides</i>  | (Colbach et al., 2006)                       |
| France   | Modèle de simulation | Grandes cultures dont colza TH                   | Repousses de colza   | (Colbach et al., 2006)                       |
| France   | Champ                | colza  | Repousses de blé   | (Gruber et al., 2008)                        |
| <b>B. Effet variable ou pas d'effet</b>                          |                      |  |  |  |
| Espagne  | Champ                | Céréales d'hiver                                 | <i>Lolium rigidum</i>  | (Cirujeda & Taberner, 2009)                  |
| Allemagne  | Champ                | Céréales d'hiver                                 | <i>Avena fatua</i>   | (Schneider et al., 1984)                     |
| Canada   | Champ                | Blé pois orge                                    | Repousses de colza   | (Harker et al., 2006)                        |
| <b>C. Augmentation de l'infestation et/ou de la reproduction</b> |                      |  |  |  |
|  | Champ                | Maïs   | <i>Panicum dichotomiflorum</i>   | (Beale, 1986)                                |
| Australie  | Modèle de simulation | Céréales   | <i>Lolium rigidum</i>  | (Neve et al., 2003)                          |
| Canada   | Champ                | Colza TH de printemps, blé TH de printemps, pois | Repousses de blé de printemps  | (Harker et al., 2005)*                       |

Les travaux marqués \* sont les seuls à avoir regardé l'effet d'une avancée du semis plutôt que d'un retard de semis ; les résultats dans le tableau indiquent alors l'effet du semis normal par rapport au semis avancé (au lieu du semis retardé par rapport au semis normal pour les autres travaux).

Une avancée des semis favoriserait donc surtout les adventices non dormantes au moment du semis des cultures (donc les plus fréquentes dans la culture, Fried et al., 2008), particulièrement pour les cultures d'hiver (ex. graminées automnales dans les céréales d'hiver), sauf si cette avancée est suffisante pour que la culture lève avant la vague de levée majeure des adventices et dispose ainsi d'un avantage compétitif (ex. du semis précoce du colza, Primot et al., 2006). Un semis précoce n'aura pas d'effets sur les adventices levant tardivement en culture (ex. adventices printanières dans une culture d'automne). Pour les cultures de printemps, une avancée de semis peut éventuellement être préjudiciable, aussi bien pour les adventices que pour la culture si ce semis est réalisé dans de mauvaises conditions.

### 3.1.2.4. Abandon du désherbage mécanique et manuel en betterave sucrière

#### 3.1.2.4.1. Effet de l'abandon du désherbage mécanique

*Un effet partiel du désherbage mécanique sur la flore adventice*

Des traitements herbicides en culture sont généralement bien plus efficaces que du désherbage mécanique, même fréquent et bien raisonné (Colbach et al., 2010a), puisque cette opération interagit bien plus avec les conditions du milieu, de la culture et de l'adventice que les herbicides (Kurstjens, 2007). Le désherbage mécanique est donc souvent utilisé en complément de traitements herbicides à effet partiel (Losada Cortinas &

Moreno-Gonzalez, 1992), sauf en agriculture biologique où cette technique est quasiment le seul moyen de lutte curative contre les adventices.

#### *Un effet secondaire de l'abandon du désherbage mécanique*

L'abandon du désherbage mécanique pourrait cependant conduire à une réduction de l'interrang, permettant ainsi d'optimiser la croissance des cultures et le rendement (Nalewaja, 2001), et donc aussi d'"étouffer" en quelque sorte les adventices. L'abandon du désherbage mécanique permet également le recours à des mulchs vivants.

#### *Quelques résultats concernant les adventices HR et les VTH*

Le désherbage est souvent cité comme moyen pour éviter ou retarder l'apparition de résistances à des herbicides, dans des conditions pédo-climatiques très différentes, e.g. USA (Boerboom, 1999), Brésil (Christoffoleti & Lopez Ovejero 2002), Allemagne (Hoppe, 2002). Les modèles de simulation traitant du cas particulier des VTH indiquent que l'abandon du désherbage mécanique favorise non seulement des adventices proches de la culture (ex. *Beta vulgaris* spp. *vulgaris* apparentée à la betterave sucrière) mais surtout la transmission du gène de tolérance à l'herbicide de la VTH vers l'adventice apparentée (Sester et al., 2005; Sester et al., 2007; Tricault et al., 2009) (section 3.2.1).

#### **3.1.2.4.2. Effet de l'abandon du désherbage manuel**

Actuellement, il n'existe pas de solution herbicide contre l'adventice la plus fréquente en betterave sucrière. En effet, il s'agit d'une adventice apparentée à la culture, la betterave adventice (*Beta vulgaris* spp. *vulgaris*). Cette adventice est actuellement gérée par le désherbage mécanique et le désherbage manuel. D'où l'intérêt de la profession pour les variétés de betterave sucrière tolérantes au glyphosate et à d'autres herbicides non sélectifs.

Cependant, l'adventice peut se croiser avec la culture et peut ainsi récupérer le transgène de tolérance à l'herbicide. Cet aspect est traité dans la section 3.2.1. En résumé, des études de simulation françaises ont montré que le maintien du désherbage manuel est indispensable pour assurer la durabilité de la variété, pour éviter le flux du gène de tolérance vers l'adventice, l'explosion de populations résistantes dans la parcelle cultivée en VTH mais aussi dans les parcelles voisines (Sester et al., 2008; Tricault et al., 2009).

#### **3.1.2.5. Effet des modifications de pratiques agricoles sur la production**

##### **3.1.2.5.1. Abandon du labour**

Les tendances rapportées pour les différentes cultures et pays sont très variables. De nombreuses études n'indiquent pas d'effet de l'abandon du labour sur le rendement de différentes cultures dans différentes conditions pédo-climatiques (Tableau 3-7.B). Cependant, cette absence d'effet n'est valable que si les conditions d'implantation de culture sont bonnes, c'est-à-dire si le sol est bien drainé (Cannell & Hawes, 1994) et qu'il n'y a pas de détérioration de la structure du sol (chapitre 3.1.2.6.4) réduisant la levée (Gruber et al., 2004) et l'enracinement de la culture. Des réductions de rendement (Tableau 3-7.A) sont donc fréquemment rapportées, dont seule une partie (Fykse et al., 2002; Douglas & Peltzer, 2004) peut être attribuée à l'augmentation des adventices en non-labour (voir section 3.1.2.3.2).

**Tableau 3-7.** Synthèse des travaux rapportant des effets de l'abandon du labour sur le rendement des cultures

| Pays                                 | Culture              | Référence                 |
|--------------------------------------|----------------------|---------------------------|
| <b>A. Réduction de la production</b> |                      |                           |
| Italie                               | Blé d'hiver          | (Catizone et al., 1990)   |
| Allemagne                            | Blé d'hiver          | (Gruber et al., 2004)     |
| Australie                            | Céréales             | (Douglas & Peltzer, 2004) |
| USA                                  | Pomme de terre       | (Liebman et al., 1996)    |
| Hongrie                              | Maïs                 | (Hulpoi et al., 1973)     |
| <b>B. Pas d'effet</b>                |                      |                           |
| Europe                               | Céréales d'hiver     | (Cannell & Hawes, 1994)   |
| France, Danemark                     | Maïs ensilage        | (Andersen et al., 2007)   |
| Canada                               | Rotation diversifiée | (Murphy et al., 2006)     |

### 3.1.2.5.2. Abandon du travail du sol

Les problèmes de structure du sol et de levée de la culture sont rapportés encore plus fréquemment en semis direct (Cannell & Hawes, 1994; Reddy, 2001), conduisant non seulement à des réductions fréquentes de rendement (Tableau 3-8.A), mais aussi à des détériorations de la qualité des productions (ex. teneur en protéines des céréales, Douglas & Peltzer, 2004). D'autres causes indiquées pour les pertes de rendement en semis direct sont la présence accrue de maladies (Cook, 2006)(voir aussi section 3.3.2.1) et la présence accrue de résidus de culture pouvant faire de l'ombre ou avoir un effet allélopathique sur la culture (Dao, 1987).

**Tableau 3-8.** Synthèse des travaux rapportant des effets de l'abandon du travail du sol sur le rendement des cultures

| Pays                                    | Culture               | Référence                                     |
|---|-----------------------|---|
| <b>A. Réduction de la production</b>    |                       |   |
| USA                                     | Maïs                  | (Teasdale, 2007; Teasdale et al., 2007)       |
| USA semi-aride                          | Grandes cultures      | (Anderson, 2004)                              |
| USA                                     | Coton                 | (Askew et al., 2004)                          |
| Canada                                  | Blé                   | (Blackshaw & Lindwall, 1995)                  |
| Europe                                  | Céréales de printemps | (Cannell & Hawes, 1994)                       |
| Australie                               | Orge, blé             | (Douglas & Peltzer, 2004)                     |
| USA                                     | Soja                  | (Reddy, 2001)                                 |
| Allemagne                               | Maïs HT               | (Schier, 2006)                                |
| USA                                     | Blé                   | (Dao, 1987)                                   |
| USA, année sèche                        | Maïs doux             | (Mohler, 1991)                                |
| <b>B. Pas d'effet</b>                   |                       |   |
| Climat tempéré                          | Blé d'hiver           | (Baumhardt & Jones, 2002; Anken et al., 2004) |
| Europe, USA                             | Maïs                  | (Cannell & Hawes, 1994)                       |
| US, année normale                       | Maïs doux             | (Mohler, 1991)                                |
| <b>C. Variable</b>                      |                       |   |
| Argentine                               | Soja, maïs            | (Puricelli & Tuesca, 2005a)                   |
| <b>D. Augmentation de la production</b> |                       |   |
| USA                                     | Maïs                  | (Norsworthy & Frederick, 2005)                |
| Inde                                    | Blé, riz              | (Malik et al., 2000)                          |
| Argentine                               | Soja                  | (Puricelli & Tuesca, 2005a)                   |
| Australie                               | Blé                   | (Martin & Felton, 1993)                       |
| USA semi-aride                          | Grandes cultures      | (Anderson, 2007)                              |

Cependant, des travaux provenant généralement de régions semi-arides rapportent également des augmentations de rendement en semis direct (Tableau 3-8.D), en raison d'une meilleure gestion de la réserve utile (Cook, 2006; Anderson, 2007) et d'une plus forte teneur en matière organique des sols (Cook, 2006).

### 3.1.2.5.3. Semis dans un mulch vivant

Semer la culture dans un mulch vivant réduit souvent le rendement (Tableau 3-9.A), malgré les effets bénéfiques espérés du mulch (section 3.1.2.3.4) et même en présence de mulch de légumineuses contribuant à la fixation d'azote (voir les nombreux cas avec légumineuses dans le Tableau 3-9.A). Les raisons les plus souvent citées ou mises en évidence dans les expérimentations sont une maîtrise insuffisante des adventices (Mohler, 1991; Tharp & Kells, 2001; Petersen et al., 2002), mais surtout une réduction insuffisante (Vrabel et al., 1983; Lake, 1991; Affeldt et al., 2004) ou trop tardive (Tharp & Kells, 2001) du mulch vivant. Ceci conduit à une compétition entre la culture et le mulch (Teasdale, 2007), notamment pour l'eau (Teasdale et al., 2007; Duiker & Hartwig, 2004), induisant une réduction de la levée de la culture (Tharp & Kells, 2001; Petersen & Rover, 2005) ou un retard de la croissance précoce (Norsworthy, 2004). Le mulch peut aussi avoir des effets allélopathiques sur la culture (Norsworthy, 2004).

Si le mulch est réduit suffisamment et à temps, des augmentations du rendement ont été observées (Tableau .C), notamment en cas de légumineuses et de fixation d'azote par celles-ci (Gallagher et al., 1995). Certains couverts

permanents (luzerne, certains trèfles ou graminées) peuvent même produire du fourrage en interculture ou entre deux cultures commerciales (Singer et al., 2009).

**Tableau 3-9.** Synthèse des travaux rapportant des effets du mulch vivant sur le rendement des cultures

| Pays                                    | Culture commerciale    | Espèce de mulch vivant                           | Référence                                |
|---|------------------------|--|--|
| <b>A. Réduction de la production</b>    |                        |  |  |
| Suède                                   | Orge, blé              | Trèfle   | (Bergkvist, 2003)                        |
| Japon                                   | Blé                    | Légumineuse                                      | (Samarajeewa et al., 2005)               |
| USA                                     | Blé, seigle            | Luzerne, trèfle et autres légumineuses           | (White & Scott, 1991)                    |
| France                                  | Blé                    | Luzerne, graminées, trèfles                      | (Carof et al., 2007)                     |
| USA                                     | Maïs imi année sèche   | Vesce, gesse, et autres légumineuses             | (Duiker & Hartwig, 2004)                 |
| Allemagne                               | Maïs HT, betterave HT  | Crucifères                                       | (Petersen et al., 2002)                  |
| Allemagne                               | Betterave HT           | Seigle, colza et autres crucifères               | (Petersen & Rover, 2005)                 |
| USA                                     | Maïs                   | Avoine, seigle, blé                              | (Norsworthy, 2004)                       |
| USA                                     | Maïs                   | Coronilla varia                                  | (Teasdale, 2007) (Teasdale et al., 2007) |
| USA                                     | Maïs doux              | Trèfle blanc, si mauvais contrôle des adventices | (Mohler, 1991)                           |
| USA                                     | Maïs doux              | Trèfle blanc non réduit                          | (Vrabel et al., 1982)                    |
| USA                                     | Maïs HT                | Si mulch réduit tardivement pendant la culture   | (Tharp & Kells, 2001)                    |
| USA                                     | Maïs HT                | Trèfle faiblement réduit                         | (Affeldt et al., 2004)                   |
| USA                                     | Maïs                   | Trèfles, graminées peu réduits                   | (Lake, 1991)                             |
| USA                                     | Soja                   | Blé, seigle non fauché                           | (Regnier & Stoller 1981)                 |
| <b>B. Pas d'effet</b>                   |                        |  |  |
| USA                                     | Pois                   | Seigle   | (Barnes & Putnam, 1983)                  |
| USA                                     | Maïs                   | Seigle, blé                                      | (Norsworthy & Frederick, 2005)           |
| USA                                     | Maïs doux              | seigle   | (Mohler, 1991)                           |
| USA                                     | Maïs imi année normale | Vesce, gesse, et autres légumineuses             | (Duiker & Hartwig, 2004)                 |
| USA                                     | Maïs, soja             | Trèfle souterrain                                | (Ilnicki & Enache, 1992)                 |
| USA                                     | Maïs doux              | Trèfle blanc réduit                              | (Vrabel et al.)                          |
| USA                                     | Maïs HT                | Trèfle fortement réduit                          | (Affeldt et al., 2004)                   |
| USA                                     | Maïs                   | Trèfles, graminées fortement réduit              | (Lake, 1991)                             |
| USA                                     | Soja                   | Blé, seigle fauché                               | (Regnier & Stoller 1981)                 |
| <b>C. Augmentation de la production</b> |                        |  |  |
| USA                                     | Maïs doux              | Trèfle blanc, si pas d'adventices                | (Mohler, 1991)                           |
| USA                                     | Maïs doux              | Trèfle blanc non réduit, sans adventices         | (Vrabel et al., 1982)                    |

#### 3.1.2.5.4. Effet de la date de semis

Dans les conditions françaises, une avancée de semis augmente généralement le rendement potentiel en améliorant les conditions d'implantation des cultures d'hiver, en laissant plus de temps aux cultures pour leur croissance et développement, etc. La littérature est abondante à ce sujet et n'est pas reprise ici. Cependant, un semis avancé augmente les risques de nombreux bioagresseurs, dont les adventices (section 3.1.2.3.5) et certaines maladies fongiques (section 3.3.2.10).

#### 3.1.2.6. Effet des modifications de pratiques agricoles sur les états du milieu

Ne sont traités ici que quelques exemples. D'autres pourraient être intéressants (la dénitrification en cas d'abandon du travail du sol, par exemple), mais ils sont tellement complexes qu'une étude supplémentaire serait nécessaire pour les traiter.

### 3.1.2.6.1. Teneur en matière organique du sol

L'abandon du labour et, encore plus, du travail du sol augmente souvent la teneur en matière organique des horizons superficiels des sols (Tableau 3-10.A), ce qui réduit l'érosion et peut favoriser la macro-faune du sol (section 3.3.2.2). Une des raisons est une minéralisation plus lente des résidus de culture (même TH) en l'absence de travail du sol (Lachnicht et al., 2004). Cependant, cette augmentation de teneur en matière n'est pas toujours assurée (Tableau 3-10 B) et des systèmes travaillés intégrant par exemple des cultures intermédiaires de type CIPAN ou engrais verts peuvent présenter des teneurs en matière organique plus élevées que des systèmes non travaillés, avec ou sans mulch vivant (Teasdale, 2007; Teasdale et al., 2007). Les rares articles sur l'effet du mulch vivant n'observent d'ailleurs pas de variation de la teneur en matière organique du sol (Duiker & Hartwig, 2004; Teasdale, 2007; Teasdale et al., 2007).

**Tableau 3-10.** Travaux rapportant l'effet d'une simplification ou d'un abandon du travail du sol sur la teneur en matière organique des sols

| Pays   | Type d'article | Type de travail analysé     | Référence                               |
|--|----------------|-----------------------------|---|
| <b>A. Augmentation de la teneur en matière organique</b> |                |                             |   |
| USA  | Synthèse       | Abandon du labour           | (Cannell & Hawes, 1994)                 |
| USA  | Synthèse       | <i>Conservation tillage</i> | (Cannell & Hawes, 1994)                 |
|  |                | <i>Conservation tillage</i> | (Franzuebbers, 2002)                    |
| USa  | Champ          | Abandon du travail du sol   | (Lachnicht et al., 2004)                |
| <b>B. Diminution de la teneur en matière organique</b>   |                |                             |   |
| USA  | Champ          | Abandon du travail du sol   | (Teasdale, 2007)(Teasdale et al., 2007) |

### 3.1.2.6.2. Bilan hydrique

En conditions semi-arides, la simplification ou l'abandon du travail du sol augmentent l'infiltration de l'eau (Tableau 3-11.A), à cause des résidus de surface et d'un meilleur taux de matière organique, notamment lors de pluies torrentielles (Wauchope, 1978). De plus, la couche de résidus réduit l'évapotranspiration. Dans les conditions tempérées comme en Europe, le labour est souvent plus approprié pour optimiser l'infiltration de l'eau en été (Tableau 3-11.B).

De plus, en conditions semi-arides, les cultures ne produisent pas toujours assez de résidus pour obtenir les effets protecteurs de la simplification ou de l'abandon du travail du sol (Baumhardt et al., 1993; Baumhardt & Lascano, 1996) ; la surface du sol peut devenir battante et trop lisse pour l'infiltration (Jones et al., 1994). D'où l'intérêt des mulchs vivants pour contribuer à la protection de la surface du sol (Gallagher et al., 1995; Sainju & Singh, 1997). Cependant, ces effets ne sont pas toujours assurés, même à long terme (Duiker & Hartwig, 2004) et les mulchs vivants peuvent même détériorer le bilan hydrique, entrant en compétition avec la culture commerciale pour l'eau (Schier, 2006), particulièrement en année sèche (Mohler, 1991).

**Tableau 3-11.** Liste des travaux rapportant l'effet d'une simplification ou d'un abandon du travail du sol sur le bilan hydrique des sols

| Pays   | Type d'article | Type de travail analysé                  | Référence  |
|--|----------------|--|--|
| <b>A. Augmentation de l'infiltration et/ou réduction de l'évapotranspiration</b> |                |  |  |
| Conditions semi-arides   | Synthèse       | <i>Conservation tillage</i>              | (Holland, 2004)  |
| USA  | Champ          | Semis direct                             | (Anderson, 2007)   |
| USA  | Synthèse       | Travail du sol simplifié ou semis direct | (Steiner, 1994)  |
| US semi-aride  | Champ          | <i>Conservation tillage</i>              | (Wauchope, 1978) (Fawcett et al., 1994) (Clausen et al., 1996) |
| <b>B. Diminution de l'infiltration et/ou réduction de l'évapotranspiration</b>   |                |  |  |
| Roumanie   | Champ          | Abandon du labour                        | (Hulpoi et al., 1973)  |
| Conditions tempérées   | Synthèse       | Abandon du labour                        | (Holland, 2004)  |



### 3.1.2.6.3. Érosion

La simplification et l'abandon du travail du sol réduisent l'érosion (Tableau 3-12), notamment hydrique, en raison de l'effet protecteur de la matière organique et d'une meilleure infiltration de l'eau dans les parcelles. De même, les mulchs vivants semblent aussi réduire l'érosion (Sainju & Singh, 1997; Gallagher et al., 1995). Cependant, il s'agit ici uniquement de travaux américains qui ne sont pas nécessairement extrapolables à la France car les conditions de pluie et de vent sont probablement très différentes. De plus, certains auteurs mentionnent que beaucoup de terres gérées en *conservation tillage* ne présentent pas vraiment de risque d'érosion et que d'un autre côté, le *conservation tillage* est utilisé pour mettre en cultures des terres marginales qui devraient rester en prairie et ou même totalement non cultivées (Hinkle, 1983).

**Tableau 3-12.** Travaux rapportant une réduction de l'érosion en cas d'une simplification ou d'un abandon du travail du sol

| Pays    | Type d'article       | Type de travail analysé                      | Référence                    |
|---------|----------------------|--|------------------------------|
| Norvège | Modèle de simulation | Abandon du labour, abandon du travail du sol | (Fykse et al., 2002)         |
| France  | Synthèse             | <i>Conservation tillage</i>                  | (Peigné et al., 2007)        |
| NL      | Synthèse             | <i>Conservation tillage</i>                  | (Franzluebbers, 2002)        |
| USA     | Champ                | Semis direct                                 | (Edwards et al., 1993)       |
| Brésil  | Synthèse             | Semis direct                                 | (Cerqueira & Duke, 2006)     |
| Canada  | Champ                | Semis direct                                 | (Blackshaw & Lindwall, 1995) |
| USA     | Synthèse             | <i>Conservation tillage</i>                  | (Baker, 1982)                |

### 3.1.2.6.4. Compaction du sol dans la parcelle

Les mulchs vivants contribuent à améliorer la porosité des sols (Sainju & Singh, 1997; Papadopoulos et al., 2006), mais cet effet n'est pas toujours assuré (Duiker & Hartwig, 2004).

Les avis sur l'effet de la simplification ou l'abandon du travail du sol sur la structure du sol divergent (Tableau 3-13), bien que la compaction devrait être moindre en raison d'une réduction du trafic d'engins (Sommer & Zach, 1992; Richard et al., 1999; Graef, 2009) et que la teneur en matière organique (section 3.1.2.6.1) devrait améliorer la stabilité des sols. Mais le travail du sol est essentiel pour fragmenter les mottes de terre, notamment dans des textures de sol où les alternances de gel/dégel, humidité/sécheresse ne suffisent pas pour fragmenter ou dans des structures à faible stabilité (sable, limons, conditions humides) (Peigné et al., 2007). L'abandon du labour et/ou du travail du sol peut augmenter la compaction du sol, réduisant ainsi la porosité du sol, la circulation de l'eau et l'enracinement des cultures. Ce sont de tels effets qui contribuent à expliquer les effets sur le rendement indiqués à la section 3.1.2.5.

**Tableau 3-13.** Travaux rapportant les effets sur la compaction du sol en cas d'une simplification ou d'un abandon du travail du sol

| Pays                                    | Type d'article | Type de travail analysé                 | Référence                              |
|---|----------------|---|--|
| <b>A. Augmentation de la compaction</b> |                |   |  |
| USA                                     | Synthèse       | Abandon du labour, conservation tillage | (Cannell & Hawes, 1994)                |
| Roumanie                                | Champ          | Abandon du labour                       | (Hulpoi et al., 1973)                  |
| Brésil                                  | Champ          | Semis direct                            | (Furlani et al., 2003)                 |
| Espagne                                 | Champ          | Semis direct                            | (Lampurlanes & Cantero-Martinez, 2003) |
| USA                                     | Champ          | <i>Conservation tillage</i>             | (Hussain et al., 1998)                 |
| Argentine                               | Champ          | Semis direct                            | (Ferrerias et al., 2000)               |
| France                                  | Synthèse       | <i>Conservation tillage</i>             | (Peigné et al., 2007)                  |
| <b>B. Pas d'effet</b>                   |                |   |  |
| Hongrie                                 | Champ          | Abandon du labour                       | (Ujj et al. 2005)                      |
| <b>C. Diminution de la compaction</b>   |                |   |  |
| Europe                                  | Synthèse       | Semis direct                            | (Holland, 2004)                        |
| USA                                     | Champ          | Travail du sol simplifié                | (Shukla et al., 2003)                  |
| Allemagne                               | Synthèse       | Travail du sol simplifié                | (Graef, 2009)                          |

### 3.1.2.7. Conclusion et application au cas français

Les conclusions synthétisées ci-dessus sur la flore adventice restent vraies pour les conditions et cultures françaises en ce qui concerne les types d'espèces (ou traits d'espèces) favorisés ou défavorisés, même si l'espèce botanique concernée n'est pas nécessairement la même en France qu'en Amérique du Nord. De plus, les travaux concernant les types d'espèces les plus favorisés, les graminées annuelles, sont en grande partie réalisés en France ou dans des pays voisins.

En résumé (Tableau 3-14), l'abandon ou la réduction de la fréquence du labour conduit à : (1) une augmentation des graminées, repousses de culture, pérennes ; (2) un effet variable sur les espèces dicotylédones, surtout à semences persistantes ; (3) avec une tendance vers un accroissement général de la flore adventice.

**Tableau 3-14.** Synthèse des effets de la simplification du contrôle non-chimique des adventices en conditions tempérées

| Pratique majeure modifiée                 | Conséquence sur d'autres pratiques | Flore adventice  | Production (hors effet flore) | Etats du milieu   |                |         |                   |
|---|------------------------------------|--|-------------------------------|-------------------|----------------|---------|-------------------|
|   |                                    |  |                               | Matière organique | Bilan hydrique | Erosion | Compaction du sol |
| Abandon du labour                         |                                    | + densité totale<br>+ graminées<br>+ repousses de cultures<br>+ pérennes<br>± dicotylédones  | - ou 0                        | ±                 | - ou 0         | - ou 0  | + ou 0            |
| Abandon du travail du sol                 |                                    | Idem sauf<br>- pérennes dont la multiplication dépend du travail du sol<br>+ espèces à semences peu persistantes et levant à la surface du sol | - ou 0                        | ±                 | - ou 0         | - ou 0  | + ou 0            |
|   | Mulch vivant<br>Semis avancé       | -<br>+ espèces les plus fréquentes dans la culture   | - ou 0<br>+ ou 0              | 0?                | - ou 0         | -       | - ou 0            |
| Abandon du désherbage mécanique et manuel |                                    | + densité totale<br>+ espèces apparentées à la VTH   | +                             |                   |                |         | -                 |

Les effets peuvent même être visibles dans les parcelles voisines dans le cas d'espèces fréquentes et/ou à dispersion anémochore. Les mêmes conclusions se dessinent pour l'abandon du travail du sol, avec probablement des changements de flore plus importants à long terme (ex. décroissance des pérennes dépendant du travail du sol pour leur multiplication, augmentation des annuelles à semences peu persistantes), à cause d'un changement plus radical du milieu pour les adventices. Une autre particularité est la forte présence de résidus végétaux en semis direct pouvant contribuer à maîtriser les adventices. Cet effet d'étouffement est particulièrement efficace avec les mulchs vivants. L'autre pratique probable en cas d'abandon du travail du sol, le semis avancé, devrait augmenter la présence des espèces adventices déjà fréquentes en culture, sauf si le changement de date est suffisamment radical pour se faire à une période où peu d'adventices lèvent habituellement dans les conditions françaises (ex. semis de colza en juillet).

Dans le cas particulier des VTH, les augmentations de la flore adventice sont certainement tamponnées, du moins dans un premier temps, à cause d'un programme herbicide plus efficace qu'en variété non-TH. Cependant, à terme, il est probable que cet effet tampon se perde puisque la simplification du travail du sol est un facteur de risque pour l'apparition et la progression des résistances à des herbicides. Il en est de même dans le cas particulier de l'abandon du désherbage mécanique et manuel en betterave sucrière destiné à maîtriser une adventice apparentée à la VTH et pouvant de plus récupérer les allèles de tolérance.

En ce qui concerne les effets sur la production agricole et les états du milieu, les résultats des travaux étrangers sont plus difficilement transposables aux conditions françaises, parce qu'il existe souvent des très fortes interactions avec les conditions pédoclimatiques et que de nombreux travaux (notamment sur la réduction de l'érosion en cas de simplification ou abandon du travail du sol) analysés ici ne proviennent pas de conditions

comparables aux conditions françaises. Néanmoins, quelques tendances se dessinent, avec une forte décroissance du risque d'érosion. Cependant, cet effet bénéfique est généralement accompagné d'une série d'effets indésirables : augmentation de la compaction du sol, dégradation du bilan hydrique et réduction du potentiel de rendement.

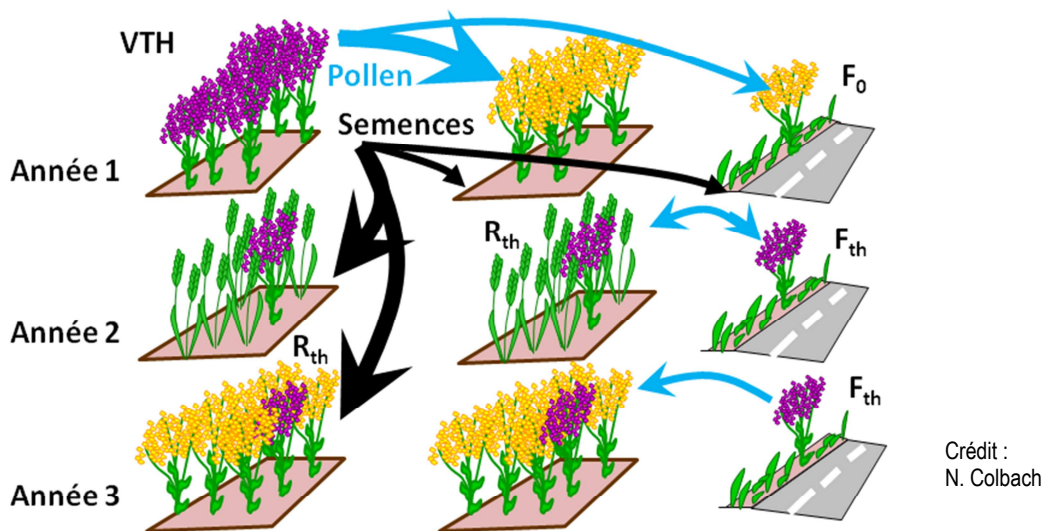
## 3.2. Apparition et diffusion des résistances

### 3.2.1. Expansion spontanée de la VTH

Nathalie Colbach, Henri Darmency, Jane Lecomte

La VTH peut "échapper" au contrôle de l'agriculteur par le biais de repousses résistantes (descendants issus de graines perdues lors des récoltes de culture et se reproduisant à l'intérieur du champ cultivé) et de plantes qui s'échappent de la parcelle et retournent à l'état sauvage à l'extérieur des champs cultivés (plantes "férales"). Ces trois types de plantes, cultivées, repousses et férales, sont interfertiles et contribuent à disperser les allèles de tolérance dans le temps et dans l'espace (Figure 3-4). À l'intérieur du champ cultivé, les repousses font partie de la flore adventice ; si elles acquièrent des allèles de tolérance, elles auront un avantage sélectif et pourraient devenir difficiles à contrôler pour l'agriculteur. De plus, si les repousses VTH sont présentes dans des variétés non-TH de la même espèce ou si elles pollinisent des plantes de variétés non-TH, elles vont être à l'origine de présence fortuite de caractères étrangers à la variété non-TH. Ceci peut constituer un problème si les récoltes de VTH et non-TH sont destinées à des filières distinctes comme pour les OGM et non-OGM. Les férales sont *a priori* à l'origine d'un risque plus faible d'altération de la qualité des récoltes puisqu'elles ne participent que via la pollinisation. Le maintien des plantes férales hors des champs peut par contre poser un problème (i) de persistance des (trans)gènes dans le paysage et (ii) une perturbation des communautés hors champs *via* leur caractère envahissant (voir section 3.2.1.2).

**Figure 3-4.** Schéma de diffusion dans le temps et l'espace du trait TH chez les descendants d'une VTH : cas du colza



Année 1 : Dispersion des semences de VTH (en violet) dans les champs et les bordures et pollinisation d'une parcelle cultivée non-TH (en jaune) et d'une population férale de l'espèce cultivée (F<sub>0</sub>) par du pollen de la VTH.

Année 2 : Repousses de VTH (R<sub>th</sub>) dans d'autres cultures de la rotation et les bordures, et pollinisation entre repousses et populations férales (F<sub>th</sub>).

Année 3 : Présence de repousses TH dans une variété non-TH dans le champ d'origine de la VTH, mais aussi dans l'autre champ jamais cultivé en VTH, et dans les bordures et populations férales qui pollinisent la variété non-TH.

### 3.2.1.1. Repousses de culture

N. Colbach, J. Lecomte, H. Darmency

Cette partie étudie la probabilité d'apparition et de dispersion de repousses de cultures pour plusieurs espèces contrastées pour lesquelles des VTH GM existent. La question n'est pas spécifique aux VTH GM mais prend une importance particulière lorsqu'il s'agit d'une résistance à l'herbicide non sélectif le plus utilisé au monde avant même la commercialisation des OGM, le glyphosate, car on va le retrouver dans plusieurs cultures et dans des milieux non cultivés. Notre étude se concentre sur l'existence et les caractéristiques des espèces de grandes cultures fréquentes en Europe. Elle analyse ensuite les effets des pratiques agricoles sur l'apparition et la dispersion de ces repousses de culture afin d'identifier les situations à risque et les moyens pour réduire ce risque. Le terme de repousses a été considéré ici au sens large, en y incluant la betterave adventice qui est une adventice apparentée à la culture plutôt qu'une repousse. Contrairement aux repousses, la betterave adventice présente des caractéristiques biologiques très différentes de la culture (ex. annualité vs. bisannualité) bien qu'il s'agisse de la même espèce.

#### 3.2.1.1.1. Méthode

La partie sur les repousses de cultures est essentiellement basée sur la synthèse bibliographique de Gruber et al. (2008), complétée par des articles plus récents. Cette synthèse se concentrait sur les 4 repousses (ou apparentées dans le cas de la betterave) de cultures GM *Bt* ou TH probables en France : maïs, blé, colza et betterave sucrière. La synthèse était basée sur une recherche bibliographique dans Scopus, Agris, CAB Abstracts, Google Scholar, ISI Web of Knowledge, Web of Science, étoffée d'articles utilisées lors de travaux pour l'évaluation de VTH GM dans le passé. Ne sont traitées que les cultures pour lesquelles des VTH GM étaient discutées en premier pour le marché Européen, déclenchant ainsi des études approfondies des conséquences de la mise en culture de telles variétés.

#### 3.2.1.1.2. Fréquence et caractéristiques des repousses de culture

Les repousses de culture résultent de semences d'espèces cultivées perdues avant ou pendant la récolte d'une culture et survivant pendant plusieurs mois ou années avant de produire des plantules dans les cultures suivantes. Les plantes férales sont aussi des descendants des cultures, mais elles lèvent en-dehors des champs, c'est-à-dire dans les bordures, le long des routes et d'autres habitats non cultivés. Les repousses présentes dans les cultures ont le même effet que les adventices classiques : elles sont en compétition avec la culture pour la lumière, l'eau et les nutriments; elles peuvent transmettre des maladies, etc. De plus, elles sont vectrices de flux de gènes vers d'autres variétés. Si ces repousses présentent un gène ou un allèle de tolérance à un herbicide, elles présentent un avantage sélectif considérable vis-à-vis de la flore adventice "sauvage".

L'importance des stocks semenciers "repousses" dépend de la perte de récolte initiale, puis de la capacité des semences à survivre et germer dans des conditions favorables à la reproduction. Le cas de la betterave adventice est un peu différent. Il ne s'agit pas ici d'une perte de semences à la récolte puisque la betterave sucrière est bisannuelle et est récoltée à la fin de la première année de végétation. La betterave adventice (*Beta vulgaris* spp. *vulgaris*) est la progéniture d'une reproduction accidentelle de la betterave sucrière, pendant sa première année de cycle, soit à cause d'impuretés génétiques annuelles dans les lots de semences issues d'hybridations entre le parent cultivé (ssp. *vulgaris*) et la betterave sauvage (ssp. *maritima*) dans les champs de production de semences de betterave, soit à cause de périodes de froid tardives vernalisant des variétés de betterave sucrière sensibles à la vernalisation (Boudry et al., 1993; Bartsch & Ellstrand, 1999; Desplanque et al., 1999). Les descendants de cette reproduction accidentelle sont annuels, ayant hérité d'un gène d'annualité de leur ancêtre sauvage ou étant vernalisé à l'état semence pendant l'hiver dans le sol. La betterave adventice peut aussi provenir de racines ou collets non récoltés qui se reproduisent dans la culture suivant la betterave sucrière, lorsqu'ils sont en deuxième année de leur cycle bisannuelle (Longden, 1993).

Le tableau 3-15 synthétise les caractéristiques des repousses des 4 cultures analysées ici. Bien qu'une partie des résultats provienne d'Amérique du Nord, on peut tirer quelques conclusions sur la probabilité d'apparition de repousses de ces 4 espèces dans les conditions françaises. La probabilité est la plus grande pour le colza, dont une très forte proportion de la récolte peut être perdue, notamment à cause d'une déhiscence précoce des

siliques (Price et al., 1996; Hobson & Bruce, 2002; Sausse et al., 2007), et dont les repousses peuvent lever et se reproduire dans la plupart des cultures d'hiver et même de printemps. La betterave adventice est très fréquente dans le Nord de la France, mais elle est généralement limitée à la betterave sucrière. Les repousses de blé existent, notamment en cultures semées à la fin de l'été et au début de l'hiver, mais elles sont bien moins fréquentes que celles de colza. Dans les conditions climatiques actuelles françaises, les repousses de maïs peuvent lever en été, mais ne survivent pas l'hiver suivant, sauf en cas d'hiver exceptionnellement chaud. Elles pourraient donc devenir en problème avec le réchauffement climatique.

**Tableau 3-15.** Synthèse des caractéristiques des repousses de VTH majeures

| Processus  | Betterave  | Blé   | Colza   | Maïs   |
|--|--|---|---|--|
| Perte de récolte                                       | Voir texte   | 35-800 semences/m <sup>2</sup> (f)  | 4000-6000 semences/m <sup>2</sup> (n)<br>15000 semences/m <sup>2</sup> (o)  | 206 kg/ha (y)  |
| Durée de la dormance primaire                          | 70%, renforcée ensuite par la dormance secondaire (a)  | 21-48 jours (g)   | Faible (p)  | Nulle  |
| Dormance secondaire                                    | Acquise à l'automne, levée au printemps (v)  | Non observée  | Jusqu'à 90% (q), si enfoui immédiatement après récolte  | Nulle  |
| Durée de persistance des semences dans le sol          | Plusieurs années, avec un maximum rapporté de 47 ans (b) avec seulement 25-30% de perte par an (v) | < 1 an (h)<br>16-24 mois (i)<br>2-3 ans (j)<br>5 ans (k)                                | < 11 ans (r)(s) Mortalité forte après pluie de semences(l), faible ensuite  | Nulle  |
| Période de levée majoritaire (France)                  | Printemps (v)  | Été-automne, après travail du sol post-blé  | automne   | Après récolte  |
| Fréquence de repousses dans les champs                 | 70% champs de betterave sucrière, UK (c)   | 2-4,2% champs UK (l)<br>18% champs Canada (m)   | Colza et blé, rares cultures de printemps (t)<br>13%-90% champs, Canada (u)   | Très rare, Europe tempérée (z)<br>2-4% champs, US (a)                              |
| Densités de repousses observées en culture             | Plusieurs milliers par ha  | 6 /m <sup>2</sup> Canada(i)   | 13/m <sup>2</sup> , haricot (v)<br>0.004-1/m <sup>2</sup> , blé, Europe (w)<br>0-6 /m <sup>2</sup> , Canada (j) (x) | 0.7/m <sup>2</sup> , Espagne (β)<br>Très rare, Europe tempérée (m)                 |
| Production de semences                                 | Plusieurs milliers par plante (d)  |   |   | Mortalité hivernale des repousses en conditions françaises                         |
| Probabilité de récolte avec une culture de même espèce | Quasi-nulle (les racines des repousses sont trop petites pour être récoltées)                      | Totale si maturité simultanée   | Totale si maturité simultanée   | Quasi-nulle à cause de la faible probabilité de repousses en conditions françaises |
| Adventice problématique                                | Très problématique en betterave sucrière, surtout si transfert de l'allèle TH                      | Uniquement dans les cultures traitées par l'herbicide auquel la repousse est résistante | Uniquement dans les cultures traitées par l'herbicide auquel la repousse est résistante                             | En Soja (d), surtout soja TH si transfert de l'allèle TH, US (v)                   |
| Risque de flux vers des espèces apparentées sauvages   | Possible vers des espèces hors champ (e)   |   | Oui   | Inexistant en Europe   |

**Betterave** : (a) : (Sester et al., 2006) ; (b) : (Desprez, 1980) ; (c) : (Longden, 1993; Sweet et al., 2005) ; (d) : (Sester et al., 2004) ; (e) : (Arnaud et al., 2003)

**Blé** : (f) : (Clark, 1985; Anderson & Soper, 2003) ; (g) : (Lunn et al., 2002) ; (h) : (De Corby et al., 2007) ; (i) : (Anderson & Soper, 2003) ; (j) : (Harker et al., 2005) ; (k) : (Beckie et al., 2001) ; (l) : (Chancellor & Froud-Williams, 1984) ; (m) : (Leeson et al., 2005)

**Colza** : (n) : (Price et al., 1996; Hobson & Bruce, 2002; Sausse et al., 2007) (Gruber et al., 2007) ; (o) : Pekrun & Claupein, 2002) ; (p) : (Gruber et al., 2004) ; (q) : (Pekrun et al., 1997; Momoh et al., 2002; Gulden et al., 2004) ; (r) : (Schlink, 1998; Legere et al., 2001; Roller et al., 2002; Simard et al., 2002) ; (s) : (Lutman et al., 2003; Gruber et al., 2007) ; (t) : (Colbach et al., 2005) ; (u) : (Simard et al., 2002; Maurice, 2004) ; (v) : (Pekrun et al., 2005; Gruber & Claupein, 2008) ; (w) : (Colbach et al., 2005; Gruber et al., 2005; Gruber & Claupein, 2007) ; (x) : (Simard et al., 2002; Harker et al., 2006)

**Maïs** : (y) : (Owen & Zelaya, 2005) (Owen, 2005) ; (z) : (Hüsken et al., 2007)(van de Wiel & Lotz, 2006) ; (α) : (Owen, 2005) ; (β) : (Melé et al., 2007) ; (γ) : (Soltani et al., 2006)

### 3.2.1.1.3. Effet des herbicides sur les repousses de culture

Le caractère de tolérance étant hérité de manière stable et mendélienne, à l'évidence les repousses des VTH sont tolérantes au même herbicide, en totalité pour les variétés homozygotes, aux trois quarts pour la majorité

des variétés hybrides (c'est-à-dire le maïs, les betteraves et 40% du colza d'hiver où la tolérance n'a été apportée que par un seul des parents et qui sont donc hétérozygotes). Elles disposent de plus des résistances aux herbicides sélectifs utilisés pour les variétés conventionnelles de la même culture. En revanche, elles restent sensibles aux autres herbicides, notamment ceux utilisés dans d'autres cultures de la rotation et qui servent déjà à les éliminer. Le glyphosate et le glufosinate, qui sont deux herbicides non sélectifs (ou "totaux"), ne sont pas utilisés sur les variétés conventionnelles, et donc le fait que les repousses y soient tolérantes ne change rien à l'efficacité du désherbage habituel pour lequel les agriculteurs peuvent utiliser toute la gamme d'herbicides autorisés sans modifier les pratiques antérieures.

Il existe en revanche un problème nouveau dans le cas des sulfonyle-urées et des autres désherbants sélectifs qui peuvent être déjà utilisés dans les autres cultures de la rotation et qui ne pourront pas y tuer les repousses. La même impossibilité se retrouve lorsque d'autres cultures de la rotation sont des VTH désherbées avec les mêmes herbicides non sélectifs auxquels les repousses sont aussi tolérantes, par exemple dans le système simplifié maïs/soja tolérants au glyphosate. Dans ces cas, le programme de désherbage des autres cultures de la rotation doit être adapté en y incluant un herbicide auquel les repousses sont sensibles, ce qui peut générer une consommation supplémentaire d'herbicides.

Les repousses de maïs VTH dans le soja ont posé les premiers problèmes avec l'arrivée des maïs tolérants au sethoxydime alors que ce produit et quelques autres "Fop" et "Dim" (des anti-graminées) étaient déjà utilisés pour lutter contre les repousses de maïs : seule l'utilisation d'imidazolinones donnait satisfaction (Young & Hart, 1997). Les repousses de maïs ont pu être contrôlées un temps par le glyphosate dans les variétés de soja tolérantes au glyphosate. Cette intervention n'a plus été possible après l'arrivée du maïs tolérant au glyphosate (Soltani et al., 2006), mais en revanche les produits graminicides sont redevenus efficaces en mélange avec le glyphosate et moyennant l'ajout d'adjuvants appropriés (Deen et al., 2006). Dans d'autres rotations, il s'agit de contrôler les repousses de coton dans le soja pour éviter la reproduction des insectes attaquant le fruit du coton. Les deux cultures utilisant des VTH tolérantes au glyphosate, des programmes de Pré- ou Post- ou Pré+Post-levée sont proposés aux USA en supplément du traitement au glyphosate (York et al., 2004). Le soja lui-même peut être une repousse redoutable dans le riz, ce qui entraîne la mise au point de programmes de désherbage complémentaires au glyphosate (Bond & Walker, 2009).

Avec la commercialisation des blés tolérants aux imidazolinones et l'anticipation des variétés tolérantes au glyphosate, plusieurs études ont été réalisées sur la destruction des repousses de blé dans du colza avec différentes combinaisons de VTH, et inversement (Rainbolt et al., 2004; Blackshaw et al., 2006). Des spécialités anciennes comme le paraquat et le diuron ressortent comme les plus efficaces au Canada. L'usage classique des phénoxypropionates et des anti-graminées dans le blé et le colza, respectivement, garantit l'éradication des repousses de variétés tolérantes à des herbicides non sélectifs, mais encore une fois en complément du glyphosate. La recherche de stades plus sensibles permet d'améliorer l'efficacité des traitements sur ces repousses (Legere et al., 2006) et des modélisations peuvent aider à formuler les stratégies les plus performantes (Squire et al., 1997).

L'offre commerciale de plusieurs types de VTH est aussi un moyen de choisir l'herbicide auquel les repousses sont sensibles. Mais cette offre variée, dans le cas d'une espèce cultivée qui se croise facilement, comme le colza, entraîne aussi l'accumulation des gènes de tolérance dans les repousses, soit que des semences bi-tolérantes soient produites accidentellement dans les pépinières (Beckie et al., 2003; Friesen et al., 2003) ou proposées dans le futur (pour utiliser deux herbicides simultanément pour lutter contre l'apparition d'adventices résistantes), soit que des repousses bi- et tri-tolérantes se forment dans les champs par flux de gènes entre variétés et repousses (Senior et al., 2002; Beckie et al., 2003; Messean et al., 2007). Une solution de désherbage chimique est toujours possible mais peut contraindre à perdre une partie des avantages technique des VTH (Beckie et al., 2004).

#### **3.2.1.1.4. Effet des autres pratiques agricoles sur les repousses de cultures**

Le Tableau 3-16 synthétise les effets des pratiques agricoles sur les repousses des 4 cultures traitées ici ; le Tableau 3-17 liste quelques recommandations pour limiter l'apparition et l'expansion de ces repousses.

**Tableau 3-16.** Synthèse des effets des pratiques agricoles sur les repousses de VTH majeures dans les cultures

| Pratique agricole    | Betterave   | Blé   | Colza   | Maïs                 |
|----------------------|---|---|---|----------------------|
| Abandon du labour    | +, BS<br>-, sinon <sup>(a)</sup>                            | +, UK <sup>(c)</sup>  | + <sup>(h)</sup>  |                      |
| Semis direct         |   | +, Canada <sup>(d)</sup><br>+, US <sup>(e)</sup><br>0, Canada <sup>(d)</sup><br>-, Australie <sup>(f)</sup> | +, Canada <sup>(i)</sup><br>+, D, CH <sup>(j)</sup><br>0, Canada, Australie <sup>(k)</sup>        | +, US <sup>(p)</sup> |
| Retard de semis      | -, France <sup>(a)</sup>                                    | -, France<br>0, Canada <sup>(g)</sup>   | -, France <sup>(l)</sup>  |                      |
| Variété              | + si sensibles à la vernalisation <sup>(b)</sup>            |   | + si dormance primaire <sup>(m)</sup><br>- si demi-nain <sup>(n)</sup><br>+ si déhiscence précoce |                      |
| Semences             | + si forte proportion d'hybrides accidentels <sup>(b)</sup> |   |   |                      |
| Désherbage mécanique | -, France <sup>(a)</sup>                                    | Rare en agriculture intensive française   | Rare en agriculture intensive française   |                      |
| Désherbage manuel    | -, France <sup>(a)</sup>                                    | Inexistant en France  | Inexistant en France  | Inexistant en France |
| Récolte              |   |   | - si perte réduite <sup>(o)</sup>   |                      |

**Betterave** : (a) : (Tricault et al., 2009) ; (b) : (Colbach et al., 2010)

**Blé** : (c) : (Christian, 1993) ; (d) : (Harker et al., 2004; Harker et al., 2005; De Corby et al., 2007) ; (e) : (Anderson & Nielsen, 1996) ; (f) : (Wicks et al., 2000) ; (g) : (Harker et al., 2004)

**Colza** : (h) : (Gruber et al., 2005; Colbach et al., 2008) ; (i) : (Simard et al., 2002; Beckie et al., 2006) ; (j) : (Streit et al., 2003; Gruber et al., 2005) ; (k) : (Harker et al., 2006) (Gulden et al., 2003; Baker & Preston, 2008) ; (l) : (Colbach, 2009) ; (m) : (Gruber et al., 2004) ; (n) : (Fargue et al., 2004; Fargue et al., 2005; Al-Ahmad et al., 2006) ; (o) : (Sausse et al., 2007)

**Maïs** : (p) : (Owen & Zelaya, 2005) (Owen, 2005)

**Tableau 3-17.** Quelques recommandations pour la gestion des repousses des trois espèces les plus probables, basées sur les Tableaux 3-15 et 3-16

| Pratique culturale   | Betterave   | Blé   | Colza   |
|----------------------|---|---|---|
| Rotation             | Diversifier les rotations, alterner cultures de printemps et cultures d'hiver<br>Alterner les tolérances et herbicides dans les rotations |   |   |
|                      | Réduire la proportion de betterave sucrière, autres cultures sarclées et autres cultures de printemps dans la rotation                    | > 2 ans entre deux blés   | > 4 ans entre deux colzas<br>Réduire la proportion de cultures<br>Éviter les haricots et autres cultures dicotylédones avec peu de solutions chimiques, surtout après colza |
| Travail du sol       | Labour seulement avant betterave sucrière, peu ou pas de travail avant les autres cultures  | Faux semis, labour avant cultures où il n'y a pas de solution herbicide | Pas de faux semis avant la fin de l'été après colza, labour avant colza, travail simplifié sinon  |
| Date de semis        | Retarder les semis de betterave et autres cultures de printemps   | Retarder les semis des cultures d'hiver                                 | Retarder les semis de colza et céréales d'hiver   |
| Variétés             | Peu sensibles à la vernalisation  |   | Sans déhiscence précoce<br>Sans dormance primaire   |
| Semences             | Sans hybrides accidentels   |   |   |
| Désherbage manuel    | Arracher les montées (pour éviter la création et l'expansion de populations de betterave adventice, notamment TH)                         | Rare en agriculture intensive française                                 | Rare en agriculture intensive française   |
| Désherbage mécanique | Limite les populations TH   | Inexistant en France  | Inexistant en France  |
| Récolte              |   |   | Optimiser date et réglage du matériel pour limiter les pertes à la récolte  |

Généralement, les tendances sont claires et stables entre études analysées, à l'exception du travail du sol dont l'effet interagit fortement avec les conditions environnementales. Dans les conditions proches des conditions françaises (sol humide et tempéré au moment du travail du sol), le travail du sol stimule la germination des



semences de repousses pendant l'interculture et réduit ainsi le stock semencier au semis et la levée de repousses dans la culture suivante ; ce n'est pas le cas si le sol est sec ou trop froid (Harker et al., 2004). Cette interaction explique aussi les variations observées pour les effets du retard de semis (Harker et al., 2004). La situation du colza est particulière; un travail précoce après la récolte du colza enfouit les semences et les rend dormantes, créant un stock semencier persistant et copieux et augmentant l'infestation des cultures suivantes (Colbach et al., 2008; Pekrun & Lutman, 1998; Gruber et al., 2005). Si il n'y a pas de réalimentation du stock, cette différence disparaît cependant au cours du temps (Baker & Preston, 2008).

Chez la betterave, l'effet du labour dépend de la culture qui suit. Le labour réduit la germination et la levée des betteraves adventices et est donc préconisé avant la culture à risque, la betterave sucrière. Mais il augmente aussi la survie des semences ; il est donc préférable de ne pas labourer après une betterave sucrière, pour que les semences germent et disparaissent du stock. Ces germinations ne posent pas de problème car la betterave sucrière est généralement suivie de cultures dans lesquelles la betterave adventice se reproduit mal (Sester et al., 2004) et où l'on dispose de solutions herbicides pour l'éliminer.

### 3.2.1.1.5. Dispersion spatiale des repousses

Les repousses de colza sont celles qui ont le plus de potentiel de dispersion vers les champs voisins proches et lointains, ce qui a été confirmé par des analyses de parenté des repousses de colza en conditions françaises (Devaux et al., 2005). Les semences de blé et de maïs sont peu déhiscentes ; le seul vecteur de dispersion serait donc le trafic agricole (Tableau 3-18). Les populations de betteraves adventices dans un champ donné sont généralement issues du champ même, bien que des migrations négligeables (mais potentiellement importantes dans un contexte de flux de gènes) vers les champs voisins soient possibles en cas de désherbage manuel avec dépôt des montées arrachées en bordure du champ.

**Tableau 3-18.** Synthèse des vecteurs et potentiel de dispersion spatiale des repousses de VTH majeures dans les cultures

|                                      | Betterave    | Blé  | Colza                                  | Maïs                                   |
|--------------------------------------|--------------|--|--|--|
| Engins de récolte                    |              | Dispersion champ-à-champ (Seefeldt et al., 1999) |  |  |
| Dispersion "naturelle" des semences  |              | Peu déhiscent                                    | Jusqu'à 4 m (Colbach et al., 2001)     | Peu déhiscent                          |
| Dispersion lors du désherbage manuel | Champ voisin | Désherbage manuel inexistant en France           | Désherbage manuel inexistant en France | Désherbage manuel inexistant en France |

### 3.2.1.2. Les populations férales ou la dynamique de retour à l'état sauvage

#### 3.2.1.2.1. La féralité

La dispersion du trait de tolérance aux herbicides hors de la parcelle cultivée peut se faire par le biais des plantes férales, que ces plantes soient TH ou qu'elles aient acquis le trait par transfert de gènes. Initialement, le terme "féral" vient de la zoologie. Il signifie : "qui a abandonné son caractère domestique et est en particulier capable de se reproduire en dehors de la domestication". Transposé aux plantes, une plante férale est une plante qui dérive pleinement ou en partie d'une espèce cultivée et est capable de se reproduire seule, sans dépendre directement des pratiques agricoles (Gressel, 2005). La féralité d'une population traduit avant tout sa capacité à s'installer en dehors du compartiment cultivé, réservant aux populations des champs le terme de repousses (Claessen et al., 2005; Garnier et al., 2006). Selon les types d'évolutions possibles des plantes adventices (De Wet & Harlan, 1975), les plantes férales représentent une étape plus ou moins avancée vers la dédomestication, notamment grâce à la présence ou à l'acquisition de traits de plantes adventices.

Certaines férales peuvent d'ores et déjà être considérées comme de nouvelles espèces ou sous-espèces adventices, obtenues uniquement par dédomestication de la forme cultivée (endoféralité) : blé tendre au Tibet (Ayal & Levy, 2005), forêts d'oliviers prenant la place d'espèces natives en Australie (Bervillé et al., 2005) et peut-être aussi riz rouge ou riz adventice (Bres-Patry et al., 2001), radis, *Raphanus sativus* (Snow et al., 2001),

betterave (*Beta vulgaris*), où des croisements entre différentes variétés cultivées auraient abouti à la création d'une nouvelle adventice (Desplanque et al., 1999). Dans d'autres cas, l'introggression de gènes de populations sauvages semble avoir accéléré le processus (exoférialité). Elle est d'ailleurs soupçonnée par certains auteurs dans les deux derniers exemples. Dans le cas des populations férales de radis, l'introggression de *R. raphanistrum* pourrait avoir été un facteur majeur dans la conversion des premières échappées cultivées en adventice efficace (Panetsos & Baker, 1967), mais ce n'est pas démontré.

La quasi-totalité des plantes de grandes cultures forment des populations férales dans au moins une région du monde (Tian et al., 2010; Tothova et al., 2010; Travlos & Chachalis, 2010; Wang et al., 2010b). Parmi les 25 cultures les plus importantes en termes de surfaces, on compte des populations férales de blé, de riz, de maïs, de soja, d'orge, de sorgho, de millet, de coton, de haricots, d'arachides, de colza, de tournesol, de canne à sucre, de manioc, de café, de cocotiers, de pois chiche, d'oliviers, de seigle. Espaces cultivés et sauvages sont donc extrêmement liés, que ce soit par leur imbrication physique (Marshall, 2002; Marshall & Moonen, 2002) ou leurs nombreuses interactions écologiques et génétiques (Hancock et al., 1996; Ellstrand et al., 1999; Stewart et al., 2003; Clements et al., 2004). Tout changement se produisant dans le compartiment cultivé (modifications des pratiques agricoles, introduction de nouvelles espèces ou de nouveaux gènes) a donc de forts risques de se répercuter sur les communautés sauvages (Hails, 2000; Hails, 2002).

Certaines espèces de plantes férales sont à même de se reproduire avec succès sans l'intervention de l'homme (Sattin et al. 1999; Bigler et al., 1995; White et al., 2006). C'est le cas du colza dont les populations férales sont à même de persister de nombreuses années *via* l'autorecrutement et/ou *via* la banque de graines du sol (Sattin et al. 1999; Tal et al. 1997; Momoh et al., 2002; Pivard et al., 2008a; Pivard et al., 2008b; Knispel & McLachlan, 2010; Schooler et al., 2010; Wang et al., 2010a; Tricault et al., 2011). Ces populations sont présentes un peu partout hors des champs, dans les bordures de champs, de route et les zones urbaines. Certaines populations férales peuvent persister plusieurs années au même endroit (Pessel et al. 2001). Les graines des populations férales persistent dans le sol formant une banque de graines, et si une population n'émerge pas une année donnée, elle peut réapparaître plus tard et être dispersée dans le paysage par les engins agricoles ou les véhicules (Garnier et al., 2008; Liu et al., 2001)

### 3.2.1.2.2. Impact de la résistance aux herbicides

Les populations férales peuvent être relativement abondantes localement et poser dans ce cas des problèmes de contamination (Liu et al., 2011; Wang & Yang, 2011). Les flux de gènes peuvent intervenir des VTH vers les populations férales - plusieurs cas de présence de transgènes de tolérance aux herbicides ont ainsi été retrouvés dans les populations férales de colza au voisinage des champs de colza GM TH (Vancetovic et al., 2010) -, mais aussi *via* le transport des graines dans des zones où le colza GM n'est pas cultivé (Aono et al., 2006; Nishizawa et al., 2009). Les populations férales peuvent potentiellement constituer des relais pour la dissémination des gènes de tolérance aux herbicides dans l'espace, compte tenu du corridor qu'elles forment pour les pollinisateurs (Whitaker et al., 2010; Wang & Yang, 2011), mais aussi dans le temps, compte tenu de leur banque de graines persistante et importante (Rubin et al. 1997; Wang et al., 2010a). Suite à la compilation de données de plus d'une dizaine d'années des plans de surveillance de la culture de colza GM tolérant à certains herbicides (GM TH) aux USA (Knispel et al., 2010) concluent que les populations férales GM TH sont maintenant devenues des composantes permanentes des paysages agricoles de l'Ouest du Canada. Aux USA, un échantillonnage récent des colzas le long des voies de communication du Nord Dakota montre que 80% des populations férales présentent la tolérance au glyphosate ou au glufosinate (Schafer et al., 2011). La tolérance aux imidazolinones n'a pas été testée, mais comme elle concerne 10% des surfaces de colza, on peut penser que la quasi-totalité des populations présentent des individus issus de VTH et que la caractéristique TH est en voie de fixation partout. De plus, 0,7% des plantes présentent une double tolérance, ce qui atteste que ces plantes ne sont pas seulement des semences tombées des camions mais qu'elles participent bien à la constitution de populations férales, à leurs flux de pollen et à leur reproduction.

En présence de pression de sélection, c'est-à-dire si les plantes férales tolérantes à un herbicide sont traitées hors des champs avec cet herbicide, les génotypes TH peuvent en effet augmenter rapidement. Si les plantes férales de colza TH représentent une source de présence fortuite relativement faible de génotypes TH *via* le pollen compte tenu de leur pression pollinique faible, elles peuvent offrir des opportunités de recombinaison génétique, d'empilement de gènes et d'évolution de génotypes qui sous pression de sélection augmenteront rapidement et pourront recoloniser les champs (Squire et al. 2010). De plus, ces plantes toujours sous pression

de sélection sont susceptibles d'envahir les espaces semi-naturels, compte tenu de leur avantage sélectif, ce qui aura des conséquences indirectes sur la biodiversité de ces milieux. Les approches de modélisation qui intègrent les processus de dynamique mais aussi les processus de dispersion de ces populations sont des outils précieux pour évaluer les déterminants de cette invasion (Garnie et Lecomte, 2006).

### 3.2.1.3. Conclusion

La perte de contrôle de la technologie des VTH est inhérente à l'agriculture. D'une part, l'agriculteur sème et récolte ses cultures sans avoir l'assurance que 100% des semences soient, respectivement, levés et récoltés. D'autre part, une mosaïque paysagère très ouverte fait coexister des VTH et des variétés non-TH, des champs cultivés et des milieux incultes et sauvages. Dans ces conditions, il est illusoire d'imaginer que l'on puisse supprimer les fuites de matériel végétal, ni cloisonner complètement les différents compartiments, spatiaux et temporels, où des VTH échappées peuvent se développer.

Il existe bien sûr des différences liées à la biologie des plantes. Maïs et blé ont une probabilité quasi-nulle de développer des repousses dans les conditions françaises, à cause de leur sensibilité au gel hivernal (maïs), de la destruction des repousses avant le semis de la culture suivante (blé), et d'une longévité très faible de leurs semences (maïs et blé). Ces deux espèces pourraient éventuellement développer des repousses en cas de radoucissement du climat hivernal et en cas de simplification du travail du sol détruisant les repousses levées en été. Pour le maïs, l'échappée de gènes hors des VTH ne serait donc un problème que si des filières VTH et non-TH distinctes étaient mises en place, à cause des pollinisations croisées entre champs. De telles filières poseraient un problème pour le blé uniquement en cas de seuil d'impureté très faible, puisque cette espèce est presque totalement autogame. Notons toutefois que si des variétés hybrides de blé venaient à être commercialisées, on assisterait à la sélection de variétés ouvrant davantage leurs fleurs et exportant plus de pollen afin d'améliorer le rendement des productions de semences hybrides certifiées, caractéristiques qui se retrouveraient au champ et augmenteraient les flux de pollen.

Colza et betterave présentent une forte probabilité de développer des repousses, notamment parce que leurs semences présentent une faible mortalité et/ou une forte aptitude à la dormance secondaire, avec un cycle de dormance calqué sur le cycle des cultures où les repousses se reproduisent le mieux (cultures d'hiver pour les repousses de colza, betterave sucrière pour la betterave adventice). L'échappée des gènes de tolérance hors des VTH peut constituer un problème si des repousses VTH apparaissent, avec plusieurs cas probables : 1) betterave adventice TH en betterave sucrière TH ; 2) colza (ou toute autre espèce à forte probabilité de repousses) TH suivi par une culture gérée avec le même herbicide, ce qui entraînerait l'utilisation d'herbicides supplémentaires pour gérer les repousses de colza ; 3) co-existence spatio-temporelle de colza (ou toute autre espèce à forte probabilité de repousses) TH et non-TH, en cas de séparation de filières VTH et non-TH.

Les changements de pratiques agricoles les plus probables en cas d'introduction des VTH qui permettent un traitement de contact en post-levée, comme la simplification ou l'abandon du travail du sol, la simplification des rotations et l'avancée des semis, risquent d'augmenter fortement la prolifération des repousses. Pour une culture donnée, les études par expérimentation et simulation montrent que la probabilité de repousses et de flux de gènes varie énormément en fonction des paysages et des systèmes de culture. En découlent plusieurs remarques : 1) le niveau de risque de chaque paysage et type de système de culture doit être évalué pour s'assurer d'une bonne gestion du risque tout en évitant des contraintes inutiles dans les cas à faible risque ; 2) face à cette variabilité et à la complexité du système étudié, la voie expérimentale doit être complétée par des approches de modélisation et simulation intégrant les effets des paysages et des systèmes de culture.

Dans le cas du colza, des travaux de suivis en Europe, des travaux de modélisation ainsi que les données de plus d'une dizaine d'années des plans de surveillance de la culture de colza GM tolérant à certains herbicides aux USA, aboutissent au constat que le caractère TH migrera de manière inéluctable vers les populations férales de colza. Les traits TH persisteront hors des parcelles cultivées essentiellement par la persistance des graines dans le sol. En ce qui concerne la pureté des récoltes, les populations férales, relativement petites par rapport aux cultures, ne contribueront que modérément aux flux de pollen TH dans les champs non-TH. Les conséquences pratiques en termes de gestion dépendront du seuil de pureté escompté. Dans le cas de très grandes populations férales, leur gestion peut avoir des conséquences sur la biodiversité de ces milieux. Compte tenu de la persistance des graines des populations férales hors des champs, ces populations sont susceptibles

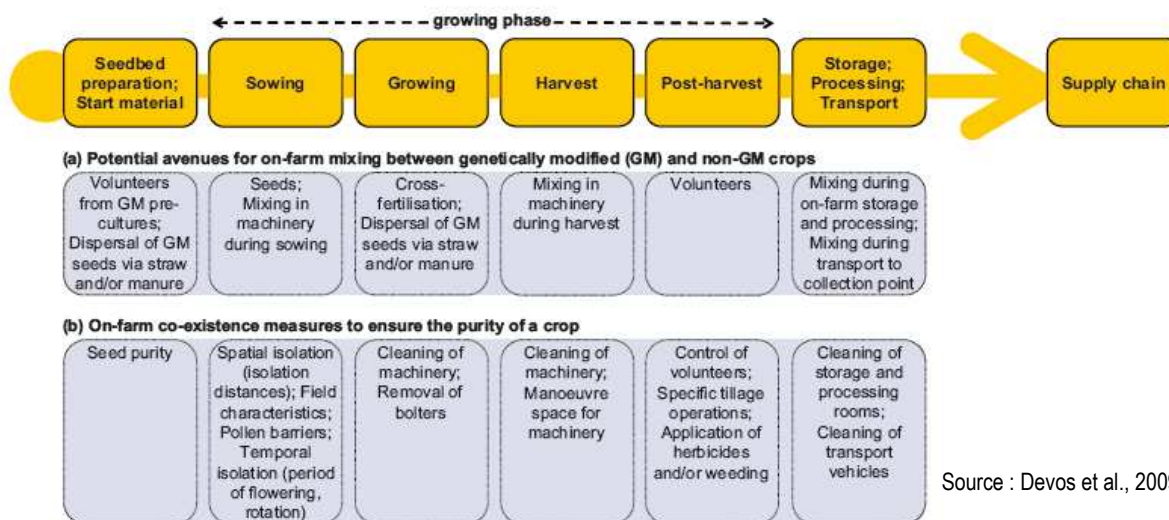
d'envahir les communautés hors champs soumises ponctuellement à un traitement herbicide, et ceci d'autant plus que l'herbicide associé à la VTH est à large spectre.

Du fait de leur prolifération, l'arrivée dans l'écosystème sauvage des repousses, même non suivie d'implantation permanente, et l'établissement de populations férales pourrait bouleverser les équilibres biologiques, par exemple en réduisant les ressources disponibles pour les espèces tant végétales qu'animales de l'écosystème, mais aussi en attirant et en hébergeant des organismes auparavant absents et éventuellement dommageables. D'une manière générale, une nouvelle espèce qui est transplantée dans un nouvel écosystème change les communautés des milieux où elle est transplantée, et notamment les espèces avec lesquelles elle développe des relations mutualistes (mycorhizes, pollinisateurs...). Des études montrent ainsi que les plantes qui arrivent dans un nouveau milieu profitent plus des mycorhizes du sol (Callaway et al., 2001; Callaway et al., 2003; Callaway et al., 2004) et qu'elles attirent davantage les pollinisateurs que les plantes autochtones (Chittka & Schurkens, 2001; Brown et al., 2002). De plus, les plantes cultivées *per se* ont des caractéristiques qui en font de potentielles plantes envahissantes. Ainsi, dans les agroécosystèmes américains, parmi les 500 plantes introduites qui sont devenues des plantes adventices des cultures posant des problèmes économiques (Pimentel et al., 2005), nombre d'entre elles étaient des plantes cultivées (Pimentel et al., 1989).

### 3.2.2. Flux et transferts de gènes

Le gène qui porte la tolérance (qu'il ait été inséré dans la plante, ou qu'un gène existant ait été muté pour donner la résistance) peut être mobile et être diffusé d'une part vers des cultures non-TH de la même espèce (Fig.3-5), et d'autre part vers des espèces apparentées à la VTH par croisement sexué. Ces flux sont alors à l'origine de présence fortuite de caractères nouveaux dans les variétés non-TH, ce qui peut constituer un problème si les récoltes de variétés TH et non-TH sont destinées à des filières distinctes, comme pour les OGM et non-OGM. Ces flux vont aussi contribuer à faire apparaître des adventices résistantes aux herbicides concernés.

**Figure 3-5. (a)** Voies potentielles de mélange involontaire à la ferme entre des cultures GM et non-GM ; **(b)** Mesures de coexistence à la ferme pour garantir la pureté variétale tout au long de la production



#### 3.2.2.1. Flux vers les cultures non-TH

Nathalie Colbach

Cette partie étudie la probabilité de flux de gènes des VTH vers les non-TH, *via* pollen et repousses de cultures, pour plusieurs espèces contrastées pour lesquelles des VTH existent. La flore adventice apparentée peut théoriquement aussi constituer un vecteur de transmission, mais cette voie de flux peut être considérée comme négligeable de-vant l'ampleur du phénomène des repousses. Cette partie se concentre d'une part sur les travaux mettant en évidence des flux entre variétés TH et non-TH, et d'autre part sur les effets des pratiques agricoles sur ces flux, afin d'identifier les situations à risque et les moyens pour réduire ce risque. Parmi les voies de

diffusion possible, cette section ne traite que des flux *via* le pollen émis par les VTH, et *via* le pollen et les semences des repousses et plantes férales dans le paysage. Les autres flux (par le matériel agricole, post-récolte, etc.) ne sont pas traités ici.

L'échappée des gènes de tolérance hors des VTH peut être à l'origine de deux problèmes. 1) Lorsque les graines sont récoltées (colza, maïs, etc.), le flux de gènes entre variétés TH et non-TH n'est un problème que si les deux types de variétés sont destinés à des filières différentes, avec des seuils de pureté génétique à respecter. Dans le cas de la betterave sucrière dont on récolte les racines, la pureté génétique n'est pas un problème puisque la probabilité de récolter des repousses est quasi-nulle et le produit vendu (le sucre) ne contient pas d'ADN. 2) Indépendamment du produit récolté, le flux de gènes des VTH vers les repousses est à l'origine de repousses TH, qui posent un problème de désherbage pour l'agriculteur surtout dans des cultures utilisant le même herbicide que celui auquel la repousse est tolérante. De plus, des tolérances multiples peuvent se former au gré des pollinisations croisées entre cultures, repousses et populations férales. Ainsi, dans le cas du colza, des repousses présentant deux et même trois tolérances ont été rapidement observées au Canada (Hall et al., 2000 ; Beckie et al., 2003 ; Knispel et al., 2008).

### **Encadré 3-1. Cas particulier de l'identité variétale dans les productions de semences**

Henri Darmency

*La production des semences vendues aux agriculteurs est très encadrée en France et suit la réglementation Européenne (GNIS, 2011). La production de semences certifiées de VTH doit s'y conformer, quitte à renforcer les normes d'isolement des parcelles de reproduction dans le cas des variétés GM afin d'éviter de dépasser les seuils réglementaires dans les parcelles de production voisines de filières conventionnelles non-GM et d'agriculture biologique (respectivement 0,9 et 0,1% dans le produit fini). A priori, les risques les plus importants sont attendus au niveau des échanges de pollen entre parcelles de multiplication pour les espèces allogames ou les variétés utilisant des porte-graines mâle-stériles. Cependant, les "impuretés" variétales peuvent être issues des flux de pollen entre lignées à tous les niveaux des processus de sélection, comme le souligne l'agence de contrôle américaine (APHIS) dans le cas de la contamination d'un riz Clearfield® par le transgène de tolérance au glufosinate contenu initialement dans les lignées alors non autorisées LL601 et LL62 (APHIS, 2007). L'exemple canadien dans le cas du colza montre qu'un défaut de traçabilité conduit vite à des mélanges de types variétaux dans les lots de semences certifiées : dès 2002, sur un échantillon de 27 lots certifiés, 9 enregistraient plus de 0,3% de tolérance à l'un des trois herbicides testés (Friesen et al., 2003). Par ailleurs, l'analyse précise de l'origine des repousses de colza ayant accumulé des tolérances à plusieurs herbicides dans les champs au Canada a montré que des semences double-tolérantes avaient largement contribué à la présence de repousses double-tolérantes en 2000 et triple-tolérantes ultérieurement (Beckie et al., 2003).*

#### **3.2.2.1.1. Méthode**

Cette partie est basée principalement sur la synthèse bibliographique de Gruber et al. (2008), complétée par des articles plus récents. Cette synthèse se concentrait sur les 4 repousses (ou apparentées dans le cas de la betterave) de cultures GM *Bt* ou HT probables en France, maïs, blé, colza et betterave sucrière (en excluant orge et tournesol). La synthèse était basée sur une recherche bibliographique dans Scopus, Agris, CAB Abstracts, Google Scholar, ISI Web of Knowledge, Web of Science, étoffée de nos propres publications et d'articles accumulés au cours de notre vie de chercheurs. Le cas du maïs est un peu particulier dans la mesure où il ne s'agit pas d'une VTH mais d'une variété GM *Bt*. Cependant, ce type de gène est un marqueur intéressant pour suivre le flux de pollen dans les paysages et peut être extrapolé aux VTH dans la mesure où l'avantage sélectif du gène n'intervient pas dans cette dispersion.

#### **3.2.2.1.2. Vecteurs de flux**

Les semences de repousses récoltées avec des variétés non-TH, la pollinisation croisée entre variétés non-TH d'une part, et VTH, repousses ou férales d'autre part, résulte dans la présence d'impuretés génétiques dans la récolte des variétés non-TH (Tableau 3-19).

**Tableau 3-19.** Vecteurs de flux de gènes entre VTH et non-VTH pour quelques cultures majeures

|   | Betterave sucrière <sup>6</sup> | Blé   | Colza  | Maïs  |
|---|---------------------------------|---|--|---|
| Existence de repousses  | Oui, en betterave               | Possible, dans la culture suivant un blé  | Oui, en colza et ailleurs  | Non   |
| Possibilité de récolte des repousses avec une culture de même espèce  | Non                             | Oui   | Oui  |   |
| Mise en évidence au champ de croisement et de récolte de repousses avec cultures  |                                 | (Wray 1993 ; Gaines et al., 2007a)  | (Darmency et al. 2007; Begg et al., 2007; Messéan et al., 2007; Begg et al., 2008) |   |
| Distance de dispersion du pollen<br>Probabilité de pollinisation ou % de pollen trouvé à x m de la plante-source <sup>#</sup>   |                                 |   |  |   |
|   | (Darmency et al., 2009)         |   | (Klein et al., 2006; Devaux et al., 2008)  | (Klein et al., 2003)                            |
| 10 m  | 3,11.10 <sup>-5</sup>           |   | 1,14.10 <sup>-4</sup>  |   |
| 50 m  | 3,76.10 <sup>-6</sup>           |   | 7,57.10 <sup>-7</sup>  |   |
| 100 m   | 1,10.10 <sup>-6</sup>           |   | 1,58.10 <sup>-7</sup>  |   |
| Distance d'isolement calculée à partir de modèles de dispersion pour respecter le seuil de 0.9% de semences GM dans les récoltes non-GM en l'absence de repousses dans le paysage (Beckie & Hall, 2008) |                                 |   |  |   |
|   |                                 | 0-41 m  | 0-5 m  | 0-35 m  |
| Distance de dispersion de semences par gravité (à partir d'une plante) fortuite   |                                 |   |  |   |
|   |                                 |   | 2-4 m (Colbach et al., 2001)   |   |
|   |                                 | Très longues distances, entre silos et usines (Yoshimura et al., 2006), le long des chemins de fers et route (Pessel et al., 2001) (von der Lippe & Kowarik, 2007), autour des ports (Yoshimura et al., 2006), (Kim et al., 2006) |  |   |
| Existence de repousses de champs voisins fleurissant simultanément avec des cultures de la même espèce  | Oui                             | Oui   | (Gruber et al., 2004; Colbach et al., 2005; Gruber & Claupein, 2008)               |   |
| Mise en évidence au champ de croisement cultures x repousses de champs voisins  |                                 | Rien à ce jour  | Oui (Devaux et al., 2005)  |   |
| Existence de férales fleurissant simultanément avec des cultures de la même espèce  | Non                             | Non   | Oui  | Non   |
| Mise en évidence au champ de croisement cultures x férales  |                                 |   | Oui  |   |
| Mise en évidence au champ de croisement entre variétés  | Non                             | Oui (Gaines et al., 2007a; Gaines et al., 2007b)  | Oui (Devaux et al., 2005; Devaux et al., 2008)                                     | Oui (Jemison & Vayda, 2001; Klein et al., 2003) |

<sup>#</sup> La quantité de pollen déposé à une distance donnée augmente fortement avec la taille de la source. Afin de pouvoir comparer les espèces entre elles, nous n'avons utilisé ici que des modèles de dispersion individuelle.

### 3.2.2.1.3. Effet des pratiques agricoles

La section 3.2.1.1 a examiné plus particulièrement l'effet des pratiques agricoles sur les repousses de culture, sous l'aspect densité dans un champ donné. Ici, nous regarderons plus particulièrement l'effet sur la teneur en semences TH des récoltes non-TH. Ces effets ont surtout été étudiés à l'aide de modèles de simulation puisqu'il est difficile d'étudier ces effets nombreux, cumulatifs et interactifs au champ. De plus, la présence fortuite de gènes externes dans les récoltes n'est généralement pas suivie dans les pays (USA, Canada...) où les OGM (les VTH les plus fréquents à ce jour) sont cultivés. À l'inverse, le seul OGM cultivé à grande surface en Europe (où cette présence fortuite est déterminée) est le maïs Bt qui n'est pas une VTH.

<sup>6</sup> Betterave récoltée en fin de première année pour ses racines. À ne pas confondre avec les champs de betteraves pour la production de semences qui est une situation très différente.

Nous examinerons ici trois cas d'étude contrastés : 1) le cas du maïs, en regardant l'effet de la dispersion de pollen entre cultures sur le %TH des cultures non-TH ; 2) le cas de la betterave sucrière, avec l'effet de la dispersion de pollen des cultures et des repousses vers des champs voisins et l'apparition de repousses TH dans des champs non-TH. Nous ne traitons pas ici de la betterave en production semencière, pour laquelle les flux et les effets des pratiques agricoles sont très différents ; 3) le cas du colza, avec la dispersion de pollen entre cultures et l'existence de repousses et férales.

#### Cas du maïs

Le cas du maïs est relativement simple dans la mesure où les repousses n'interviennent pas dans le flux de gènes entre variétés TH et non-TH. Des repousses de maïs ont bien été observées l'année suivant une culture de maïs, mais uniquement lorsque les hivers sont doux, principalement dans le Sud de l'Europe (Palau delmas *et al.*, 2009). Dans les conditions françaises actuelles, les repousses peuvent donc être négligées, mais cela pourrait changer en cas de réchauffement des températures hivernales.

Le flux de gènes est donc uniquement dû à la dispersion de pollen. Le maïs est une plante essentiellement allogame, avec des fleurs mâles et femelles séparées et à floraisons décalées. Le pollen est disséminé de plante à plante par contact physique et par le vent (Bateman, 1947; Treu and Emberlin, 2000). La conduite des cultures a peu d'effet sur le flux de gènes, à l'exception du choix des variétés et des dates de semis jouant sur la synchronisation des dates de floraison. Le Tableau 3-20 quantifie quelques effets de la gestion des paysages et des cultures, à partir d'études de simulation (Le Bail *et al.*, 2010).

**Tableau 3-1.** Synthèse de quelques effets de gestion des cultures et du paysage sur la présence fortuite de gènes étrangers à la variété à partir de l'exemple de la co-existence entre maïs GM et non-GM sur des paysages réels

|  | Effet sur le %GM dans les récoltes non-GM |
|--|---|
| <b>Variétés de maïs</b>                |   |
| Désynchronisation des floraisons       | Réduction de 2%-20%                       |
| <b>Assolement</b>                      |   |
| Fréquence de maïs dans le paysage (x3) | Multiplié par 3-10                        |
| Fréquence de variétés GM (x5)          | Multiplié par 3-9                         |
| <b>Structure du paysage</b>            |   |
| Surface moyenne des champs (x5)        | Divisé par 2-4                            |

Source : Le Bail *et al.*, 2010

L'effet de l'assolement (% de maïs dans le paysage, % de variétés GM dans les champs de maïs) est prépondérant, déterminant la distance que doit parcourir le pollen pour féconder une variété voisine. Malgré un effet de la structure du parcellaire (taille et forme des champs) sur cette dispersion, d'autres études de simulation montrent que cet effet est faible comparé à celui de l'assolement (Viaud *et al.*, 2008). Simulations et expérimentations ont montré que, à cause de l'importance de la dispersion du pollen, la vitesse du vent (Le Bail *et al.*, 2010; Bateman, 1947; Treu and Emberlin, 2000; Brunet *et al.*, 2009) et la synchronisation des floraisons (Hüsken *et al.*, 2007; Le Bail *et al.*, 2010; Palau delmas *et al.*, 2008) sont également des facteurs non négligeables, augmentant la probabilité de pollinisation croisée. Outre la réduction de la part de maïs et de maïs GM dans l'assolement, des études expérimentales et des méta-analyses identifient des distances d'isolement de quelques dizaines de mètres (van de Wiel & Lotz, 2006; Hüsken *et al.*, 2007; Sanvido *et al.*, 2008; Langhof *et al.*, 2010) ainsi que le détournement d'une bande de plusieurs mètres des champs non-GM voisins (e.g. Gustafson *et al.*, 2006; Messeguer *et al.*, 2006; Weekes *et al.*, 2007; Langhof *et al.*, 2010) pour respecter le seuil maximum de 0,9% d'OGM dans les récoltes non-OGM. Le détournement est cependant difficile à mettre en œuvre puisque, en principe, c'est l'agriculteur semant les OGM qui est en charge de la mise en place des mesures de coexistence. Par conséquent, la plupart des recommandations se focalisent sur les distances d'isolement, des zones tampons (semis d'une bande non-OGM autour du champ OGM pour diluer le pollen OGM sortant) et le décalage des floraisons (Czarnak-Klos & Rodriguez-Cerezo, 2010 ; Messéan *et al.*, 2006).

## Cas du colza

Le cas du colza est le plus complexe, avec une dispersion spatio-temporelle *via* pollen et semences, et l'existence de populations férales hors champ. Comme dans le cas précédent, les études les plus complètes sont basées sur des simulations avec des modèles, le plus complet du point de vue des pratiques agricoles étant le modèle GENESYS (voir synthèse dans Colbach, 2009). Le Tableau 3-21 synthétise les résultats de ces études sur les effets des pratiques agricoles sur la teneur en semences TH des récoltes non-TH dans le cas du colza tolérant au glyphosate. Il en ressort que la maîtrise des repousses est le facteur-clé pour limiter le flux des VTH vers les non-TH, essentiellement *via* les effets de la rotation et de la gestion des cultures.

**Tableau 2-21.** Synthèse des effets des pratiques agricoles sur la teneur en semences TH des cultures non-TH.  
Cas du colza tolérant au glyphosate

|   | <b>Effet sur le %TH dans les récoltes non-TH</b>   | <b>Situation à risque</b>   | <b>Références</b>   |
|---|--|---|---|
| <b>Lots de semences</b><br>Semences de ferme<br>Taux d'impureté des semences certifiées   | Multiplié par 10<br>Augmenté du taux d'impureté  | Petits champs   | Colbach et al., 2006  |
| <b>Variétés de colza</b><br>V non-TH cléistogames<br>VTH cléistogames<br>V non-TH demi-nain<br>VTH demi-nain<br>Associations variétales V non-TH<br>Associations variétales VTH       | Sans effet<br>Divisé par 1-2<br>Divisé par 2<br>Divisé par 1,5-10<br>Multiplié par 2-4<br>Divisé par 1-2   | Petits champs   | Fargue <i>et al.</i> , 2005;<br>Fargue et al., 2006                     |
| <b>Mesures locales</b><br>Détournage des V non-TH<br><br>Zone tampon non-TH autour des champs VTH   | Superflu si pas de repousses et pas de V non-TH avec MS<br>Inefficace sinon<br>Intéressant si petits champs ou V non-TH avec MS; inefficace si repousses | Petits champs   | Colbach et al., 2009a   |
| <b>Rotation</b><br>Fréquence de colzas TH et non-TH dans les rotations  | Divisé par 4   | Petits champs   | Colbach, 2009   |
| <b>Gestion des cultures VTH et VNTH</b><br>Efficacité herbicides<br>Perte à la récolte<br>Abandon du labour avant colza<br>Abandon du labour avant céréales<br>Semis V non-TH retardé | Sans effet<br>Uniquement si colza fréquent dans la rotation<br>Multiplié par 2<br>Divisé par 1,5<br>Divisé par 4   | Petits champs uniquement<br>Petits champs uniquement<br>Petits champs uniquement                                  | Colbach, 2009   |
| <b>Gestion des férales dans les bordures de route</b><br>Avancée de la fauche<br>Glyphosate   | Divisé par 1,25<br>Multiplié par 1,25-5  | Bordures fréquentes<br>Bordures fréquentes  | Colbach, 2009   |
| <b>Gestion du paysage</b><br>Remembrement<br>Assolement (% colza)<br>Distance d'isolement VTH   | Divisé par 5-400<br>Multiplié par 100-10 000 suivant les systèmes de culture<br>Multiplié par 100-10 000 suivant les systèmes de culture                 | Petits champs<br>V non-TH MS ou demi-nain, repousses mal gérées<br>V non-TH MS ou demi-nain, repousses mal gérées | Colbach, 2009<br>Colbach et al., 2009b<br>Colbach <i>et al.</i> , 2009b |

MS = mâles-stériles

Les résultats dépendent cependant fortement du type de ferme et du parcellaire. Dans le cas particulier où l'objectif est de respecter le seuil de 0,9% d'impuretés pour la filière non-OGM, aucune modification individuelle de l'itinéraire technique des cultures n'était suffisante ; seule une combinaison judicieuse (et souvent coûteuse)



de différentes pratiques était efficace. Les mesures locales comme le détourage (récolte séparée du contour extérieur du champ non-TH) ou les bandes tampon (zone non-TH sur le contour extérieur des champs TH) sont superflues ou inefficaces, sauf dans le cas particulier des variétés non-TH comportant des plantes mâles-stériles. L'instauration de distance d'isolement entre variétés TH et non-TH n'est efficace qu'en l'absence de repousses dans la région, et la distance nécessaire varie fortement en fonction du type de variétés de colza et du niveau de repousses. La seule situation où les repousses ne contribuent pas au flux de gènes sont les fermes ayant des grandes parcelles (plusieurs dizaines d'ha) ou des parcelles agrégées en un îlot contigu.

#### *Cas de la betterave sucrière*

Le cas de la betterave sucrière cultivée pour ses racines est plus complexe que celui du maïs, puisque le flux de gènes se fait non seulement *via* pollen dans l'espace mais aussi dans le temps. Ce cas a été peu étudié, comparé au maïs et au colza. Seul un faible nombre d'études de simulation, toutes réalisées avec le même modèle, analysent l'effet de certaines pratiques agricoles sur le flux de gènes hors des VTH. Il apparaît que l'effet le plus important n'est pas la rotation, mais la présence de désherbage manuel en VTH pour éliminer toute montée cultivée accidentelle à l'origine de l'échappée des gènes de résistance (Tableau 3-22). Aucune étude sur l'effet de la structure du parcellaire régional (taille et forme des champs, etc.) n'a été trouvée.

**Tableau 3-22.** Synthèse des effets de quelques pratiques agricoles sur la densité de betteraves adventices TH en betterave sucrière non-TH dans un paysage où co-existent variétés TH et non-TH.  
Cas de la betterave tolérante au glyphosate

| Pratique agricole  | Effet sur la densité de betteraves adventices TH                  |
|--|---|
| Rotation<br>Prairie temporaire dans la rotation  | Divisé par 17-32  |
| Gestion de la betterave TH<br>Abandon du désherbage manuel<br>Retard du désherbage manuel<br>Abandon du labour avant betterave | Multiplié par 30-50<br>Multiplié par 12-17<br>Multiplié par 1-1,1 |
| Gestion de la rotation sans VTH<br>Sans désherbage manuel<br>Sans labour avant céréales  | Multiplié par 16-22<br>Divisé par 3                               |
| Type VTH<br>TH via pollinisateur   | Divisé par 4  |

Source : Sester et al., 2008

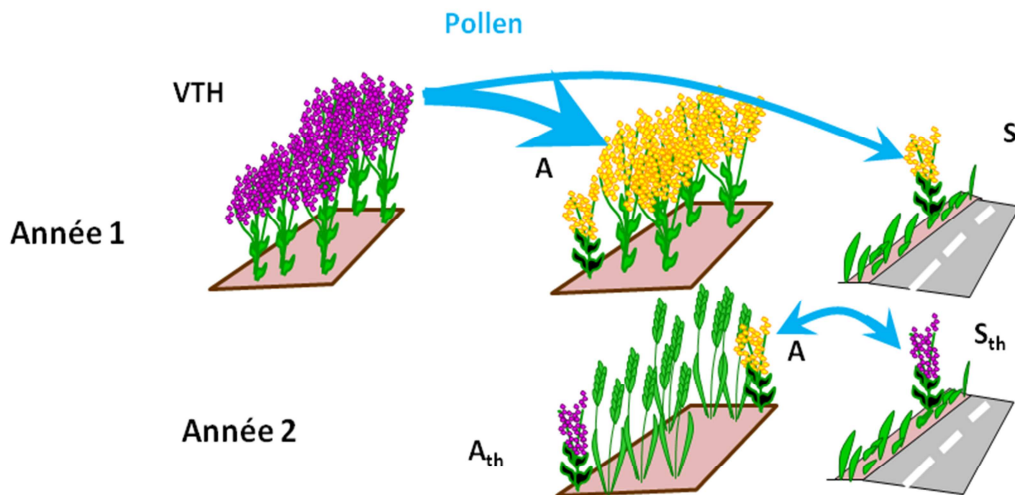
### 3.2.2.2. Flux vers les apparentées

*Henri Darmency*

#### 3.2.2.2.1. Présentation de l'analyse

Les flux de gènes entre les cultures et leurs espèces sauvages apparentées sont longtemps restés un sujet de discussion académique car l'opinion la plus répandue était que les croisements étaient rares et donnaient des hybrides stériles. C'est avec la commercialisation des plantes cultivées transgéniques que se sont développées des recherches sur ce sujet afin d'évaluer l'impact sur les populations sauvages et l'environnement du transfert accidentel aux plantes sauvages de gènes avantageux ou défavorables (Ellstrand & Hoffman, 1990). Les flux de gènes sont schématisés dans la figure 3-6.

**Figure 3-6.** Schéma des flux de gènes dans le cas du colza et d'une Brassicée sauvage apparentée.



Crédit : N. Colbach

Année 1 : Les adventices apparentées (A) poussant dans les champs non-TH et les espèces sauvages apparentées (S) poussant dans les milieux non cultivés reçoivent du pollen de la VTH.

Année 2 : En l'absence de VTH, des adventices et sauvages hybrides ( $A_{th}$  et  $S_{th}$ ) résistent à l'herbicide et échangent du pollen TH avec leurs congénères.

Une synthèse actualisée des flux de gènes interspécifiques a été récemment publiée par Andersson & Vicente (2009) ; elle reprend les principales connaissances sur les croisements interspécifiques dans des conditions naturelles et les distances de pollinisation. Les données concernant les principales cultures susceptibles d'être améliorées pour la tolérance à un herbicide sont regroupées dans les tableaux ci-dessous, sans toutefois être exhaustives. La base de références sur les VTH, qui comporte l'interrogation sur les flux de gènes, en particulier les gènes de tolérance aux herbicides, a été complétée par des interrogations plus larges sur les potentialités d'hybridation interspécifique, la notion d'espèce et de barrière génétique, les conséquences en génétique des populations, les effets sur la valeur adaptative, et très rarement les conséquences sur l'écosystème. Une recherche sur les mots clés "*interspecific hybridization*", "*introgression*", "*gene flow*" associés à "*crop*" et "*weed*" a été utilisée. Les références portant sur des obtentions d'hybrides interspécifiques assistées par des moyens artificiels ont été écartées, et ceux attestant de flux spontanés ont été privilégiés aux dépens de démonstrations moins naturelles antérieures.

La base de référence renferme des articles sur la notion de "*super weed*" qui a souvent été avancée dans des synthèses afin de caractériser un danger issu du risque de flux de gène d'une culture transgénique vers une adventice. Cette dénomination est abusive s'il ne s'agit que d'une résistance à un herbicide à défaut d'acquiescer d'autres caractéristiques nuisibles pour l'agriculture (par exemple : capacité accrue de multiplication, de migration, de compétition). L'acquisition d'un gène de tolérance à un herbicide absent ou très rare chez une espèce sauvage peut lui permettre de survivre dans les champs désherbés avec l'herbicide concerné. Ce phénomène met en échec la procédure de désherbage correspondante, mais les autres stratégies de lutte contre les adventices restent efficaces, y compris d'autres herbicides. Par ailleurs, en dehors des champs et des milieux désherbés (bordures de champs, bordures des routes, zones urbaines et industrielles), l'expression du gène ne semble pas porter à conséquence. Cependant, les dérives de pulvérisation pourraient entraîner des pressions de sélection dans des milieux naturels à proximité des zones traitées qui avantageraient les plantes, voire les espèces, introgressées avec un gène de tolérance (Londo et al., 2010). La synthèse bibliographique est présentée par culture. La partie concernant le colza est la plus détaillée car plus riche de travaux et d'introgression potentielle en Europe.

### 3.2.2.2. Betterave sucrière (*Beta vulgaris*)

#### Biologie et apparentées compatibles

La betterave sucrière (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) fait partie d'un complexe d'espèce primaire restreint à trois entités distinguées au niveau spécifique, deux sous-espèces sauvages sont répertoriées sous le même rang d'espèce *B. vulgaris*, et une forme adventice ainsi que de nombreuses formes cultivées existent aussi dans la sous-espèce *vulgaris* (Darmency, 2011). Si l'on écarte les entités insulaires, les croisements à l'intérieur de *B. vulgaris* et avec *B. macrocarpa* sont faciles et fertiles (Tableau 3-23). La betterave sucrière ne fleurit que lorsqu'elle est vernalisée (c'est-à-dire lorsqu'elle a subi une induction par des températures froides). Semée au printemps, elle est récoltée pour sa racine avant qu'elle puisse monter à fleur. Il y a donc lieu de séparer la situation des zones de production de semences, où les sélectionneurs utilisent des plançons vernalisés, de celle des zones de production de racines, où les sélectionneurs font tous leurs efforts pour ne distribuer que des variétés ne montant pas à fleur. Culture et adventice faisant partie de la même espèce, il n'existe pas d'herbicide sélectif, ce qui souligne l'intérêt des variétés TH pour détruire les betteraves adventices dans la betterave sucrière, mais aussi le risque des flux de gènes qui peuvent annuler l'avantage des variétés tolérantes.

Tableau 3-23. Complexe d'espèce de la betterave

| Apparenté sauvage                       | Hybridation                      | Remarques  | Référence   |
|---|----------------------------------|--|---|
| <i>B. vulgaris</i> ssp <i>vulgaris</i>  | Spontanée très fréquente         | <ul style="list-style-type: none"> <li>Evidence moléculaire de l'origine des betteraves adventices</li> <li>En zone de production de semences</li> <li>En zone de production de racines</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>(Boudry et al., 1993; Desplanque et al., 1999)</li> <li>(Alibert et al., 2005)</li> <li>(Darmency et al., 2007)</li> </ul> |
| <i>B. vulgaris</i> ssp <i>maritima</i>  | Spontanée                        | Gènes cultivés rares sur le littoral   | (Letschert & Frese, 1993; Bartsch & Ellstrand, 1999; Viard et al., 2004)  |
| <i>B. vulgaris</i> ssp <i>adanensis</i> | ?                                | ssp très locale  | (Letschert & Frese, 1993)   |
| <i>B. macrocarpa</i>                    | Spontanée                        | Fréquente malgré auto-compatibilité  | (Madsen, 1994)  |
| <i>B. patula</i>                        | Uniquement par croisement manuel | Espèce insulaire ; descendance peu fertile   | (Abe et al., 1986)  |

#### Dispersion du pollen

C'est une espèce auto-incompatible produisant une grande quantité de pollen anémogame. La floraison est continue et les stigmates sont réceptifs pendant deux semaines. Un examen de la littérature sur la dispersion de pollen efficace (ayant pollinisé un ovule) permet de proposer des courbes de dispersion du type puissance négative avec une queue de distribution épaisse traduisant des flux à longue distance au-delà d'1 km (Darmency et al., 2009). Ces pollens d'origine lointaine peuvent contribuer à plus de 1% des fécondations dans un couple de plantes fertiles distantes de 0,5 m (Darmency et al., 2009).

#### Zone de production de semences

La dispersion à longue distance explique la présence d'hybrides parmi les lots de semences certifiées produits dans les zones où des betteraves sauvages coexistent avec les productions de semences, malgré les efforts de destruction des plantes sauvages dans un rayon d'1 km (Lavigne et al., 2002; Alibert et al., 2005). En effet, si les betteraves maritimes ssp. *maritima* sont surtout littorales au sens strict, tout au long des côtes méditerranéennes ou atlantiques, elles regroupent aussi des betteraves rudérales localisées à l'intérieur des terres. Elles sont fréquentes sur une marge de plusieurs kilomètres derrière le cordon littoral, mais aussi présentes très loin des côtes, en particulier sur le parcours de Narbonne à Agen où s'étend l'activité des semenciers multiplicateurs. Deux stratégies sont développées : si le porte-graine est tolérant, les semences hybrides exportées en zone de culture seront tolérantes ; si c'est le donneur de pollen qui apporte le gène de tolérance, c'est la population rudérale locale qui risque d'accumuler le gène.

### Zone de production de racines

Les betteraves rudérales n'ont pas besoin de vernaliser pour fleurir, elles disposent d'un gène dominant de floraison. Les hybrides formés au sein des lots de semences vendus aux agriculteurs du nord de la France vont donc fleurir dans les champs. Ils constituent en moyenne 0,01% des semences. De plus, malgré les efforts des sélectionneurs, quelques plantes sont plus réactives que d'autres à de faibles températures printanières et vont aussi fleurir. Elles constituent en moyenne 0,03% des plantes pour une vernalisation de moyenne intensité (ITB, 2009). Ces plantes sont à l'origine des betteraves adventices (Boudry et al., 1993; Desplanque et al., 1999) et portent presque toutes le cytoplasme Owen des betteraves cultivées. Elles se sont établies comme de véritables populations et peuvent bien sûr recevoir le pollen des nouvelles variétés de betterave sucrière poussant au voisinage, ce qui a été démontré et quantifié dans les essais inter-instituts en France (Darmency et al., 2007). Des flux de graines vers les populations de betteraves maritimes dans le nord de la France sont attestés par la présence exceptionnelle dans ces populations d'individus à cytoplasme Owen, probablement par l'intermédiaire des adventices (Viard et al., 2004). Des échanges de gènes par le pollen y sont aussi mis en évidence, indiquant l'absence d'étanchéité des compartiments sauvage, adventice et cultivé.

### Conséquences

On peut espérer que les gènes responsables du syndrome de domestication de la betterave sucrière sont soumis à contre-sélection dans les zones littorales, et donc expurgés des populations maritimes sauvages. Ce n'est cependant pas le cas de gènes neutres (Viard et al., 2004), et donc il faut s'attendre à ce que des gènes apportant un bénéfice environnemental puissent s'implanter dans ces populations. Si la tolérance à un herbicide n'est pas utile dans ces milieux où aucun herbicide n'est pulvérisé, des effets pléiotropiques comme la réaction aux stress ou les capacités de germination liés aux gènes de tolérance (voir section 2.3.2.1.) pourraient néanmoins avoir un impact sur la biologie des populations littorales. Dans le cas des adventices recevant du pollen d'une variété tolérante, les hybrides, parfaitement fertiles, sont tolérants car les gènes mis en œuvre sont généralement dominants. Ces hybrides peuvent passer plusieurs années à l'état de semences enfouies dans le sol, et ils ne seront donc pas détruits lorsqu'ils germeront dans les cultures utilisant l'herbicide correspondant. Ceci conduit à la production de semences d'adventices tolérantes qui entreront à leur tour dans le stock semencier du sol et viendront perturber la culture des betteraves (Darmency et al., 2007). Si l'adoption d'une variété tolérante peut permettre d'éradiquer localement les adventices, les flux de pollen à longue distance peuvent créer des adventices tolérantes dans des champs éloignés. La modélisation de la démographie des adventices a permis d'indiquer les étapes clés du contrôle des populations d'adventices, et comment éviter les flux (Tricault et al., 2009). La profession prescrit l'arrachage des montées à fleur des variétés.

#### 3.2.2.2.3. Blé (*Triticum aestivum*)

##### Apparentés compatibles

Le blé tendre est un hexaploïde ( $2n=42$ , génomes AABBDD) dont les génomes B et D sont originaires d'égilopes (*Aegilops*). On distingue trois complexes d'espèces. Le complexe primaire renferme les blés cultivés et sauvages ainsi que *A. tauschii*, le donneur du génome D. Le complexe secondaire renferme essentiellement des égilopes à côté d'autres genres qui ont été utilisés pour apporter au blé des gènes de résistance à différents pathogènes (Friebe et al., 1996) ; des hybrides sont obtenus par croisement manuels. Pour les espèces du complexe tertiaire, il faut recourir à des processus artificiels. Bien que le blé et les égilopes soient des espèces à reproduction essentiellement autogame, des hybrides sont connus et des échantillons ont été déposés dans plusieurs herbiers européens. On compte cinq espèces tétraploïdes ( $2n=28$ ) en France : dans le sud-est pour *A. biuncialis* (UJMM), *A. cylindrica* (CCDD) et *A. neglecta* (= *A. triaristata*, UJMM) ; dans le centre et tout le sud pour *A. ovata* (= *A. geniculata*, MMUU) et *A. triuncialis* (UJCC).

##### Dispersion du pollen

Une fleur de blé produit de 1 000 à 10 000 grains de pollen dont une grande partie reste dans la fleur cléistogame et autoféconde le stigmate. De nombreuses variations anatomiques et développementales dues au génotype et aux conditions climatiques conduisent néanmoins à l'exportation du pollen, par le vent, en dehors de la fleur (Waines & Hegde, 2003). Dans les expériences avec des blés mâle-stériles ou castrés, le taux de croisement suit une fonction exponentielle négative de la distance (voir synthèse des études dans Loureiro et al., 2007b), et on

considère que le flux de pollen est négligeable à plus de 30 m. Cependant, des hybridations à faible taux, <0,01%, ont été observées dans des conditions commerciales à plus de 600 m (Matus-Cadiz et al., 2007).

#### Flux de gènes

Les possibilités d'hybridation interspécifique avec les églolopes étant connues, ce n'est qu'avec l'apparition des blés tolérants aux imidazolinones aux USA que s'est posée la question de leur fréquence et de la fertilité des hybrides, auparavant tenus pour stériles (Zemetra et al., 1998). De nombreuses expériences et observations ont été faites dans les champs de blé de l'ouest des USA depuis 15 ans. *A. cylindrica* était présent dans 60% des champs, et lorsqu'il s'y trouvait il y avait 80% de chance de trouver un hybride (Morrison et al., 2002). Les hybrides provenaient à 86% de plantes d'églolope, et à 14% de blé (Gandhi et al., 2006). Les épis des hybrides sont remplis à 3% et ces semences sont à 50% viables et tolérantes à l'herbicide ; 14% de ces semences ont été produites en rétrocroisement avec l'églolope, ce qui indique que l'introggression des gènes de tolérance dans l'espèce sauvage est possible (Perez-Jones et al., 2010).

En Europe, des expériences avec des populations locales rudérales Suisses placées au milieu de champs de blé ont montré que le taux d'hybrides produit par *A. cylindrica* variait entre 1 et 7%, et que des descendants fertiles étaient obtenus (Guadagnuolo et al., 2001a). Des hybrides avec *A. ovata* ont été répertoriés dans toute la zone méditerranéenne et aussi au centre de l'Espagne au taux de 0,2% des semences produites (Loureiro et al., 2006). Dans des expérimentations au champ, ce sont environ 0,3% des semences qui sont des hybrides avec *A. ovata* et *A. biuncialis* (Loureiro et al., 2007a). Ces plantes sont souvent amphiploïdes et produisent peu de semences en autofécondation, mais elles peuvent être rétrocroisées et donner des descendants. Des croisements avec le blé dur, *T. turgidum durum* (2n=28, AABB) sont également récurrents avec *A. ovata* dans le sud de la France, et surviennent aussi au taux de 0,1% dans les pépinières expérimentales (David et al., 2004). L'analyse par marqueurs moléculaires de plantes prélevées en bordure des zones de culture de blé dans les régions méditerranéennes démontre l'existence de ces flux de gènes pour *A. neglecta* et *A. triuncialis*, mais pas pour *A. ovata* (Arrigo et al., 2011). En dehors des églolopes, d'autres croisements pourraient survenir exceptionnellement et donner lieu à l'introggression de certaines séquences d'ADN, comme dans le cas d'*Hordeum murinum* en Angleterre montrant des marqueurs moléculaires du blé (Guadagnuolo et al., 2001b).

#### 3.2.2.2.4. Colza (*Brassica napus*)

##### Biologie et apparentées compatibles

Le colza (*Brassica napus*) est principalement une culture d'hiver semée en fin d'été en France, mais se sont les variétés de printemps qui sont utilisées dans les autres pays européens et au Canada. C'est une espèce annuelle à bisannuelle, bien que des formes cultivées avec des racines renflées de réserve existent (rutabaga). Il fait partie de la tribu des Brassiceae qui renferme l'ensemble des complexes d'espèces primaire et secondaire de cette culture, y compris plusieurs autres espèces cultivées. On y distingue deux filiations sur la base du polymorphisme moléculaire des chloroplastes : la lignée "*Nigra*" représentée notamment par *Brassica nigra*, des *Sinapis* sp. et *Hirschfeldia*, et la lignée "*Rapa/Oleracea*" contenant la plupart des *Brassica* mais aussi *Raphanus*, *Eruca* et *Diplotaxis* (Warwick & Sauder, 2005).

Le colza est un amphidiploïde (2n=38, génomes AACC) dérivé du croisement entre *B. rapa* (2n=20, AA) et *B. oleracea* (2n=18, CC). Avec le troisième diploïde *B. nigra* (2n=16, BB), les amphidiploïdes *B. juncea* (2n=36, AABB) et *B. carinata* (2n=34, BBCC) complètent le "triangle de U" des relations phylogénétiques entre ces espèces très proches (U, 1935). Les trois génomes A, B et C partagent une homologie importante, même s'ils sont reconnus séparément dans les mécanismes de la méiose. Les génomes des autres Brassicées sont plus éloignés mais forment néanmoins des figures d'appariement partiel entre chromosomes de génomes différents chez les hybrides interspécifiques (présence de multivalents), ce qui indique que des transferts de gènes sont possibles. Une littérature abondante traite de l'utilisation de ces ressources génétiques afin d'améliorer le colza, mais les procédés utilisés ont souvent été artificiels : croisements manuels, sauvetage *in vitro* des embryons, doublement de chromosomes, etc. (Scheffler & Dale, 1994; FitzJohn et al., 2007), dont les résultats ne sont pas considérés ici. Beaucoup moins de données anciennes sont disponibles sur le devenir du croisement réciproque et des gènes de l'espèce cultivée dans le génome des espèces sauvages, voire la fertilité de l'hybride. Les cas traités ci-dessous ne concernent que les croisements naturellement viables pris espèce par espèce (Tableau 3-

24) après des généralités. Pour la majorité des autres espèces apparentées, il n'existe le plus souvent pas de données.

#### *Dispersion du pollen*

Une fleur type de la tribu des Brassiceae produit de 1 à 20  $10^4$  grains de pollen selon l'espèce, soit environ  $10^{12}$  pour un 1 ha de colza. C'est un pollen collant se dispersant en agrégats. La part du vent et des insectes pollinisateurs dans la pollinisation du colza semble très variable même si le taux moyen d'allogamie est réputé autour de 30% (Pierre & Renard, 2010). Mis à part *B. napus* et *B. juncea*, les espèces de la tribu sont auto-incompatibles grâce à un système sporophytique de reconnaissance pollen/pistil (Takayama & Isogai, 2003). Un individu sauvage isolé ne peut donc pas s'autoféconder : sa production de semences dépend du pollen apporté par le vent ou les insectes pollinisateurs. Les insectes ont cependant des préférences de pollinisation qui ne favorisent pas les échanges de pollen. Par exemple, l'abeille domestique (*Apis mellifera*) visite essentiellement le colza et très peu la ravenelle, alors que les bourdons (*Bombus* sp.) sont moins spécialisés et les mouches et les abeilles sauvages sont indifférentes (Pierre, 2001).

Motivées par la question de la coexistence entre les champs de colza génétiquement modifié et ceux de colza conventionnel, de nombreuses études se sont attachées à décrire la dispersion du pollen (Andersson & Vicente, 2009). Les familles de courbes admises actuellement sont du type puissance (y compris le modèle logistique), ce qui indique une queue de distribution épaisse aux grandes distances (Klein et al., 2006). L'utilisation de colza mâle-stérile comme piège à pollen dans un parcellaire de 100 km<sup>2</sup> et l'identification de l'origine du pollen grâce à des marqueurs moléculaires ont montré que l'extrapolation aux longues distances des modèles validés dans des champs d'1 ha sous-évaluait beaucoup la migration réelle du pollen (Devaux et al., 2007). Des fécondations entre champs de colza fertiles ont été observées jusqu'à 3 km (Rieger et al., 2002) et une étude récente a montré qu'une grande diversité d'hyménoptères et de mouches pouvait être à l'origine de cette dispersion de pollen sur des distances importantes (plus d'un km ; Chifflet et al. 2011). Des flux importants ont aussi été montrés entre populations de Brassiceae sauvages distantes d'1 km (Ellstrand et al., 1989), ce qui laisse supposer que les flux de gènes interspécifiques ne sont pas uniquement liés à la proximité directe du colza.

#### *Conditions des hybridations*

Outre la présence sympatrique, où à faible distance, de la culture et de son apparentée, les croisements ne peuvent avoir lieu que s'il y a simultanément de floraison. Selon les cultivars et les régions, la période de chevauchement de floraison peut être très réduite (Lefol et al., 1996a). De plus, l'aptitude au croisement peut être plus ou moins forte selon le cultivar de colza, soit pour produire des hybrides (Baranger et al., 1995), soit pour féconder des apparentées (Gueritain et al., 2003b). On peut trouver des phénomènes similaires au sein même d'une simple population de Brassiceae sauvage : soit des plantes produisant un pollen compatible ou non pour féconder les fleurs de colza (Lefol et al., 1996b), soit des plantes présentant des barrières variables à la pollinisation par du pollen de colza (incompatibilité pollen/pistil et tropisme du tube pollinique vers les ovules plus ou moins exprimés ; Gueritain & Darmency, 2001). Cette variabilité génétique pourrait expliquer les grandes différences observées selon les régions et les expériences dans l'estimation des taux d'hybridation interspécifique.

L'estimation des chances d'hybridation ne doit pas considérer seulement la production de pollen du colza qui va féconder des plantes sauvages. Le cas inverse mérite aussi d'être pris en considération. Il y a de plus en plus de variétés hybrides de colza mises sur le marché car plus productives. Pour les multiplier, il faut qu'elles disposent de systèmes cytoplasmique ou génique de stérilité mâle momentanément suspendus afin de produire les semences (ce qui doit être aussi vrai au champ pour récolter des graines). Tout ou partie des repousses issues de telles variétés est "mâle-stérile", ce qui les soumet complètement à la pollinisation par le pollen disponible localement, y compris le pollen d'espèces apparentées. Les hybridations étant plus faciles lorsque le parent femelle présente un plus fort niveau de ploïdie que le parent mâle, ce type de croisement spontané a des chances de succès très élevées malgré la forte production de pollen dans les champs de colza voisins (Chevre et al., 2000). Ce phénomène a montré que des graines hybrides pouvaient se former naturellement *in planta* dans de nombreux cas de croisements (par exemple, Wei & Darmency, 2008). Il a aussi permis la production de millions de semences hybrides avec *Hirschfeldia incana* et *Raphanus raphanistrum* dans le cadre d'études de survie de semences au champ (Chadoeuf et al., 1998).

## Survie des hybrides

L'embryon hybride peut avoir une formule chromosomique plus ou moins bien équilibrée en fonction des génomes qu'il renferme. Il peut être issu de la fécondation de deux gamètes réduits, mais les gamètes non réduits sont fréquents chez les Brassicaceae (Heyn, 1977). A côté des hybrides triploïdes ACX, des formules ACXX, AACCX et AACXX peuvent être produites et montrer des croissances et des fertilités différentes (Chevre et al., 2003). Il en découle une très grande variabilité des formules chromosomiques dans la descendance (Hansen et al., 2001; Chevre et al., 2007). La variabilité des pollinisateurs potentiels, la quantité de pollen de chaque espèce parente disponible localement, et les décalages de floraison conduisent aussi à des situations très variées évoquées ci-dessous.

**Tableau 3-24.** Production d'hybrides viables par des Brassicaceae sauvages

| Apparenté sauvage            | Hybridation                   | Remarques  | Référence   |
|------------------------------|-------------------------------|--|---|
| <i>Brassica rapa</i>         | Spontanée facile et fréquente | <ul style="list-style-type: none"> <li>Dans le champ, selon proportions relatives</li> <li>Populations naturelles adjacentes</li> <li>Descendance fertile mais coût d'hybridation</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>(Landbo et al., 1996; Warwick et al., 2003; Halfhill et al., 2004)</li> <li>(Allainguillaume et al., 2006)</li> <li>(Snow et al., 1999)</li> </ul> |
| <i>Brassica oleracea</i>     | Spontanée très rare           |  | (Ford et al., 2006)   |
| <i>Brassica nigra</i>        | Spontanée rare                |  | (Bing et al., 1996)   |
| <i>Brassica juncea</i>       | Spontanée facile              |  | (Bing et al., 1996)   |
| <i>Brassica tournefortii</i> | Manuelle facile               |  | (Heyn, 1977)  |
| <i>Brassica fruticulosa</i>  | Manuelle difficile            |  | (Heyn, 1977)  |
| <i>Raphanus raphanistrum</i> | Spontanée très rare           | <ul style="list-style-type: none"> <li>Dans le champ</li> <li>Variabilité inter- et intra-populations</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>(Darmency et al., 1998; Chevre et al., 2000)</li> <li>(Gueritain &amp; Darmency, 2001; Ammitzbold &amp; Jorgensen, 2006)</li> </ul>                |
| <i>Hirschfeldia incana</i>   | Spontanée rare                | Extinction dans la descendance   | (Darmency & Fleury, 2000)   |
| <i>Sinapis arvensis</i>      | Rarissime                     |  | (Daniels et al., 2005)  |
| <i>Erucastrum gallicum</i>   | Manuelle                      |  | (Lefol et al., 1997)  |
| <i>Rapistrum rugosum</i>     | Manuelle                      |  | (Heyn, 1977)  |
| <i>Diplotaxis tenuifolia</i> | Manuelle                      |  | (Ringdahl et al., 1987)   |
| <i>Diplotaxis erucoides</i>  | Manuelle                      |  | (Heyn, 1977)  |
| <i>Diplotaxis muralis</i>    | Manuelle                      |  | (Ringdahl et al., 1987)   |

### *B. rapa*

La navette sauvage partage le génome A avec le colza, ce qui facilite les fécondations croisées et la production de descendants de formule chromosomique stabilisée. Elle est peu fréquente en France. Les hybrides sont reconnus dans les flores européennes sous le taxon *B. x harmsiana* produit dans les champs de colza et reconnaissable seulement à sa stérilité et à son nombre de chromosomes triploïde ( $2n=29$ ). Des expériences dans des champs de colza, en utilisant soit des variétés cultivées de *B. rapa* soit des plantes issues de populations férales ou spontanées, ont confirmé la production d'hybrides en fréquence très variable selon les proportions relatives des deux partenaires, de 1 à 93% des semences produites par *B. rapa* (Bing et al., 1996; Landbo et al., 1996; Warwick et al., 2003; Halfhill et al., 2004). Le croisement réciproque avec *B. napus* comme mère est aussi possible spontanément, à moins de 1% dans le cas de forte infestation de *B. rapa* (Johannessen et al., 2006). Dans l'étude d'une population naturelle mixte après abandon de la culture du colza depuis plus de 10 ans au Danemark, les auteurs ont trouvé 1% d'hybrides (Hansen et al., 2001). Des taux similaires ont été trouvés en Angleterre dans des populations naturelles de *B. rapa* de bord de rivière adjacentes à un champ de colza, aussi bien dans la production de semences de l'année de sympatrie que dans la population de plantules poussant l'année suivante sur le site (Allainguillaume et al., 2006). De même au Canada, des populations de bord de champ présentaient des taux d'hybrides de 1 à 17% (Simard et al., 2006).

Les hybrides sont viables mais les caractéristiques de leur reproduction sont très dépendantes de la densité et de la composition du peuplement. Dans les conditions naturelles des bords de rivière, leur contribution mâle, révélée

par la transmission de marqueurs moléculaires, n'est que 17% de celle des plantes de *B. rapa* à cause d'un pollen peu viable ; leur production de semences est réduite de moitié (Allainguillaume et al., 2006). On retrouve une forte pénalité mâle à polliniser *B. rapa* dans des travaux expérimentaux (Pertl et al., 2002), mais la valeur relative de la reproduction femelle est très variable. Elle peut être largement inférieure à celle de *B. rapa*, intermédiaire entre celles des deux espèces parentes, ou encore plus forte que celle de *B. rapa* (Hauser et al., 2003). Selon les conditions du milieu (type de culture, densité, etc.), les allèles "cultivés" peuvent être avantageux dans certaines situations et les allèles "sauvages" dans d'autres, ce qui entraîne une diversité de réponses (Rose et al., 2009). Les générations ultérieures récupèrent une *fitness* équivalente à celle de la navette ainsi qu'un nombre de chromosomes régulier, quelle que soit la présence ou non d'un transgène de tolérance à un herbicide (Snow et al., 1999). L'étude de populations naturelles montre la présence parfois abondante de descendants d'introgession longtemps après l'arrêt de la culture de colza (Hansen et al., 2001) ou du colza transgénique (Warwick et al., 2008).

La relative facilité et fertilité du croisement, mais des taux de transmission héréditaire différents selon les transgènes ou les marqueurs, ont rapidement posé la question du rôle de la localisation chromosomique du transgène (Metz et al., 1997; Tomiuk et al., 2000). Le génome A est commun aux deux espèces, ce qui permet un appariement régulier des deux jeux de chromosomes A, de sorte que tous les gamètes contiennent un jeu de 10 chromosomes A. Le transgène est alors hérité de manière mendélienne régulière. En revanche, les chromosomes du génome C sont impairs et ne peuvent s'apparier, et donc les gamètes en contiendront un nombre variable. La répartition du nombre de ces chromosomes dans les descendants s'écarte en général de la distribution Normale, ce qui indique une contre-sélection de certains chromosomes ou groupes de chromosomes (Metz et al., 1997; Tomiuk et al., 2000; Lu et al., 2002; Leflon et al., 2006). A terme, la présence des chromosomes C se dilue dans les populations introgressées (Hansen et al., 2001), sauf si le transgène apporte un avantage essentiel comme la tolérance à l'herbicide utilisé dans les champs. Le risque de transmission est donc plus rapidement réduit si le transgène est localisé sur l'un de ces chromosomes C. Cependant, des recombinaisons entre chromosomes A et C peuvent exister - jusqu'à 21% des marqueurs étudiés (Leflon et al., 2006) -, ce qui peut intégrer de manière permanente le gène de tolérance dans le génome A. Ce taux d'échange entre les deux génomes pourrait être néanmoins contrôlé, car il dépend du génotype du cultivar à un locus contrôlant l'appariement homéologue (Nicolas et al., 2009).

### *B. oleracea*

Le chou sauvage est observé essentiellement sur les rochers du littoral de la Manche, de l'Océan atlantique, de la Méditerranée et de la Corse. Il est protégé en Poitou-Charentes et en Basse Normandie. On peut se demander si les populations très éloignées des côtes ne sont pas des populations férales des formes cultivées "dédomestiquées". Aucun hybride n'a été obtenu par croisement manuel si des techniques de récupération des embryons ne sont pas mises en œuvre (Scheffler & Dale, 1994). Cependant, dans une population où les deux espèces poussaient en mélange en Angleterre, un hybride et deux introgressants ont été identifiés à l'aide de marqueurs cryométriques et moléculaires (Ford et al., 2006). Cette introgression pourrait avoir des conséquences sur l'hébergement de la faune dans ces milieux protégés, mais aucune étude ultérieure n'a été publiée.

### *B. nigra*

La moutarde noire est partout présente en France. Les croisements manuels réciproques donnent peu d'hybrides mais montrent que des embryons hybrides peuvent se développer naturellement (Bing et al., 1996). Dans une expérience comprenant 35 plantes de *B. nigra* et 2 de *B. napus*, des *B. napus* mâle-stériles ont produit 3,5% de semences hybrides viables (Wei & Darmency, 2008). Les hybrides étaient moitié moins développés que les parents sauvages, mais aucun suivi des reproductions ultérieures n'a été publié.

### *B. juncea*

La moutarde jaune peut être sub-spontanée en Bourgogne. Les croisements manuels avec le colza sont faciles et fertiles. Des hybrides réciproques sont obtenus en co-culture au champ à des taux proches de 1% des graines formées sur le colza et 0,1% sur la moutarde (Bing et al., 1996; Liu et al., 2010). De nombreux marqueurs propres au colza se retrouvent dans la descendance obtenue par rétrocroisement avec *B. oleracea* (Frello et al., 1995). L'autofécondation est aussi possible (Liu et al., 2010). La transmission de deux événements de transformation pour la tolérance, l'un au glyphosate et l'autre au glufosinate, montre des taux variables liés à la



génération de rétrocroisement et à la localisation probable des transgènes sur les génomes A ou C du colza (Song et al., 2010). Comme dans le cas de *B. rapa*, la présence en commun du génome A doit permettre une stabilisation plus rapide de l'hérédité des gènes portés par ces chromosomes. Les descendants de troisième génération (BC3) sont fertiles et proches du parent sauvage.

#### *B. tournefortii*

Le chou de Tournefort ( $2n=20$ , TT) est méditerranéen, peu sympatrique des zones de culture du colza. Le croisement manuel par du pollen de colza est efficace (68 hybrides pour 100 fleurs) et la formation de graines est naturelle (Heyn, 1977). Les hybrides semblent mâle-stériles.

#### *B. fruticulosa*

Ce chou ligneux ( $2n=16$ , FF) est aussi méditerranéen. Le croisement manuel est possible (1% de succès), l'hybride est mâle-stérile (Heyn, 1977).

#### *Raphanus raphanistrum*

La ravenelle ( $2n=18$ , RR) est une adventice répandue en Europe et poussant sur des terrains plutôt acides. Le croisement sur femelle colza est facile (Eber et al., 1994) mais dépend du cultivar (Baranger et al., 1995), ce qui pourrait orienter le choix du sélectionneur lors de la réalisation de variétés tolérantes afin de limiter les risques. Le pollen de colza peut être compatible avec certains génotypes de ravenelles, ce qui conduit à une variabilité de réponse en conditions contrôlées, depuis l'absence de chance d'hybridation jusqu'à une absence de barrière selon les individus (Gueritain & Darmency, 2001). Ceci explique certainement des taux très variables d'hybrides obtenus dans différentes études où le nombre de semences analysées était important, voire leur absence totale, mais la fourchette des estimations reste à des valeurs faibles, entre  $10^{-3}$  et  $10^{-8}$  des semences produites par les ravenelles (Darmency et al., 1998; Chevre et al., 2000; Rieger et al., 2001; Warwick et al., 2003; Ammitzball & Jorgensen, 2006).

Différents types d'hybrides ont été obtenus. Les triploïdes germent et lèvent moins bien au champ que leurs parents, ils ont un taux de survie inférieur (Gueritain et al., 2003a), et une très faible fertilité malgré un grand nombre de fleurs : de 3 à 11 graines par plante (Chevre et al., 1998; Darmency et al., 1998). Cependant, leur vigueur et leur fertilité s'accroissent avec les générations de rétrocroisement jusqu'à devenir indifférenciables des ravenelles en BC6 (Gueritain et al., 2002). Le retour vers un nombre chromosomique proche de celui des ravenelles est complexe (Chevre et al., 2007). Les descendants produits sur cytoplasme colza se sont avérés 100 fois moins vigoureux et productifs du fait d'une interaction nucléo-cytoplasmique conduisant à la perte de la chlorophylle. Malgré de nombreux rétrocroisements, un transgène de tolérance à un herbicide ne s'est pas introgressé dans le génome de la ravenelle : il est porté par un chromosome surnuméraire de colza, ce qui entraîne sa présence dans seulement 10% des gamètes et un coût de 50% sur la fertilité (Gueritain et al., 2002). L'utilisation d'herbicide à chaque génération maintient cependant perpétuellement sa présence (Al-Mouemar & Darmency, 2004).

#### *Hirschfeldia incana*

La roquette bâtarde ( $2n=14$ , AdAd) est une adventice dans les régions méridionales et se trouve aussi dans des milieux sauvages sur terrains sableux et sur le pourtour océanique. La fécondation de colza femelle par du pollen de roquette est facile (Eber et al., 1994) mais dépend du génotype de la plante sauvage, certains pollens étant totalement incompatibles avec le colza (Lefol et al., 1996b). Au champ, des populations peu denses de roquette ( $0,1 \text{ pl/m}^2$ ) produisent entre 0,2 et 1% de semences hybrides (Darmency & Fleury, 2000). Les hybrides sont aussi vigoureux que le parent sauvage dans un colza, et supérieur dans une population de roquette, ce qui n'implique pas de problème nouveau de "super weed" dans le colza mais montre que les hybrides peuvent s'implanter dans les milieux naturels (Lefol et al., 1995). En revanche, ces plantes produisent de très nombreuses fleurs mais avec seulement 0,25 graine produite par plante, en moyenne. Leurs descendants de première génération sont plus fertiles, mais n'ont jamais pu donner d'individus stabilisés et la 5<sup>e</sup> génération s'est éteinte (Darmency & Fleury, 2000).

### *Sinapis arvensis*

La sanve, ou moutarde des champs ( $2n=18$ , SarSar), étant très répandue dans le monde, plusieurs études se sont attachées à déterminer si les croisements avec le colza étaient possibles (Andersson & Vicente, 2009). Des hybrides ont été obtenus par pollinisation de colza mâle-stérile dans des cages avec des abeilles, mais n'ont pas donné de descendants viables en présence du parent sauvage ou même rétrocroisés manuellement (Lefol et al., 1996a). Par pollinisation manuelle de fleurs émasculées, de rares hybrides ont été obtenus dans les deux sens de croisement : les triploïdes ont été stériles, les hexaploïdes ont donné des semences (Moyes et al., 2002). Aucun hybride n'a été trouvé dans les expériences en plein champ. Cependant, un rapport du Département en charge de l'agriculture en Angleterre (DEFRA) a fait état d'un hybride (Daniels et al., 2005).

### Autres Brassicaceae

La fausse roquette, *Erucastrum gallicum* ( $2n=30$ ), est présente surtout dans l'est de la France. Seuls des croisements manuels sur le colza comme femelle ont donné un hybride de faible développement mais fertile (Lefol et al., 1997). Pour le rapistre, *Rapistrum rugosum* ( $2n=16$ ), la roquette jaune, *Diplotaxis tenuifolia* ( $2n=22$ ), la roquette blanche, *Diplotaxis eruroides* ( $2n=14$ ), et la roquette des murs, *Diplotaxis muralis* ( $2n=42$ ), qui sont présents sur tout le territoire, le croisement manuel est possible (Heyn, 1977; Ringdahl et al., 1987).

#### 3.2.2.2.5. Endive et chicorée, *Cichorium intybus*

La chicorée est une espèce pérenne diploïde ( $2n=18$ ) qui doit vernaliser pour fleurir. Elle est entomophile et dispose d'un système d'auto-incompatibilité. La forme sauvage est partout présente en France, notamment sur les bords des routes et des chemins. Les formes cultivées sont l'endive Witloof, les cultivars à racine pour produire l'inuline, et les cultivars pour salade. Dans les zones de production de semences, mais aussi dans les zones de culture de racines, et spécialement si les semis sont précoces, les échanges polliniques sont donc possibles entre les formes cultivées et sauvages. Des hybrides et des descendants sont effectivement trouvés dans les populations des bords de route, et peuvent même être majoritaires dans ces populations, ce qui indique une facilité du croisement spontané et l'introgression pérenne des caractères cultivés (Sorensen et al., 2007). L'utilisation de marqueurs moléculaires sur des populations européennes montre peu de différences de variabilité et de structure génétique entre les types sauvages et cultivés, mais régionalise les échantillons (Kiaer et al., 2009). La diffusion de gènes de tolérance à des herbicides semble inéluctable.

#### 3.2.2.2.6. Maïs, *Zea mays*

Aucun des apparentés au maïs n'est présent sur le territoire (Andersson & Vicente, 2009).

#### 3.2.2.2.7. Pomme de terre (*Solanum tuberosum*)

Les cultivars modernes de pomme de terre sont tétraploïdes ( $2n=48$ ). Leur domestication a été réalisée en Amérique Latine, aussi peu d'espèces proche parentes sont présentes en Europe bien que des introductions nombreuses soient signalées. La douce-amère (*Solanum dulcamara*) et le complexe diplo-tetra-hexaploïde de la morelle noire (*S. nigrum*) se trouvent partout en France. Les croisements manuels n'ont rien donné avec différentes formes de douce-amère, mais ceux avec la morelle comme femelle donnent des embryons qui peuvent être sauvés *in vitro* pour donner des plantes (Eijlander & Stiekema, 1994). Le croisement est donc très improbable en conditions naturelles, et de plus ces espèces sont très autogames. La dispersion du pollen de pomme de terre s'opère sur des distance très faibles (McPartlan & Dale, 1994; Andersson & Vicente, 2009).

#### 3.2.2.2.8. Riz (*Oryza sativa*)

Aucun des apparentés sauvages du riz n'est présent sur le territoire français, mais on trouve le riz "crodo", ou riz égrenant. Il est issu du riz cultivé et classé comme *O. sativa*. La domestication du riz a suivi des processus multiples et l'amélioration variétale du riz a utilisé diverses ressources génétiques, dont des formes *indica* et *japonica* et des "hors types". Le contrôle de la caducité des grains est très complexe, avec des gènes (ou QTL) majeurs répartis sur 4 des 12 chromosomes, et des gènes mineurs sur 4 autres (Vaughan et al., 2005). La caducité peut donc réapparaître dans la descendance lointaine de matériel cultivé. Le riz crodo a été observé en

Italie dès le 19<sup>e</sup> siècle (Vidotto & Ferrero, 2005) et il est présent dans plus de 40% des rizières de Camargue. Il a le plus souvent un grain pigmenté en rouge. Il n'y a pas de différence spécifique avec la culture. Le riz est connu pour être autogame, mais les expériences sur les flux de pollen montrent qu'une fraction non négligeable est exportée à quelques mètres du champ (Rong et al., 2010). Les croisements spontanés au champ sont de l'ordre de 0,1% seulement en condition de mélange dans nos régions, et sont quasiment nuls à plus de 10 m de distance (Messeguer et al., 2004). Des taux plus élevés ont été rapportés, qui peuvent être expliqués par des différences entre cultivars et des conditions climatiques favorables (Shivrain et al., 2009). Les croisements sont complètement fertiles, les hybrides sont plus productifs que le riz et leurs grains sont caduques, ce qui permet une large dispersion et rend nécessaire un désherbage spécifique en pré-semis du riz (Shivrain et al., 2009). Le risque de diffusion de gènes de tolérance à cette forme sauvage est donc très élevé et mérite une gestion agronomique appropriée (Vidotto & Ferrero, 2005).

#### 3.2.2.2.9. Soja (*Glycine max*)

Aucun des apparentés au soja n'est présent sur le territoire (Andersson & Vicente, 2009).

#### 3.2.2.2.10. Tournesol (*Helianthus annuus*)

Le tournesol ( $2n=34$ ) a été domestiqué en Amérique du nord à partir de populations sauvages de *H. annuus* avec lesquelles il est encore souvent en sympatrie. Le genre *Helianthus* comprend plus de 51 espèces annuelles et pérennes, avec notamment des plantes diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes ( $n = 17$ ). Ces différentes espèces sont particulièrement abondantes et présentent des zones communes de répartition (Kane et al., 2009), dans les régions du centre et de l'ouest des USA, mais des espèces sauvages s'étendent également au Canada et au Mexique (Burke et al., 2002) et ont été naturalisées le siècle dernier jusqu'en Argentine (Ureta et al., 2008). Le type sauvage se distingue par une croissance indéterminée, des ramifications, des capitules plus petits et très nombreux, et l'égrennage des capitules à maturité. Les fleurs sont auto-incompatibles, ce qui favorise les échanges de pollen. Le pollen étant véhiculé par les insectes pollinisateurs, le taux moyen d'hybridation des sauvages peut atteindre 2% à 30 m de distance de la parcelle cultivée (Marshall et al., 2001), mais encore 2% à 500 m dans d'autres conditions climatiques (Ureta et al., 2008), et il est attesté à 1 km de distance (Arias & Rieseberg, 1994). Les flux de pollen réciproques, du sauvage vers le cultivé, sont très élevés au regard de la disproportion des quantités de plantes en présence, et entraînent de grandes chances de diversité génétique des stocks cultivés (Ureta et al., 2008). On trouve régulièrement des formes hybrides dans les populations sauvages d'*H. annuus* (Burke et al., 2002), et le suivi de populations présentant des hybrides montre que les gènes introgressés depuis la forme cultivée peuvent perdurer longtemps (Whitton et al., 1997). Des croisements sont possibles aussi avec *H. petiolaris* (Gutierrez et al., 2010). Des analyses mettant en œuvre des marqueurs moléculaires montrent que de larges proportions de gènes nucléaires, plus ou moins régulièrement présents ou maintenus sur tout le génome, peuvent avoir été sujettes à des introgressions inter-espèces (Kane et al., 2009 ; Scascitelli et al., 2010). En général, l'aptitude des hybrides à la compétition avec leurs populations parentales aurait tendance à être plus faible que celle des stocks parentaux (Snow et al., 1998), mais cela dépend des parents et des conditions générales du milieu (Mercer et al., 2006).

Le tournesol a été importé en Europe comme plante ornementale au début du 17<sup>e</sup> siècle, ainsi que le topinambour, *H. tuberosum* ( $2n=102$ ) et quelques autres espèces du même genre. Elles sont pour la plupart restées confinées aux jardins, mais on trouve depuis les années 1980 des plantes multi-capitées d'*Helianthus* dans des champs de tournesols et comme repousses dans la luzerne et les céréales. Ces présences sont relativement fréquentes en Espagne, en Italie et en France, mais aussi en Europe centrale (Muller et al., 2009). Ces plantes sont clairement différentes des repousses de tournesol dues à la perte des graines lors de la récolte, elles montrent beaucoup de diversité et elles possèdent trop de caractères des plantes sauvages pour être du tournesol dé-domestiqué. Elles pourraient être issues de semences sauvages introduites avec des lots de semences, mais plus vraisemblablement, les variétés modernes étant des variétés hybrides produites à partir de porte-graines mâle-stériles, on peut facilement imaginer des pollinisations indésirables dans les zones de production de semences en Amérique ou localement à partir de collections d'apparentés sauvages. La présence chez ces plantes d'un marqueur maternel spécifique du type cultivé et de nombreux allèles microsatellites en commun confirme cette filiation (Muller et al., 2010). Déjà répandues dans plus de 15% des champs de tournesol, ces populations pourraient proliférer si elles introgressaient un gène de tolérance à un herbicide. Par ailleurs, des

hybrides spontanés se produisent avec le topinambour, ce qui pourrait entraîner une autre voie de diffusion des gènes du tournesol cultivé (Bervillé et al., 2005).

### 3.2.2.11. Autres cultures

Des flux de gènes avec leurs apparentées sauvages sont démontrés pour de nombreuses autres cultures locales : avoine, orge, sorgho (Andersson & Vicente, 2009), luzerne (Jenczewski et al., 1999), carotte (Magnussen & Hauser, 2007), laitue (D'Andrea et al., 2008), millet (Shi et al., 2008), etc.

### 3.2.2.3. Prévention des risques

Face aux risques de dissémination dans le génome d'espèces sauvages, par définition incontrôlés et irréversibles, différentes stratégies de prévention ("mitigation") ont été proposées. Elles concernent surtout les variétés transgéniques et sont également souvent obtenues par génie génétique. Elles ont été conçues pour limiter l'accès au matériel génétique et préserver les droits des obtenteurs, mais elles peuvent aussi limiter la diffusion des gènes de résistance par les semences et le pollen. Aucune solution n'apparaît définitive, mais leur usage conjoint peut diminuer les risques.

#### *Stratégies conventionnelles*

L'isolement géographique est la meilleure solution mais il n'est pas toujours réalisable pour les cultures dont les apparentés sauvages sont fréquents sur le territoire. Le choix de cultivars à floraison très décalée par rapport à celle des apparentés sauvages ne permet en général qu'une réduction des périodes de chevauchement de floraison (Lefol et al., 1996a). Un très faible chevauchement peut même au contraire maximiser le risque quand peu de sauvages en fleur sont soumis à une forte pression pollinique de la part du cultivé, surtout dans le cas des Brassicaceae qui sont auto-incompatibles. La sélection de variétés cléistogames dont le pollen est moins accessible aux abeilles est aussi une mesure partiellement efficace (Leflon et al., 2010; Pierre & Renard, 2010). Dans le cas des betteraves, c'est au niveau de la production de semences que la prévention peut se jouer : le gène de tolérance peut être apporté soit par le porte-graine, soit par le donneur de pollen. Si c'est le porte-graine, les hybrides avec les betteraves sauvages des environs seront tolérants. En revanche, si c'est le donneur de pollen, aucun hybride ne sera tolérant, mais ce sont les populations rudérales locales qui s'enrichiront en allèle de tolérance jusqu'à pouvoir contaminer en retour les porte-graines dans un deuxième temps (Lavigne et al., 2002). Le choix de variétés apomictiques (qui produisent des graines par reproduction non sexuée) peut aussi éviter la production d'hybrides par la plante cultivée, mais selon l'espèce et le système d'apomixie, du pollen peut être émis (pseudogamie) et fertiliser d'autres plantes (Sandhu et al., 2010). Enfin, il a été proposé de n'utiliser que des gènes récessifs : la tolérance à l'herbicide ne s'exprimant pas dans l'hybride, il pourra être détruit par le désherbage, mais si des plantes échappent cette stratégie peut conduire à la fixation du gène dans les populations si l'herbicide est continuellement appliqué (Shi et al., 2008).

#### *Stratégies par génie génétique*

Les principales stratégies de bio confinement obtenues par génie génétique sont décrites par Daniell (2002). Les flux par le pollen étant souvent considérés comme les plus probables, la première possibilité est d'insérer le transgène de tolérance dans le génome chloroplastique car les plastes du gamète mâle dégénèrent à la pénétration dans l'ovule et leur hérédité est donnée comme maternelle. Il y a cependant un taux accidentel de transfert d'ADN chloroplastique par le pollen, de l'ordre de 0,03%, révélé maintenant chez plusieurs espèces (Wang et al., 2004). De plus, la fécondation d'une plante cultivée par du pollen sauvage conduit aussi à un hybride qui possède le chloroplaste de la plante cultivée et dont la descendance en héritera obligatoirement. Des introgressants sauvages possédant les chloroplastes de la culture ont été trouvés dans plusieurs cas de couple cultivé/sauvage (Till-Bottraud et al., 1992), en particulier dans des populations naturelles de *B. rapa* en sympatrie avec *B. napus* (Haider et al., 2009). Dans ce dernier cas, l'acquisition du cytoplasme de colza par les navettes semble conférer un avantage sélectif, ce qui conduirait, après une barrière initiale, à une dispersion accélérée dès que les premiers hybrides sont formés (Allainguillaume et al., 2009). Dans le même ordre d'idée, des variétés mâle-stériles restaurées ponctuellement pour la production de graines au champ permettent de réduire la quantité de pollen émis, mais elles peuvent aussi produire un hybride si elles sont fécondées par du pollen sauvage, surtout s'il s'agit d'une repousse isolée. Des recherches visent à transférer des gènes de cléistogamie,

d'incompatibilité et d'apomixie pour éviter le flux de pollen. Il est aussi devenu possible d'éviter la présence du transgène dans le pollen par des nucléases spécifiques (voir section 2.2.1).

Les technologies génétiques restrictives (GURT) ont un but plus radical en supprimant la viabilité des semences en l'absence d'un stimulus. Sous l'appellation populaire de "Terminator", elles ont soulevé une controverse sociale tellement importante qu'elles ne sont pas employées commercialement (Van Acker et al., 2007). Elles fonctionnent sur une combinaison de trois gènes, dont un code pour une toxine qui bloque la germination, les deux autres régulant l'expression de la toxine. Des variations autour de ce thème, et notamment l'absence d'un allèle attendu dans le croisement plutôt qu'un stimulus extérieur, permettent à la plante de produire des semences avortées en allofécondation alors que les descendants d'autofécondation sont viables (Singh et al., 2007). Une version "adoucie" a été expérimentée sur des hybrides entre colza et navette : il s'agit de placer en tandem le gène de tolérance avec un gène codant pour une caractéristique intéressante pour la plante cultivée mais pas pour une plante sauvage, par exemple l'absence de dormance des graines ou le nanisme. L'effet délétère du second gène a un impact très fort sur la *fitness* des descendants et doit entraîner leur disparition (Al-Ahmad & Gressel, 2006; Rose et al., 2009). Cette stratégie pourrait cependant favoriser la repousse de populations férales (Reuter et al., 2008). Une variante est proposée dans le cas du riz, en associant au gène de tolérance au glyphosate un suppresseur de l'enzyme de détoxification du bentazone (cette enzyme rend naturellement le riz résistant au bentazone) : la variété tolérante, ses repousses aussi bien que les hybrides avec le riz sauvage seront donc sensibles au bentazone (Lin et al., 2008). Lorsque le bentazone sera appliqué en alternance avec le glyphosate dans les rizières, les hybrides et les repousses seront détruits, mais cela n'aura aucun intérêt pour éviter la dissémination dans d'autres habitats jamais traités avec des herbicides.

### 3.2.3. Apparition de résistances spontanées

Valérie Le Corre

#### 3.2.3.1. Référentiel bibliographique utilisé

Les références académiques utilisées ici sont celles de la base bibliographique ESCo VTH, complétées par ma base bibliographique personnelle, ainsi que par une recherche complémentaire dans le Web of Science (<http://apps.isiknowledge.com>). On note que les études décrivant l'apparition d'adventices résistantes dans le contexte d'une culture TH sont toutes issues de contextes non européens (continent américain, Australie) et qu'elles concernent très majoritairement les VTH GM. Les processus d'apparition de résistance décrits dans ces études sont à mettre en relation non seulement avec la culture d'une VTH, mais également avec le contexte agronomique et les pratiques propres à ces régions (voir aussi la section 3.1.1). Il existe par ailleurs de nombreuses études sur l'apparition de résistances spontanées dans un contexte de culture conventionnelle, et celles-ci concernent aussi bien le contexte européen que les autres continents. Ces études permettent d'établir les facteurs agronomiques favorisant la résistance, et permettent par extrapolation d'examiner les risques dans le cadre plus particulier des VTH.

Les actes de colloques ont fourni des résultats issus d'expérimentations ou d'observations à échelle plus locale, mais qui apportent des éléments d'information pertinents pour le contexte français. Plusieurs résultats récents exploités ici sont issus des actes de la 21<sup>e</sup> Conférence du COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes qui a eu lieu à Dijon les 8-9 décembre 2010. La littérature scientifique a été complétée par des données contenues dans des rapports d'institutions ou d'instituts techniques, ou des données publiées par ces Instituts sur leur site Internet : Ministère de l'Agriculture (Agreste, e-phy), Arvalis, Cetiom, Institut Technique de la Betterave. Il s'agit de données portant sur les systèmes de culture et les pratiques culturales : données d'enquêtes, liste des molécules herbicides utilisées par culture, etc. Ces données n'existent pas dans la littérature académique ou sont difficile à trouver car très dispersées et fragmentaires.

Enfin, les données sur l'état actuel de la résistance sont issues du site participatif de l'"International Survey of Herbicide-Resistant Weeds", [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org). Ce site recense les cas de résistance rapportés par les équipes de recherche dans le monde entier. Bien que sans doute incomplète, l'information fournie par ce site est reconnue dans la communauté scientifique malherbologique comme la plus complète disponible, car la plupart

des cas nouveaux de résistance ne font pas l'objet d'une publication académique (sauf s'il s'agit d'une nouvelle espèce adventice ou d'un nouveau mode d'action).

### 3.2.3.2. L'évolution de la résistance aux herbicides : généralités

De nombreux articles de synthèse traitant de la résistance aux herbicides ont été publiés. Les principaux sont : Jasieniuk *et al.*, 1996; Beckie, 2006; Neve 2007 et Powles et Yu, 2010. Le premier cas de résistance à un herbicide a été noté en 1968 aux Etats-Unis. Le nombre d'espèces pour lesquelles une résistance est décrite a augmenté rapidement par la suite, surtout au cours des années 1980 et 1990. Les cas observés sont répertoriés sur le site collaboratif régulièrement mis à jour, <http://www.weedscience.org> (Heap, 2010). Selon ce site, à l'heure actuelle (octobre 2011) 200 espèces présentent des résistances aux herbicides dans le monde. Il s'agit des espèces pour lesquelles au moins une population a été identifiée contenant des plantes résistantes à au moins un herbicide (Encadré 3-1). Aucune de ces espèces n'est bien sûr devenue totalement résistante.

La résistance est un phénomène évolutif (Neve et al., 2009; Jasieniuk *et al.*, 1996). Initialement, quelques très rares individus sont porteurs de variation(s) génétique(s) spontanée(s) conférant la résistance. Le tri sélectif opéré par l'application d'une molécule herbicide entraîne l'augmentation de fréquence de ces variants, éventuellement jusqu'à ce qu'ils représentent 100% de la population. La sélection opérée par les herbicides est très intense, puisque leur efficacité (le pourcentage de plantes qui meurt après le traitement) est généralement au moins de 90%. Ceci explique que la résistance puisse évoluer rapidement. Néanmoins, l'évolution de la résistance est fonction d'un grand nombre de facteurs, énumérés ci-dessous.

#### **Encadré 3-1. Critères utilisés par l'“International Survey of Herbicide-Resistant Weeds” pour documenter les nouveaux cas de résistance aux herbicides**

Valérie le Corre

Adapté de Heap, <http://www.weedscience.org/resgroups/Detect%20Resistance.pdf>.

Un nouveau cas de résistance est établi sur la base de 5 critères qui doivent être tous remplis :

1 Le phénomène de résistance doit correspondre aux 2 définitions suivantes :

- la résistance est la capacité héritable d'une plante à survivre et se reproduire après exposition à une dose d'herbicide normalement mortelle ;
- la résistance évolue à partir d'une population adventice initialement sensible et permet aux plantes d'accomplir leur cycle de vie lorsque l'herbicide est appliqué à sa dose normale en situation agricole.

2. La résistance doit être confirmée par comparaison de plantes résistantes et sensibles de la même espèce dans des essais répliqués. De préférence, il s'agit d'expériences de type "dose-réponse" effectuées en conditions contrôlées (chambre de culture, serre) sur plantes entières. L'objectif est de mimer autant que possible les conditions d'application au champ pour déterminer la D50 (dose nécessaire pour réduire de 50% la croissance des plantes traitées) des individus résistants et sensibles. La résistance est établie lorsqu'il existe une différence statistiquement significative de réponse à la dose d'herbicide entre les 2 catégories d'individus. Le niveau de résistance peut alors être quantifié par le rapport des valeurs de D50. Il faut noter que d'un point de vue statistique, la résistance est facile à établir lorsque son niveau est élevée, mais beaucoup moins si son niveau est faible.

3. La résistance doit être héritable. Ce critère est pris en compte du fait que les tests portent habituellement sur des graines récoltées dans les populations, donc sur les descendances des plantes suspectées d'être résistantes.

4. Démonstration des conséquences pratiques de la résistance : une différence statistique de réponse à la dose (critère 2) ne signifie pas qu'il y aura résistance à la dose appliquée au champ. Il est nécessaire de vérifier les conséquences pratiques de la résistance également par des expérimentations au champ, surtout dans le cas des résistances de faible niveau.

5. Une adventice résistante doit être issue d'une population spontanée (non sélectionnée intentionnellement par l'homme) et doit être identifiée taxonomiquement jusqu'au niveau de l'espèce.

### 3.2.3.2.1. Facteurs génétiques

- Fréquence initiale des variants résistants : elle dépend du taux de mutation spontanée permettant leur apparition. La probabilité de présence d'individus résistants pouvant être sélectionnés augmente avec la taille des populations.
- Hérité de la transmission : les gènes de résistance peuvent être transmis seulement par les graines ou par le pollen, ou à la fois par les graines et le pollen. La résistance peut être dominante, lorsqu'une seule copie du ou des gène(s) confère la résistance, ou récessive si 2 copies sont nécessaires.
- Nombre de gènes impliqués : la résistance peut être due à un seul gène, c'est le cas des résistances "de cible", conférées par une ou des mutation(s) dans le gène codant pour l'enzyme dont l'activité est normalement bloquée par la molécule herbicide. Elle peut être multigénique : c'est le cas des résistances dites "de métabolisation" qui empêchent l'action de l'herbicide par sa dégradation rapide dans la plante. Une résistance monogénique évolue très rapidement, tandis qu'une résistance multigénique peut nécessiter l'accumulation de nombreux facteurs de résistance par croisements au cours des générations.
- Coût associé : la résistance peut avoir un coût pour l'organisme, c'est-à-dire diminuer sa capacité à survivre et produire des descendants. Ce coût va causer la diminution progressive au cours des générations de la proportion de plantes résistantes, dès lors que l'herbicide n'est plus utilisé.

Les facteurs génétiques de la résistance décrits ci-dessus varient selon l'herbicide. Il peut co-exister pour un même herbicide plusieurs déterminismes génétiques différents conférant la résistance, et *vice-versa*, un même déterminisme génétique peut conférer la résistance à plusieurs substances herbicides (résistance croisée).

### 3.2.3.2.2. Biologie des espèces adventices

Le mode de reproduction (allogamie ou autogamie), mais aussi la quantité de semences produites influent sur la vitesse d'évolution de la résistance. Le taux de renouvellement et la longévité du stock de semences contenu dans le sol sont également importants : chez les espèces à graines très dormantes et longévives, des individus sensibles sont ré-introduits chaque année à partir du stock semencier. Enfin, les capacités de dispersion des graines et du pollen déterminent la propagation spatiale de la résistance.

### 3.2.3.2.3. Nature de l'herbicide

La structure chimique et surtout le mode d'action sont importants. Une classification des herbicides selon leur mode d'action (voir Annexe 2 du rapport) a été établie par l'HRAC (Herbicide Resistance Action Committee ; <http://hracglobal.com/Home/tabid/121/Default.aspx>). Certains modes d'action ne connaissent pas de résistance, alors que pour d'autres, les résistances sont très répandues (<http://www.weedscience.org>). Une forte rémanence dans l'environnement augmente le risque de sélection de la résistance.

### 3.2.3.2.4. Facteurs opérationnels

Il s'agit des facteurs liés aux pratiques culturales, elles-mêmes fonction des systèmes de cultures et du contexte socio-économique. Les pratiques de désherbage ont un rôle évidemment majeur. Une forte efficacité de l'herbicide, c'est-à-dire un très fort taux de mortalité des plantes (ce taux est fonction de la substance, de la dose et des conditions d'application) favorise la sélection rapide de résistance liée à la cible. Au contraire, l'emploi d'herbicide à dose réduite se traduit par un plus fort taux de survie, ce qui favoriserait l'évolution progressive de résistances multigéniques, surtout chez les espèces allogames (Neve, 2007, Neve et Powles, 2005).

Différents herbicides peuvent être utilisés en mélange ou en séquence (à des dates différentes sur une même culture), ou en rotation à l'échelle de plusieurs saisons culturales, ce qui peut ralentir l'évolution de la résistance, et diverses pratiques culturales sont également susceptibles d'interagir avec l'emploi des herbicides pour favoriser ou retarder l'évolution de la résistance (voir section 3.2.4).

### 3.2.3.3. Etat des lieux des résistances aux herbicides et impact constaté des cultures VTH

Sont considérées ici les principaux modes d'action et familles chimiques herbicides pour lesquels des variétés cultivées tolérantes aux herbicides ont été développées et commercialisées :

- Inhibiteurs du photosystème II (groupe HRAC C1) : triazines (atrazine),
- Inhibiteurs du photosystème II (groupe HRAC C3) : nitriles (bromoxynil),
- Inhibiteurs de la synthèse de la glutamine (groupe HRAC H) : acides phosphiniques (glufosinate),
- Inhibiteurs de l'EPSP synthase (groupe HRAC G) : glycines (glyphosate),
- Inhibiteurs de l'ACCCase (groupe HRAC A) : cyclohexanediones,
- Inhibiteurs de l'ALS (groupe HRAC B) : sulfonyl-urées (tribénuron-méthyle) et imidazolinones (imazamox).

L'objectif de cette partie est de décrire, pour chacun de ces modes d'action, l'étendue actuelle de la résistance et les circonstances de son apparition et de son extension. Pour chaque cas, nous examinerons, sur la base des données bibliographiques disponibles, si la culture de variétés tolérantes a joué un rôle dans l'apparition et/ou l'évolution de la résistance.

#### 3.2.3.3.1. Résistance aux triazines

Les triazines sont la deuxième famille herbicide pour le nombre de cas de résistance constatés dans le monde. La résistance est apparue dès 1968 chez le séneçon (*Senecio vulgaris*) aux USA ; il s'agissait du premier cas répertorié de résistance à un herbicide (Jasienuk et al., 1996). Actuellement, 69 espèces ont développé de la résistance dans le monde ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)). En France, une vingtaine d'espèces résistantes ont été répertoriées. Ces résistances sont liées à l'emploi intensif de l'atrazine en maïs dans les années 1980 (Gasquez et al., 1982). L'usage des atrazines est interdit en France et en Europe depuis 2004. On peut cependant considérer cette résistance comme un cas d'étude.

La résistance est provoquée par une mutation dans le gène cible : le gène psbA, qui code pour l'une des protéines du photosystème II (nécessaire à la photosynthèse). Une seule mutation très commune est pratiquement toujours responsable de la résistance dans les populations adventices à travers le monde (Powles et Yu, 2010). Le gène psbA étant localisé dans le génome chloroplastique, il est transmis uniquement par les graines, et non par le pollen. D'autre part, la résistance est associée à une perte d'efficacité de la photosynthèse et a un coût important sur la valeur sélective en l'absence d'herbicide (Jasienuk et al., 1996).

Les variétés de colza tolérantes à l'atrazine (première variété : Triton, commercialisée en 1981), présentent, du fait de la présence de la modification au gène psbA, une diminution de rendement allant jusqu'à 20 à 30% (Senior, 2003). Initialement introduites au Canada, ces variétés y ont été peu cultivées car peu rentables économiquement, sauf en cas de forte infestation d'adventices. Elles ont par contre été assez largement adoptées en Australie où elles permettaient de lutter contre 2 adventices majeures, le ray-grass et la ravenelle (Stanton, 2010). Malgré un usage répété des triazines, principalement en Australie de l'ouest, la résistance est restée relativement rare, aussi bien chez la ravenelle (Walsh et al., 2007) que chez le ray-grass (Owen et al., 2007). Ceci peut s'expliquer par la faible capacité de dispersion des graines, ainsi que par l'existence d'un coût sélectif. En conclusion, la culture de variétés tolérantes à l'atrazine est restée limitée, sauf en Australie de l'ouest, et n'a pas eu d'impact décelable sur l'extension de la résistance à cet herbicide.

#### 3.2.3.3.2. Résistance au bromoxynil

Le bromoxynil est, comme la triazine, un inhibiteur du photosystème II. Seulement 3 espèces dans le monde ont développé une résistance au bromoxynil ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)) : le séneçon commun (*Senecio vulgaris*) aux Etats-Unis et deux espèces d'amarante (*A. hybridus* et *A. retroflexus*) au Canada. Pour le séneçon, la résistance est apparue en 1995 dans quelques parcelles cultivées en menthe et ayant reçu au minimum un traitement par an depuis 10 ans (Mallory-Smith, 1998). Pour les amarantes, la résistance est apparue respectivement en 2004 et 2005 dans l'Ontario, dans une parcelle cultivée en maïs. Le déterminisme génétique de ces résistances n'a pas été élucidé ; il pourrait s'agir de détoxication (Mallory-Smith, 1998).



Le coton tolérant au bromoxynil a été l'une des premières variétés transgéniques tolérantes à un herbicide ; il a été commercialisé dès 1995 aux USA. Par la suite, un colza transgénique tolérant au bromoxynil a été commercialisé au Canada et aux USA, en 2000. Le bromoxynil n'est pas un herbicide à large spectre. De ce fait, l'adoption des variétés tolérantes est restée limitée (moins de 10% du marché pour le coton), et elles ont été retirées de la vente au début des années 2000 (Duke, 2005). Il n'y a pas de lien établi entre leur usage et l'apparition de résistance spontanée chez des adventices.

#### 3.2.3.3.3. Résistance au glufosinate

Le glufosinate est un herbicide non sélectif qui bloque l'action d'une enzyme, la glutamine-synthétase. La tolérance au glufosinate a été introduite dans des variétés de colza, maïs, soja et coton (variétés Liberty Link®). Jusque très récemment, aucune résistance au glufosinate n'était connue. Néanmoins deux cas de résistance ont été rapportés en 2010 chez une graminée tropicale (*Eleusine indica*) en Malaisie dans des plantations d'hévéa et de palmiers à huile (Seng et al., 2010 ; Jalaludin et al., 2010). Il s'agit dans les deux cas de situation d'utilisation très intensive du glufosinate (6 à 24 applications par an pendant 4 à 5 ans), sans lien avec la culture d'une VTH. Le mécanisme de la résistance n'est pas connu.

#### 3.2.3.3.4. Résistance au glyphosate

Actuellement 21 espèces ayant développé une résistance au glyphosate sont recensées dans le monde, dont seulement 5 en Europe : 3 espèces de vergerette (*Coryza*) et 2 ray-grass (*Lolium*). En France, seul le *Lolium rigidum* est concerné ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)). La résistance peut être conférée par plusieurs mécanismes (Powles et Yu, 2010, Gauvrit 2007). La mutation de la cible ne confère qu'un niveau de résistance faible, tandis que l'amplification et la sur-expression du gène cible est à la base des niveaux de résistance élevés observés chez les amarantes. Une réduction de mobilité de l'herbicide dans les tissus de la plante est souvent impliquée. De manière générale, la résistance au glyphosate est lente à évoluer car les taux de mutation conférant la résistance sont faibles, les niveaux de résistance associés pas toujours élevés et il existe probablement des coûts associés sur la reproduction des plantes (Vila-Aiub et al., 2009).

Le premier cas de résistance au glyphosate a été détecté en 1996 en Australie, chez le ray-grass (*Lolium rigidum*) (Pratley et al., 1999). Cette population, ainsi que toutes les populations de mauvaises herbes résistantes au glyphosate recensées par la suite en Australie correspondent à des situations d'utilisation intensive de glyphosate sur une période de 15 années ou plus (Australian Glyphosate Sustainability Working Group, 2011). Ces situations initiales ne sont pas liées à la culture d'une VTH (les variétés GM tolérantes au glyphosate ont fait l'objet d'un moratoire en Australie jusqu'en 2008). Elles s'expliquent par un usage fréquent du glyphosate comme herbicide non sélectif en pré-semis ou post-récolte des grandes cultures conventionnelles et pour le contrôle des mauvaises herbes dans les friches, vignes et vergers (Stanton et al., 2010).

Cependant, dans d'autres régions du monde, et tout particulièrement aux USA, l'adoption des variétés GM tolérantes au glyphosate a considérablement accéléré l'apparition des résistances (Powles 2008, Owen 2008, Beckie, 2006). Chez la vergerette du Canada (*Coryza canadensis*), la résistance est apparue après seulement 3 ans de culture continue du soja RoundUp Ready® (Owen et Zelaya, 2005 ; VanGessel, 2001). Actuellement aux USA, des populations de vergerette résistantes au glyphosate sont répertoriées sur plusieurs millions d'hectares ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org), Sandermann, 2006). Aux USA, l'adoption du soja et du coton transgéniques tolérants au glyphosate est également associée à l'apparition de la résistance chez les ambrosies (*Ambrosia artemisiifolia* : Brewer et Oliver, 2009, et *Ambrosia trifida* : Westhoven et al., 2008) et les amarantes (*Amaranthus palmeri*, *Amaranthus tuberculatus* ; Tranel et Bradley, 2006). En Amérique du Sud, sur les 6 espèces qui ont développé une résistance au glyphosate, 4 sont observées dans des cultures de soja tolérant (*Coryza bonariensis*, *Coryza canadensis*, *Euphorbia heterophylla* et *Sorghum halepense*) ; les systèmes culturaux caractérisés par une culture continue de soja GM tolérant et la simplification du travail du sol ont été identifiés comme le principal facteur favorisant la résistance (Vila-Aiub et al., 2008).

En France, les populations d'ivraies (*Lolium rigidum*) résistantes sont localisées dans des vignobles. L'évolution de la résistance semble liée à une utilisation du glyphosate seul et de façon répétée (2 applications par an pendant une dizaine d'année) (Favier et Gauvrit, 2007).

### 3.2.3.3.5. Résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase

Les inhibiteurs de l'ACCCase (groupe HRAC A) sont des herbicides anti-graminées. Les dicotylédones, à l'exception de quelques espèces (géraniums) sont naturellement insensibles à ce mode d'action herbicide. A *contrario*, quelques rares espèces de graminées sont naturellement insensibles dont, parmi les adventices, *Poa annua* (Délye, 2005). Actuellement 41 espèces de graminées ayant développé une résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase sont recensées dans le monde, dont 10 en Europe. En France, 6 espèces sont concernées : *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Avena sterilis*, *Digitaria sanguinalis*, *Lolium multiflorum*, *Lolium rigidum* ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org), Gasquez et Fried 2007 pour *Digitaria sanguinalis*).

Les inhibiteurs de l'ACCCase sont représentés par trois familles chimiques herbicides : aryloxyphenoxypropionates (FOP), cyclohexanediones (DIM) et phenylpyrazolines. La résistance de cible peut être conférée par 8 substitutions d'acide aminé à 7 positions différentes. Selon la mutation, la résistance de cible concerne une seule, deux ou les trois familles chimiques. Davantage de mutations confèrent une résistance aux FOP en comparaison des DIM (Powles et Yu, 2010). D'autre part, toutes les mutations ne sont pas également fréquentes dans les populations montrant de la résistance : chez le vulpin, parmi 5 substitutions d'acides aminés observées en Europe, une est observée en plus forte fréquence car elle ne serait associée à aucun coût sur la reproduction (Délye et al., 2010b). Cependant, les résultats de cette étude à grande échelle en Europe ont aussi montré que les mutations au niveau de la cible n'expliquent qu'une faible part de la résistance, celle-ci étant conférée majoritairement par des mécanismes non liés à la cible. Le déterminisme génétique de la résistance par métabolisation reste mal connu et implique probablement des mécanismes généraux de détoxification *via* les cytochromes P450 et/ou les glutathione-S-transférases (Powles et Yu, 2010, Yuan *et al.*, 2007).

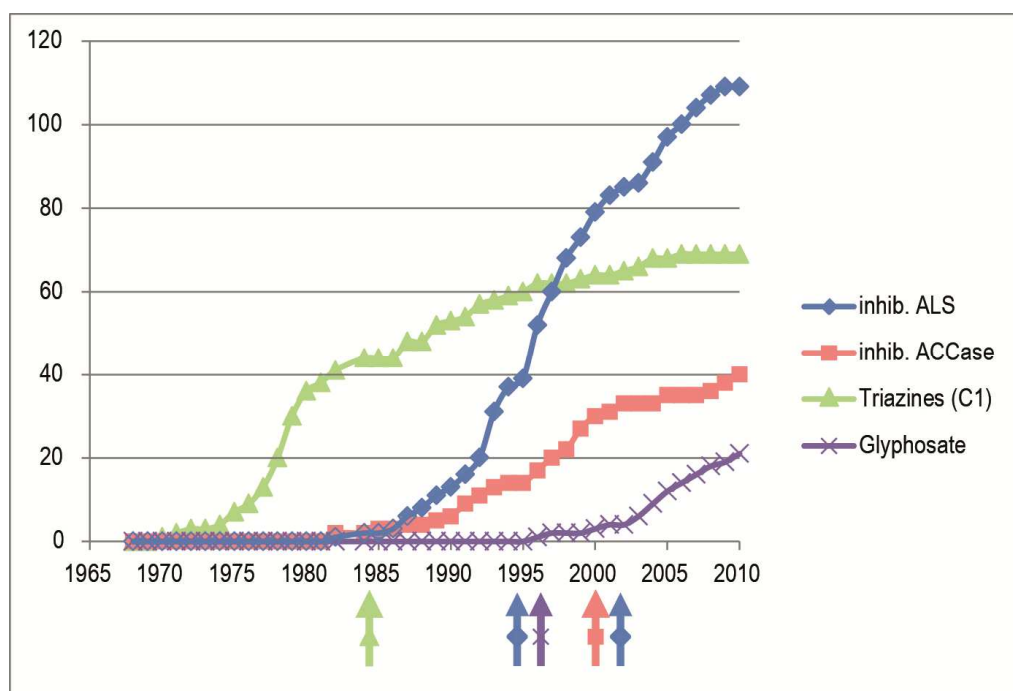
Des populations de graminées résistantes aux herbicides de la famille des inhibiteurs de l'ACCCase sont apparues dès le début des années 1990. En France, la résistance concerne essentiellement deux espèces très fréquentes en céréales d'hiver : le vulpin (*Alopecurus myosuroides*) et les ray-grass (*Lolium* sp.). Actuellement aucun bassin de production de grandes cultures n'est épargné. Un état des lieux effectué en 2007 sur le quart nord-est de la France pour le vulpin a montré une présence de la résistance à un ou plusieurs inhibiteurs de l'ACCCase dans la totalité des parcelles échantillonnées au hasard en Côte d'Or (Délye *et al.*, 2007).

Une première variété de maïs tolérant au cycloxydime, un inhibiteur de l'ACCCase de la famille des cyclohexanediones, a été commercialisée en France en 2001. L'offre variétale s'est élargie à partir de 2006, avec une gamme de variétés dites "DUO System®" couvrant l'ensemble des classes de précocité et des usages (maïs grain, fourrager) (de La Rocque, 2005). Le cycloxydime est efficace sur les graminées et en particulier sur les graminées estivales réputées difficiles à contrôler comme les panics, sétaires et digitaires. Il a aussi une action contre les vivaces (chiendent rampant, chiendent pied de poule, sorgho d'Alep, avoine à chapelet, agrostis stolonifère) (<http://www.duo-system-basf.com>, <http://www.ragtsemences.com>, Réussir Bovins Viande, janvier 2006). Parmi les graminées estivales, seule la digitale est connue pour avoir développé une résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase. Cette résistance est apparue dans le sud-ouest de la France (Landes), dans des parcelles cultivées en carotte et haricot vert, sur lesquelles l'usage du cycloxydime n'était ni unique ni répété fréquemment au cours de la rotation ; son origine reste donc inexplicée (Gasquez et Fried, 2007). Ces populations sont localisées dans une zone de culture de maïs (le maïs intervient en rotation avec carotte et/ou haricot vert de 1 an à 3 ans sur 4, Gasquez et Fried, 2007). Un risque d'extension de cette résistance aux cultures de maïs est donc possible et serait favorisée en cas d'utilisation de variétés DUO System®.

### 3.2.3.3.6. Résistance aux inhibiteurs de l'ALS

Les inhibiteurs de l'acétolacate-synthase (ALS) sont le mode d'action herbicide présentant le plus grand nombre d'espèces ayant développé de la résistance, actuellement 113 dans le monde ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)). C'est aussi la famille herbicide pour laquelle l'évolution de la résistance (à partir des années 1980) a été la plus rapide (Tranel et Wright, 2002 ; Figure 3-7). En Europe, 15 espèces sont résistantes : 6 graminées et 9 dicotylédones (Tableau 3-25). En France, la résistance est établie pour 2 graminées : *Alopecurus myosuroides* et *Lolium rigidum*, et une dicotylédone : *Papaver rhoeas*. La résistance vient d'être démontrée pour une population d'une troisième graminée, le brome stérile (*Bromus sterilis*) en Haute Marne (Delattre et Vaccari, 2010). La résistance est suspectée pour une deuxième dicotylédone, *Matricaria chamomilla* (Lecocq, 2010).

**Figure 3-7.** Dynamique temporelle du nombre d'espèces ayant développé une résistance à l'un des quatre principaux modes d'actions herbicides associés aux VTH.



Les flèches indiquent les principales dates de première commercialisation des variétés VTH (Pour les inhibiteurs de l'ALS, la 2<sup>e</sup> flèche correspond aux variétés Clearfield). (Crédit V. Le Corre)

Données issues du site [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)  
Crédit V. Le Corre

**Tableau 3-25.** Liste des espèces adventices montrant de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS en Europe.

| Espèce                          | Classe         | Pays   |
|---------------------------------|----------------|--|
| <i>Alopecurus myosuroides</i>   | Graminée       | Allemagne, Belgique, France, Grande-Bretagne               |
| <i>Avena fatua</i>              | Graminée       | Grande-Bretagne  |
| <i>Apera spica-venti</i>        | Graminée       | Allemagne, Pologne, République Tchèque                     |
| <i>Echinochloa crus-galli</i>   | Graminée       | Italie, Yougoslavie  |
| <i>Lolium perenne</i>           | Graminée       | Allemagne  |
| <i>Lolium rigidum</i>           | Graminée       | France, Espagne  |
| <i>Alisma plantago-aquatica</i> | Monocotylédone | Espagne, Italie, Portugal                                  |
| <i>Amaranthus retroflexus</i>   | Dicotylédone   | Italie, Yougoslavie  |
| <i>Conyza canadensis</i>        | Dicotylédone   | Pologne  |
| <i>Cyperus difformis</i>        | Monocotylédone | Espagne, Italie  |
| <i>Matricaria chamomilla</i>    | Dicotylédone   | Allemagne  |
| <i>Papaver rhoeas</i>           | Dicotylédone   | Danemark, Espagne, France, Grande-Bretagne, Grèce, Italie, |
| <i>Scirpus mucronatus</i>       | Monocotylédone | Italie   |
| <i>Sinapis alba</i>             | Dicotylédone   | Espagne  |
| <i>Stellaria media</i>          | Dicotylédone   | Danemark, Grande-Bretagne, Irlande, Norvège, Suède         |

D'après [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org), février 2011.

Les inhibiteurs de l'ALS sont représentés par une diversité de familles chimiques herbicides : sulfonyle-urées, imidazolinones, triazolopyrimidines, pyrimidinyl-thiobenzoates et sulfonyle-aminocarbonyl-triazolinone. Toutes ces molécules se lient à l'enzyme ALS sur une région distincte de son site catalytique et empêchent l'accès du substrat de l'enzyme au site catalytique. La résistance de cible a évolué de multiples façons : actuellement, 22

mutations localisées à 7 sites différents dans le gène ALS ont été identifiées (Powles et Yu, 2010; [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)). Certaines mutations confèrent la résistance à pratiquement toutes les molécules herbicides de la classe, alors que d'autres ne confèrent la résistance qu'aux sulfonyle-urées et triazolopyrimidines ou qu'aux imidazolinones et pyrimidinyl-thiobenzoates (Green, 2007). Un taux de mutation élevé et une absence de coût associé sur la *fitness* expliquent que les individus résistants de cible soient présents en fréquence élevée dans les populations avant même sélection par les herbicides inhibiteurs de l'ALS (Preston et Powles, 2002).

La résistance de cible ne constitue pas le seul mécanisme de résistance aux inhibiteurs de l'ALS. Les herbicides inhibiteurs de l'ALS sont tous métabolisables (à l'exception du sulfometuron et de l'imazapyr, tous deux non autorisés en France). La résistance par métabolisation semble être le mécanisme le plus fréquent chez les graminées en Europe (Marshall et Moss, 2007). Comme pour les inhibiteurs de l'ACCCase, le déterminisme génétique de la résistance par métabolisation implique probablement des mécanismes de détoxification par les cytochromes P450 et glutathione-S-transférases. Il très certainement multigénique et variable (Preston 2004, Petit *et al.*, 2010).

La métabolisation confère une résistance croisée à plusieurs modes d'action, en particulier, chez les graminées, à la fois aux inhibiteurs de l'ALS et aux inhibiteurs de l'ACCCase (Preston, 2004). Il semble que la résistance par métabolisation aux inhibiteurs de l'ALS ait été sélectionnée avant même leur usage, par application répétée d'herbicides inhibiteurs de l'ACCCase, en particulier les antigraminées inhibiteurs de l'ACCCase de la famille des "FOP" très utilisées en céréales durant les années 1980 à 1990 (Gasquez *et al.*, 2010). La résistance croisée par métabolisation concerne également d'autres familles herbicides importantes. La détoxification par les cytochromes P450 est particulièrement susceptible de concerner des modes d'action très divers : les résistances constatées concernent, outre les inhibiteurs de l'ACCCase et les inhibiteurs de l'ALS : les inhibiteurs du photosystème II (groupes C1 : triazines, C2 : urées), les inhibiteurs des microtubulines (groupe K1 : dinitroanilines), les auxines de synthèse (groupe O) et des inhibiteurs de la synthèse des lipides (groupe N : thiocarbamates) (Powles et Yu, 2010, Yuan *et al.*, 2007). En Australie a été observée une population de *Lolium* résistant par métabolisation à 9 modes d'actions différents (Burnet *et al.* 1994).

Les herbicides inhibiteurs de l'ALS exercent une forte pression de sélection en raison de leur très bonne efficacité sur plantes sensibles et de leur activité résiduelle dans le sol (Tranel et Wright, 2002). Du fait de leur large spectre d'action (aussi bien antidicotylédones qu'antigraminés), ils ont été intensément utilisés dans une large gamme de cultures. Ceci explique la rapidité des phénomènes de résistance. Les premiers cas ont été observés aux Etats-Unis sur *Lactuca serriola* et *Kochia scoparia* seulement 5 ans après la première commercialisation d'une sulfonyle-urée (Tranel et Wright, 2002). En Italie, *Amaranthus retroflexus* est devenue résistante en monoculture de soja après 5 années d'application (Scarabel *et al.*, 2007). Concernant le vulpin, une évolution de la résistance a été constatée dans une population française après seulement 3 années consécutives de traitement par des inhibiteurs de l'ALS (Délye et Boucansaud, 2008).

L'étendue actuelle de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS reste difficile à apprécier (Tableau 3-25). En France, elle n'a pas encore fait l'objet d'enquête systématique comme cela a été fait pour la résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase chez le vulpin (Délye *et al.*, 2007). En Grande-Bretagne, la résistance aux inhibiteurs de l'ALS est en augmentation pour la principale graminée adventice, le vulpin (*Alopecurus myosuroides*) : elle est confirmée dans 21 comtés anglais (Moss *et al.*, 2010). En Espagne, le ray-grass (*Lolium rigidum*) est la graminée prédominante des céréales. Une étude basée sur un échantillonnage aléatoire de parcelles a montré que la prévalence de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS chez cette espèce est variable d'une région à l'autre. Dans la région la plus touchée, la Catalogne, 60% des parcelles présentent de la résistance (Loureiro *et al.*, 2010). La résistance chez le coquelicot concerne de multiples populations en Espagne, Italie et Grèce (Délye *et al.*, 2011, Scarabel *et al.*, 2004).

Des variétés cultivées tolérantes à deux catégories d'herbicides inhibiteurs de l'ALS sont commercialisées. Il s'agit d'une part, des variétés tolérantes à une sulfonyle-urée qui comprennent le tournesol "Express SX®" résistant au tribénuron-méthyle, le soja "STS" résistant au chlorimuron-ethyl et thifensulfuron-méthyle, et la chicorée "Safari" résistante au chlorsulfuron ; et d'autre part, des variétés tolérantes à des imidazolinones (imazamox ou imazapyr et imazapic, ces 2 dernières substances n'étant pas autorisées actuellement en France). Ces variétés sont commercialisées sous le nom "Clearfield®" et comprennent des variétés de colza, maïs, tournesol, betterave, riz, canne à sucre, lentille et blé. Ces variétés ont été commercialisées dès 1993, 1994 et 1995 pour le maïs Clearfield®, le soja STS et le colza Clearfield®, respectivement (Duke, 2005 ; Tan *et al.* 2005), mais la plupart des variétés sont apparues sur le marché dans la première moitié des années 2000. Or l'apparition de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS a commencé dès le début des années 1990, et sa

dynamique était déjà dans une phase ascendante très forte à la fin des années 1990, avec 80 espèces résistantes répertoriées en 2000 (www.weedscience.org, Figure 3.4). On ne peut mettre en évidence un lien entre cette dynamique et l'adoption des VTH.

#### 3.2.3.4. Impacts prévisibles de l'introduction de VTH en France

Lors de la commercialisation des premières variétés GM tolérantes au glyphosate, l'évolution de résistance spontanée chez les adventices était considérée comme très peu probable, du fait de l'absence de cas déjà observé et des particularités du mode d'action de cet herbicide (Bradshaw et al., 1997). Un impact très négatif sur l'évolution des résistances aux herbicides est pourtant constaté dans le cas des variétés GM tolérantes au glyphosate. Cet impact est lié en premier lieu à une adoption généralisée de ces variétés sur de très grandes surfaces : en 2004 aux USA, 80% des surfaces en soja, 60% en coton et 18% en maïs étaient des OGM tolérants (Duke, 2005). D'autre part, ces VTH ont été utilisées dans des rotations contenant une majorité ou uniquement des variétés GM tolérantes, avec l'abandon de l'usage d'autres modes d'action herbicides et l'abandon du désherbage mécanique (Powles 2008). L'usage répété d'un même mode d'action herbicide entraîne une pression de sélection forte et constante. L'abandon du travail du sol a un effet direct correspondant à la suppression d'un mode de gestion alternatif qui peut permettre de maintenir les populations adventices à faible densité. Il a également un effet indirect *via* la suppression de l'effet tampon du stock semencier sur l'évolution de la résistance (Bekkie 2006). Un autre facteur qui a pu favoriser l'évolution de la résistance dans les cultures OGM résistantes au glyphosate est l'application de traitement herbicide tardif en post-levée plutôt qu'en pré-levée : une plus large fraction de la population adventice est ainsi affectée par la pression herbicide (Neve *et al.*, 2003). Les facteurs listés ci-dessus suggèrent une pression de sélection extrêmement forte favorisant l'évolution de la résistance au glyphosate. Malgré cela, la dynamique d'évolution de la résistance au glyphosate est restée relativement lente en comparaison d'autres modes d'action (Figure 3-6), ce qui peut s'expliquer par un faible taux de mutation conférant la résistance.

Les risques d'évolution de résistance associés à la culture de variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS sont d'une autre dimension que ceux associés aux cultures tolérantes aux glyphosate. Du fait de la fréquence élevée d'apparition d'individus résistants par mutation, l'évolution de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS est considérée par certains auteurs comme totalement déterministe, c'est-à-dire certaine (Neve, 2008). Contrairement au cas du glyphosate, le maintien des populations adventices à faible densité permettrait seulement de retarder et non d'éviter la résistance. D'autre part, les stratégies de diversification des modes d'action herbicides, de type "double knock-down" (cf. section 3.2.4), sont soumises à un risque d'évolution de résistance par métabolisation à large spectre (de type détoxification par les cytochromes P450), surtout chez les graminées, pour lesquelles des résistances croisées aux inhibiteurs de l'ALS et à divers autres modes d'action ont été démontrées.

On ne peut préciser davantage les risques associés à une culture VTH sans tenir compte de la rotation culturale dans laquelle elle s'insère : quelles sont les autres cultures les plus souvent associées dans la rotation, quels sont les herbicides utilisés dans ces cultures (la pression de sélection exercée au cours de la rotation diffère-t-elle ou non de celle exercée par la VTH) ? Quelles sont les espèces adventices majoritaires dans la rotation (les espèces cibles de la sélection exercée par les herbicides sont-elles les mêmes dans la VTH et dans le reste de la rotation) ? Le risque est maximum pour les espèces adventices exposées de façon continue à une même pression, c'est à dire à un même mode d'action herbicide.

##### 3.2.3.4.1. Principaux types de rotations susceptibles d'intégrer des VTH en France :

Cette section décrit pour chaque culture TH les cultures le plus souvent associées en rotation.

*Oléagineux.* En France, *colza* et *tournesol* sont intégrés majoritairement dans des rotations avec d'autres cultures. Ils succèdent à une céréale dans plus de 90% des cas (Duroueix et al., 2010). Les principales rotations sont ainsi céréales-colza (colza-blé tendre-blé tendre, ou colza-blé tendre-orge) dans l'Ouest, le Centre, le Nord-

est ; céréales-colza-betteraves dans le Nord et céréales-tournesol (blé dur – tournesol) dans le Sud et Sud-ouest (Agreste, Les Dossiers n°8, juillet 2010<sup>7</sup>).

*Soja*. C'est actuellement une culture minoritaire : environ 20 000 ha en France, surtout dans le Sud-ouest et l'Est, dont environ 12% sont cultivés en agriculture biologique et donc non concernés par la culture de VTH (source : Cetiom<sup>8</sup>). Le soja est souvent employé en tête de rotation avant un maïs, ou une céréale (blé), parfois un tournesol. Un point à noter : c'est la seule culture conventionnelle sur laquelle est homologué l'herbicide Pulsar 40 (imazamox) utilisé dans le système tournesol Clearfield®.

*Maïs*. Le maïs est cultivé principalement en monoculture, ou en alternance avec un blé tendre (Agreste, Les Dossiers n°8, juillet 2010).

*Betterave*. Elle est cultivée presque uniquement après un précédent céréale (blé tendre ou orge), dans des rotations pouvant inclure aussi un colza : en 2007, 10% des parcelles avaient un précédent ou antéprécédent colza selon l'ITB (sources : Agreste, Les Dossiers n°8, juillet 2010 ; ITB<sup>9</sup>).

*Luzerne*. La principale zone de grandes cultures avec présence de luzerne dans les rotations est la région Champagne-Ardenne (production de luzerne déshydratée, environ 50 000 ha). La luzerne est cultivée sur une durée de trois ans avec un intervalle moyen de 10 ans entre deux retours sur une même parcelle. La culture précédente est dans 80% des cas une orge d'hiver, et pour les 20% restant un blé ou une orge de printemps chicorée (source : Coop de France Déshydratation, CDER de Chalons en Champagne et Chambre d'agriculture de la Marne, 2010. La luzerne en Champagne-Ardenne : enquête culturelle 2009, <http://culture-luzerne.org>).

*Riz*. Le riz est cultivé en monoculture (environ 20 000 ha en Camargue).

*Chicorée industrielle*. La chicorée-café ou chicorée-inuline est une culture de diversification essentiellement présente dans le Nord - Pas-de-Calais, dans les mêmes rotations que la betterave.

#### 3.2.3.4.2. Diversité des modes d'action herbicides dans les rotations susceptibles d'intégrer des VTH

##### *Désherbage des céréales (blé tendre, orge)*

Les surfaces de blé tendre sont principalement désherbées avec les matières actives suivantes : iodosulfuron-méthyl-sodium et mesosulfuron-méthyl en association, isoproturon, diflufénicanil en association avec isoproturon et/ou ioxynil (Cassagne, 2009) (Tableau 3-26).

**Tableau 3-26.** Principales matières actives utilisées sur blé tendre.  
D'après Agreste - Enquête sur les pratiques culturales 2006, cité par Cassagne, 2009.

| Matière Active              | Mode action         | % Superficie | Usage             |
|-----------------------------|---------------------|--------------|-------------------|
| Iodosulfuron-méthyl-sodium  | B: ALS              | 50           | graminées, dicots |
| Mesosulfuron-méthyl -sodium | B: ALS              | 46           | graminées, dicots |
| Diflufénicanil              | F1 : caroténoïdes   | 33           | graminées, dicots |
| Isoproturon                 | C2: photosystème II | 32           | graminées         |
| Ioxynil (ester octanoïque)  | C3: photosystème II | 19           | dicots            |
| Metsulfuron méthyle         | B: ALS              | 18           | dicots            |

Les graminées constituent le principal problème adventice en céréales. Au cours des 20 dernières années, la lutte a reposé essentiellement sur l'utilisation d'antigraminées foliaires appartenant à 2 modes d'action : les inhibiteurs de l'ACCCase (groupe HRAC A) et les inhibiteurs de l'ALS (groupe HRAC B). L'extension de la résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase a conduit à l'utilisation de plus en plus importante des inhibiteurs de l'ALS en solution de remplacement. Actuellement au minimum un tiers de la surface en céréales est traité avec des

<sup>7</sup> <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>

<sup>8</sup> <http://www.cetiom.fr>

<sup>9</sup> <http://www.institut-betterave.asso.fr/>

inhibiteurs de l'ALS (principalement : association iodosulfuron-méthyl-sodium / mesosulfuron-méthyl-sodium) (Lecocq, 2010). A noter cependant, que pour ces inhibiteurs de l'ALS, l'application est réglementairement limitée depuis 2006 à 1 point d'IFT/an/parcelle (e-phy 2010<sup>10</sup>).

Etant donné le développement de résistance aux inhibiteurs de l'ALS, l'utilisation d'autres modes d'action est recherchée (Vacher, 2009). Les choix possibles sont d'une part, les urées substituées (2 molécules : isoproturon et chlortoluron, appartenant au groupe HRAC C2 : inhibition du photosystème II), et d'autre part diverses substances appartenant à d'autres modes d'action (groupes F1, K1, K3 et N).

Une résistance partielle à l'isoproturon a été identifiée dans des populations de Ray-grass au Royaume-Uni (Cocker *et al.*, 2001), mais cette résistance reste non prouvée en France. L'efficacité des urées substituées est faible et irrégulière (dépendante des conditions climatiques) et elles peuvent poser des problèmes de phytotoxicité sur le blé (Vacher, 2009). Par ailleurs, l'isoproturon est autorisé en France seulement à dose réduite (depuis 2004 : 1200 mg /ha), et pour une seule application par campagne. Une solution de désherbage efficace utilisable en remplacement aussi bien des inhibiteurs de l'ACCase que des inhibiteurs de l'ALS consiste donc plutôt en des programmes de traitement qui associent les urées substituées avec d'autres modes d'action (par exemple : pendiméthaline, prosulfocarbe, flufenacet) (Vacher, 2009). Des programmes associant ces autres molécules (par exemple flufenacet et pendiméthaline, ou flufenacet et diflufenicanil) semblent constituer une autre bonne solution alternative. Cependant, l'efficacité de ces programmes serait variable et comprise entre 50% et 90%, c'est-à-dire moindre que l'efficacité des inhibiteurs de l'ALS en l'absence de résistance (Vacher, 2009; Bailly *et al.*, 2010). D'autre part l'utilisation de programmes se traduit par un usage (valeur d'IFT) plus important.

#### *Désherbage du colza*

Le désherbage du colza passe essentiellement par l'application entre le semis et la levée d'herbicides à action racinaire : 5 substances appartenant à 3 modes d'action sont disponibles (Duroueix *et al.*, 2010). On peut citer la clomazone (groupe HRAC F3 : inhibition caroténoïdes) et le quinmérac (groupe O : auxines) sur dicotylédones, le métazachlore (groupe K3, inhibiteur de la division cellulaire) sur graminées et dicotylédones. Les antidicotylédones de post-levée sont des produits à spectre étroit, rarement utilisés sauf en rattrapage (Duroueix *et al.*, 2010). Des antigaminées spécifiques appartenant aux inhibiteurs de l'ACCase peuvent être utilisés en post-levée : cycloxydime, cléthodime, quizalafop-p-ethyl, propaquizafop.

Alors que, jusqu'en 2010, aucun herbicide de la famille des inhibiteurs de l'ALS n'était homologué sur colza, une molécule de cette famille, l'ethametsulfuron-méthyl, est actuellement en cours d'homologation en France (Bertin, 2010). Elle sera efficace en post-levée sur différentes dicotylédones et constitue une nouvelle solution de désherbage totalement comparable à l'emploi d'une variété tolérante aux inhibiteurs de l'ALS. L'usage de l'ethametsulfuron-méthyl sera recommandé uniquement en association avec le métazachlore ou le quinmérac (Bertin, 2010), comme ce sera le cas pour l'imazamox utilisé en traitement des variétés Clearfield®. Ces nouveaux usages répondent donc bien à la nécessité d'une stratégie de diversification des modes d'action, de type mélange (voir section 3.2.3 ci-dessous). Cependant, l'introduction de colza TH dans le cadre d'une rotation colza-céréales entraînera une perte de diversité des modes d'action utilisés à l'échelle de la rotation, si elle n'est pas associée à une modification de l'usage des herbicides en céréales.

#### *Désherbage du tournesol*

Jusqu'à présent, on ne disposait pas d'anti-dicotylédones de post-levée en tournesol. Par contre, on dispose de nombreux modes d'action pour des herbicides à action racinaire utilisés en pré-semis et post-semis/pré-levée : S-metolachlore (groupe K3), pendiméthaline (groupe K1), aclonifen (groupe F3), métazachlore (groupe K3), quinmérac (groupe O)... Comme en colza, les inhibiteurs de l'ACCase peuvent être utilisés en antigaminées foliaires de post-levée. Sur l'ambrosie, deux molécules, principalement, sont efficaces : l'aclonifen (groupe K3) et la flurtamone (groupe F1) (source : Cetiom, [www.cetiom.fr/](http://www.cetiom.fr/)).

---

<sup>10</sup> catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages des matières fertilisantes et des supports de culture homologués en France - <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>

Comme pour le colza, l'introduction d'un tournesol résistant aux inhibiteurs de l'ALS dans une rotation avec des céréales est susceptible d'entraîner une perte de diversité des modes d'action herbicides. Cela d'autant plus, que contrairement au cas du colza, les deux herbicides associées aux variétés Clearfield® et Express Sun® seront utilisés purs et non en mélange. Le Pulsar 40, herbicide associé au tournesol Clearfield® est homologué sur soja conventionnel. Cependant son usage dans un soja en rotation avec un tournesol Clearfield® est peu probable car elle rendrait problématique la gestion des repousses de tournesol Clearfield®. Afin de maintenir une diversité des modes d'action en désherbage du tournesol TH, le Cetiom (<http://www.cetiom.fr/index.php?id=12996>, Duroueix et al., 2010) recommande le maintien d'un traitement complémentaire de pré-levée à base d'herbicides des groupes K, O ou F (molécules citées ci-dessus).

Si l'on fait la synthèse de l'emploi actuel ainsi que des préconisations d'utilisation des modes d'action herbicides dans les rotations incluant du tournesol et/ou du colza, l'introduction de variétés de colza Clearfield et/ou de tournesol Clearfield® ou Express Sun® se traduira par un risque élevé d'utilisation répétée d'inhibiteurs de l'ALS. Le maintien d'une diversité de modes d'action pourra être obtenu par l'utilisation de programmes herbicides dans chaque culture de la rotation. Cependant cette stratégie semble privilégier un petit nombre de modes d'action alternatifs aux inhibiteurs de l'ALS, en particulier le groupe K3 (chloroacétamides), utilisable à la fois en céréales, colza et tournesol, et le groupe O (quinmérac) en colza et tournesol. Or des résistances sont apparues pour ces deux modes d'action (<http://www.weedscience.org>). Pour les chloroacétamides, les espèces concernées sont des graminées (*Alopecurus myosuroides*, *Lolium multiflorum* et *rigidum*, *Echinochloa crus-galli*). Pour le groupe O, 28 espèces résistantes sont répertoriées. Il s'agit en majorité de dicotylédones résistantes au 2-4 D (auxine de synthèse). Cependant, on note 5 espèces (*Digitaria ischaemum*, 3 espèces d'*Echinochloa*, *Galium spurium*) résistantes au quinclorac, une molécule de structure chimique très proche du quinmérac. D'autre part, on connaît plusieurs espèces pour lesquelles ont été observés des biotypes résistants à la fois aux inhibiteurs de l'ALS et aux modes d'actions alternatifs en céréales, colza ou tournesol (Tableau 3-27). Les mécanismes de ces résistances ne sont pas toujours connus, mais il s'agit probablement, le plus souvent, de résistance croisée non liée à la cible, particulièrement susceptible d'évoluer lorsque l'efficacité d'un programme herbicide n'est pas totale.

**Tableau 3-27.** Espèces ayant développé une résistance multiple aux inhibiteurs de l'ALS (groupe B) et à d'autres modes d'action alternatifs utilisables en blé, colza ou tournesol

| Espèce                        | Pays      | Modes d'action          | Molécules   |
|-------------------------------|-----------|-------------------------|---|
| <i>Alopecurus myosuroides</i> | Belgique  | A, B, C1, C2, K1        | atrazine, chlorotoluron, clodinafop-propargyl, fenoxaprop-P-ethyl, flupyrsulfuron-methyl-Na, pendimethalin, propaquizafop   |
|                               | Allemagne | A, B, C2, K3            | chlorotoluron, fenoxaprop-P-ethyl, flufenacet, isoproturon, mesosulfuron-methyl, pinoxaden  |
| <i>Avena fatua</i>            | Canada    | A, B, N                 | fenoxaprop-P-ethyl, imazamethabenz-methyl, triallate  |
| <i>Echinochloa crus-galli</i> | Brésil    | B, O                    | bispyribac-Na, imazethapyr, penoxsulam, quinclorac  |
| <i>Galium spurium</i>         | Canada    | B, O                    | imazethapyr, metsulfuron-methyl, quinclorac, sulfometuron-methyl, thifensulfuron-methyl, triasulfuron, tribenuron-methyl  |
| <i>Lolium multiflorum</i>     | USA       | A, B, K3                | clodinafop-propargyl, diclofop-methyl, flufenacet, quizalofop-P-ethyl, triasulfuron   |
| <i>Lolium rigidum</i>         | Australie | A, B, F3, K1, K2, K3, N | chlorpropham, chlorsulfuron, clomazone, diclofop-methyl, ethalfluralin, fluazifop-P-butyl, imazapyr, metolachlor, metsulfuron-methyl, quizalofop-P-ethyl, sethoxydim, tralkoxydim, triallate, triasulfuron, trifluralin |
| <i>Papaver rhoeas</i>         | Espagne   | B, O                    | 2,4-D and tribenuron-methyl   |
| <i>Raphanus raphanistrum</i>  | Australie | B, F1, O                | 2,4-D, diflufenican, MCPA, and triasulfuron   |
| <i>Sinapis avensis</i>        | Turquie   | B, O                    | dicamba, propoxycarbazone, thifensulfuron-methyl, triasulfuron, tribenuron-methyl   |
| <i>Sysimbrium orientale</i>   | Australie | B, O                    | 2,4-D, imazethapyr, MCPA, metosulam, metsulfuron-methyl   |

La résistance multiple uniquement aux inhibiteurs de l'ALS (B) et inhibiteurs de l'ACCase (A) n'a pas été considérée ici. Seules les espèces présentes en France sont listées. Source : <http://www.weedscience.org>

### Désherbage du maïs

Depuis l'interdiction de l'atrazine, le désherbage du maïs repose sur l'association de diverses molécules, utilisées classiquement en 2 passages, en pré- et post-semis (Bibard et Nicolier, 2007). Les modes d'action disponibles



sont très variés (groupes B, C1, C3, F1, F2, K3, O) (Dewar, 2009). Cependant, selon une enquête réalisée en 2007 (Kleffmann group, cité par Dewar, 2009), les inhibiteurs de l'ALS (sulfonyl-urées, principale molécule : le nicosulfuron) utilisés en post-levée constituent le mode d'action le plus utilisé, avec les chloroacétamides (groupe K3) et trikétones (groupe F2). Il existe donc là aussi un risque d'homogénéisation à l'échelle de la rotation en cas d'introduction d'une variété tolérante aux inhibiteurs de l'ALS dans une rotation comportant du maïs. En ce qui concerne le maïs Duo tolérant à un inhibiteur de l'ACCCase, une rotation maïs-blé est susceptible de favoriser l'évolution de la résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase ou une résistance multiple aux inhibiteurs de l'ACCCase et aux inhibiteurs de l'ALS. Les flores des deux cultures sont cependant bien distinctes.

#### *Désherbage de la betterave*

Le désherbage de la betterave conventionnelle repose sur plusieurs applications d'herbicides en post-levée, associées à un désherbage mécanique (ITB, 2011). Les betteraves adventices ne peuvent être éliminées que mécaniquement. Le désherbage des graminées (vulpin, ray-grass) repose sur l'emploi d'antigraminées inhibiteurs de l'ACCCase (cycloxydime, cléthodime, propaquizafop, fluazifop-p-butyl, quizalofop-éthyl...). Le désherbage des dicotylédones fait appel à des mélanges de 2 à 6 molécules herbicides appartenant surtout aux groupes C1 (chloridazone, lenacil metamitron phenmédiaphane,) et aussi K3 (S-metolachor), N (ethofumésate), O (quinmérac) et B (inhibiteurs de l'ALS : trisulfuron-méthyl). Les dicotylédones les plus difficiles à contrôler sont le chénopode, la mercuriale et le chardon.

#### **3.2.3.4.3. Diversité des flores et espèces à risque dans les rotations susceptibles d'intégrer des VTH**

Les espèces qui présentent le plus de risque de développer de la résistance sont celles qui sont présentes à la fois dans la culture TH et dans les autres cultures de la rotation et qui sont traitées avec le même mode d'action herbicide. Dans le cas de la résistance aux herbicides inhibiteurs de l'ALS, il s'agit donc principalement des espèces présentes à la fois en colza ou en tournesol et en céréales d'hiver.

Les rotations avec céréales et tournesol TH présentent *a priori* moins de risque que les rotations avec céréales et colza TH, car elles alternent des flores plus diversifiées (espèces hivernales ou printanières en céréales *versus* estivales en tournesol). En revanche, bon nombre d'adventices sont communes au colza et aux céréales d'hiver et fréquentes dans ces deux cultures (Fried et al., 2008). Le cas où un tournesol TH serait cultivé en rotation avec une autre culture d'été (soja ou maïs, sorgho) conduirait également à une forte homogénéité de la flore au cours de la rotation. Cependant, la situation semble moins à risque du fait de la large gamme de modes d'action disponibles et utilisés dans ces autres cultures, à condition qu'il y ait bien alternance (pas d'usage des inhibiteurs de l'ALS dans ces cultures).

En 2010, Duroueix *et al.* ont proposé une liste des espèces à risque d'évolution vers la résistance pour le tournesol et le colza tolérants aux inhibiteurs de l'ALS. En tournesol, les deux espèces les plus à risque sont l'ambrosie et l'ammi majeur, puis les crucifères, l'ivraie et la mercuriale. L'ambrosie peut être localement présente dans les parcelles en forte densité (région Rhône-Alpes), et c'est une espèce qui produit de grandes quantités de semences. La probabilité d'apparition de mutation conférant la résistance est donc forte. La résistance aux inhibiteurs de l'ALS a déjà évolué chez cette espèce aux Etats-Unis (Zheng et al., 2005). L'ammi majeur est une espèce difficile à désherber : en céréales, seules les sulfonyl-urées sont efficaces. Dans une rotation céréales-tournesol TH, cette espèce sera donc soumise de façon constante à une pression de sélection par les inhibiteurs de l'ALS.

En colza, les espèces à risque sont nombreuses : crucifères (*Sinapis arvensis*, *Calepina irregularis*, *Lepidium campestris*, *Barbarea intermedia*), géraniums (*G. Pusillum*, *G. rotundifolium*, *G. molle*), graminées hivernales (*Lolium sp.*, *Alopecurus myosuroides*, *Bromus sterilis*, *Avena fatua*), l'ammi majeur et autres ombellifères (*Aethusa cynapium*, *Daucus carotta*, *Scandix pecten-veneris*, *Torilis arvensis*). Le coquelicot est considéré comme à risque faible par Duroueix et al. (2010). En effet, plusieurs solutions alternatives de désherbage existent pour cette espèce. Cependant le coquelicot, commun à la fois en céréales d'hiver et colza, semble montrer une évolution de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS tout à fait préoccupante, avec des populations très résistantes détectées récemment dans plusieurs régions en France (Délye *et al.*, sous presse). Elle peut donc être classée dans les espèces à risque important. Toutes ces espèces à risque sont fréquentes en colza, ce qui augmente le risque d'apparition de mutation de résistance. Pour deux des espèces de graminées et le coquelicot, des

mutations de cible conférant la résistance existent déjà en France et peuvent être introduites par flux de gènes à l'intérieur d'une parcelle, en plus du risque d'apparition par mutation. D'autre part, pour toutes ces espèces, les molécules herbicides appartenant à d'autres modes d'action que les inhibiteurs de l'ALS sont d'une moindre efficacité, voire inefficaces (cas de l'ammî majeur, d'*Anthriscus caucalis*) (Duroueix *et al.*, 2010; Vacher *et al.*, 2009). Les résistances croisées aux inhibiteurs de l'ALS et à d'autres modes d'action semblent concerner particulièrement les graminées, les crucifères et le coquelicot (Tableau 3-27).

L'ensemble de ces données permet de proposer une liste des combinaisons "culture VTH-rotation-espèce adventice" qui présentent les risques les plus élevés d'apparition de résistance aux inhibiteurs de l'ALS. Le tableau 3-28 qui présente cette liste a été construit en se basant sur la synthèse de Duroueix *et al.* (2010, tableaux IV et V), complétée par les données de la littérature présentées ci-dessus.

**Tableau 3-28.** Synthèse des espèces adventices à risque d'apparition de résistance aux inhibiteurs de l'ALS pour chaque culture VTH

Les couleurs indiquent l'efficacité de la méthode de gestion-prévention de la résistance : vert = efficace, orange = moyennement efficace, rouge = peu efficace.

| Culture VTH | Herbicide associé           | Rotation                                   | Adventices  | Prévention-gestion de la résistance   |   | Risque global |
|-------------|-----------------------------|--|---|---|---|---------------|
|             |                             |  |   | Herbicides alternatifs  | Méthodes non chimiques                        |               |
| Colza       | imazamox                    | Colza-céréales                             | graminées hivernales  | En colza et céréales, mais efficacité moyenne + risque de résistance multiple | Introduction culture de printemps, faux semis | +++           |
|             |                             |  | crucifères  |   |   | ++            |
|             |                             |  | géraniums   |   |   | ++            |
|             |                             |  | coquelicot  |   |   | ++            |
|             |                             |  | ombellifères ( <i>Ammi majus</i> , <i>Anthriscus caucalis</i> ) | En colza seulement  |   | ++            |
| Tournesol   | imazamox                    | Tournesol-blé                              | tournesol adventice   | Non   |   | +++           |
|             | Imazamox, tribenuron-methyl |  | Ray-grass   | Risque de résistance multiple   | Faux semis                                    | +++           |
|             |                             |  | <i>Ammi majus</i>   | En tournesol seulement  |   | ++            |
|             |                             |  | ambrosie  | Nombre limité en tournesol  | Faux semis, semis tardif du tournesol         | ++            |
|             |                             |  | crucifères  |   |   | +             |
|             |                             |  | mercuriale  |   |   | +             |
| Maïs        | Imazamox, cycloxydime       | Maïs-blé, monoculture                      | Graminées estivales ( <i>Echinochloa crus-galli</i> , sétaires) |   | Désherbage mécanique                          | ++            |
|             |                             |  | Ray-grass   |   | Désherbage mécanique                          | ++            |
| Blé         | Imazapyr, imazapic          | Monoculture, rotation avec céréales, colza | graminées hivernales (vulpin, ray-grass, brome, avoines)        | En colza et blé, mais efficacité moyenne et risque de résistance multiple     | Introduction culture de printemps, faux semis | +++           |
| Betterave   | imazamox                    | Betterave-céréales                         | betterave adventice   | Non   | Binage  | +++           |
|             |                             |  | Graminées hivernales (vulpin, ray-grass, brome, avoines)        | Risque de résistance multiple   |   | ++            |
|             |                             |  | <i>Ammi majus</i>   | En betterave seulement  | Binage  | +             |
|             |                             |  | chénopode, mercuriale, renouées, amarantes                      |   | Binage  | +             |
| Riz         | imazamox                    | monoculture                                | riz sauvage   | Non   | Faux semis                                    | ++            |
|             |                             |  | <i>Echinochloa crus-galli</i>                                   |   |   | ++            |

#### 3.2.3.4.4. Dispersion de la résistance à l'échelle du parcellaire et du paysage

L'insertion et la fréquence de retour des variétés TH dans les rotations culturales déterminent le risque d'évolution temporelle de la résistance sur une parcelle. De la même façon, la localisation géographique des cultures, et leur insertion dans le parcellaire agricole vont intervenir pour le risque d'extension spatiale des résistances. La propagation spatiale de la résistance aux herbicides varie selon les capacités de dispersion des espèces. Ainsi, une dispersion très rapide de la résistance au glyphosate a été constatée pour *Conyza canadensis*, une espèce à semences légères dotées d'une aigrette et dispersées par le vent : 5 ans après l'observation de la première population résistante, la résistance concernait 44 000 hectares aux USA (Dauer *et al.*, 2007). Cette expansion s'explique par la quantité de semences produites (70 000 à 200 000 par plante) et leur dispersion à au moins 500 mètres des plantes mères (Dauer *et al.*, 2007, 2009).

La dispersion anémophile du pollen est également un facteur important de la dispersion. Elle concerne beaucoup de graminées adventices allogames, dont le vulpin et les *Lolium*. La dispersion de la résistance aux herbicides inhibiteurs de l'ACCCase a été étudiée par Délye *et al.* (2010a) sur un ensemble de parcelles du département de la Côte d'Or cultivées en blé d'hiver et appartenant soit à des exploitations conventionnelles, soit à des exploitations conduites en agriculture biologique. En l'absence de pression herbicide, il ne peut y avoir évolution locale de la résistance dans les parcelles en agriculture biologique. Cependant il a été observée dans ces parcelles une fréquence de plantes résistantes similaires à celle observée dans les parcelles conventionnelles, et ne pouvant donc s'expliquer que par une contamination *via* les flux de pollen. Les distances de dispersion maximales seraient de l'ordre de quelques kilomètres. Chez *Lolium rigidum*, une dispersion de la résistance *via* des flux de pollen à longue distance (jusqu'à 3 km) a également été observée en Australie (Busi *et al.*, 2008).

L'effet de la composition du paysage agricole sur l'expansion de la résistance aux herbicides n'a pratiquement jamais été considéré. Dans le cas de *Conyza canadensis*, Dauer *et al.* (2009) ont utilisé des simulations basées sur un parcellaire réel localisé en Pennsylvanie (USA). Leurs résultats montrent que la dispersion de la résistance est plus efficacement ralentie par la diminution à l'échelle du paysage de l'usage du glyphosate (*via* la diminution de la proportion des variétés de soja GM TH relativement aux variétés conventionnelles) que par la diversification des cultures (introduction d'une culture conventionnelle défavorable : luzerne). C'est donc la proportion à l'échelle d'un paysage des parcelles traitées par l'herbicide, qui sont des habitats favorables pour l'adventice résistante, qui déterminerait le plus fortement sa vitesse d'expansion.

#### 3.2.3.5. Méthodes de gestion pour prévenir ou retarder l'apparition et la diffusion des résistances

##### 3.2.3.5.1. Méthodes de gestion des résistances basées sur des stratégies d'emploi des herbicides

L'usage répété au cours du temps d'une même substance herbicide augmente le risque de sélection de résistance. Les modes d'action à haut risque d'apparition de résistance (particulièrement les inhibiteurs de l'ALS et les inhibiteurs de l'ACCCase) ne devraient pas être utilisés consécutivement sur plusieurs années, ni sur des infestations adventices à très forte densité afin de limiter la pression exercée (Beckie, 2006). L'emploi des herbicides peut être raisonné pour prévenir ou gérer la résistance selon trois stratégies de diversification des modes d'action (Beckie, 2006), qui correspondent à des échelles de temps croissantes :

- par l'application en une seule fois de plusieurs modes d'action associés en mélange ;
- selon une séquence, ou programme, qui définit l'application de différents modes d'action successivement sur une même culture, à l'échelle d'une saison culturale ;
- selon une rotation, qui définit l'application de différents modes d'action à l'échelle de la succession des cultures sur une même parcelle.

Dans le cas des résistances de cibles, la probabilité d'apparition d'un individu résistant d'emblée à plusieurs modes d'action est égale au produit des taux de mutation conférant la résistance à chacun de ces modes d'action : elle est donc très faible. Par contre, il peut y avoir accumulation au fil des générations de différentes mutations chez un même individu. Pour cette raison, la succession dans le temps des modes d'action est en théorie moins efficace que leur utilisation simultanée en mélange. Des études théoriques (Gressel et Segel, 1990; Powles *et al.*, 1996; Diggle *et al.*, 2003) et des expérimentations (Beckie et Reboud, 2009) ont montré en

effet que l'utilisation en mélange de deux modes d'actions permet de retarder efficacement l'évolution de la résistance de cible, tandis que la rotation est moins efficace ou entraîne l'évolution de double résistance. Les rotations ou les mélanges d'herbicides ont une meilleure efficacité pour retarder l'évolution de la résistance lorsque le mécanisme est une résistance de cible monogénique et que les espèces adventices cibles sont autogames avec une dispersion limitée (Beckie, 2006). En effet, l'allogamie (fécondation croisée) et la dispersion des semences et du pollen favorisent les croisements entre différentes plantes résistantes et donc l'accumulation de mutations conférant la résistance à différents modes d'action.

Pour être efficace en prévention de la résistance de cible, la stratégie du mélange doit associer des modes d'action ayant des efficacités et des rémanences similaires. Si ce n'est pas le cas, il y a risque d'évolution de résistance au mode d'action qui exerce la plus forte pression, c'est-à-dire le plus efficace ou le plus rémanent (Beckie, 2006). Les meilleurs mélanges sont ceux pour lesquels il y a effet synergique des composants. Ceci a également un impact sur la quantité d'herbicides utilisés mesuré par l'IFT : les mélanges peuvent être utilisés à plus faible dose seulement s'il y a synergie entre les modes d'action. Dans les autres cas, un mélange de 2 modes d'action conduit à doubler l'IFT.

La stratégie du mélange est efficace en prévention, lorsque la résistance n'est apparue pour aucun des constituants du mélange. Selon une étude de modélisation (Jacquemin et al., 2009), cette stratégie de mélange a par contre peu de chances d'être efficace en gestion, c'est-à-dire lorsque la résistance à l'un des constituants préexiste. Cette stratégie est pourtant celle privilégiée par les agriculteurs confrontés à une résistance, car ils souhaitent continuer à utiliser une molécule qui reste très efficace sur les espèces sensibles présentes sur la parcelle. Or l'ajout d'un deuxième mode d'action pour contrôler l'espèce résistante et stopper son extension ne serait efficace que dans les conditions suivantes (Jacquemin et al., 2009) : un coût important de la résistance, une absence de résistance croisée et même une résistance croisée négative (l'espèce résistante à l'herbicide A est rendue plus sensible à l'herbicide B), une forte efficacité (forte dose) du deuxième herbicide. Ces conditions semblent rarement réalisées (Jacquemin et al., 2009).

Une stratégie de gestion s'appuyant sur la diversification des modes d'action non seulement dans le temps, mais également dans l'espace a récemment été proposée (Roux et al., 2008) : elle serait plus efficace que la seule rotation dans le temps, selon des simulations. Elle nécessite de traiter avec des modes d'action différents selon un zonage en grille au sein des parcelles et est donc difficile à mettre en œuvre.

La résistance par métabolisation de type détoxification par les cytochromes P450 présente des difficultés de prévention et gestion plus importantes que les résistances de cible, car elle confère des résistances croisées à différents modes d'action. C'est typiquement le cas des modes d'actions A (inhibiteurs de l'ACCase), B (inhibiteurs de l'ALS) et C2 (urées), chez les graminées surtout. Ce type de résistance réduit considérablement l'efficacité des stratégies de mélange, séquence et rotation (Beckie, 2006). De plus, le profil de ces résistances croisées, c'est-à-dire le statut de résistance ou sensibilité conféré vis-à-vis d'une gamme large de molécules, est difficilement prévisible (Preston, 2004), et peut varier d'une population à l'autre (Petit et al., 2010). L'identification des molécules qui peuvent être associées en mélange, programme ou rotation pour prévenir la résistance par métabolisation nécessite donc d'effectuer de nombreux tests biologiques consistant à traiter expérimentalement des plantules avec des doses contrôlées d'herbicide et à noter leur survie. Ces tests sont lourds et délicats à interpréter, car les résistances de détoxification sont souvent assez longues à se mettre en place et peuvent consister en une reprise de la croissance des plantes tardivement après l'application de l'herbicide (Gasquez et al., 2010).

Les stratégies décrites ci-dessus supposent une bonne connaissance par l'agriculteur de l'appartenance des produits herbicides à différents modes d'action. Au Canada et en Australie, il a été constaté un impact important et positif de l'étiquetage des produits herbicides (mention du mode d'action) sur l'adoption de stratégies de rotation par les agriculteurs (Beckie, 2006).

#### **3.2.3.5.2 Stratégies d'emploi des herbicides pour prévenir et gérer la résistance dans le cadre de la culture des VTH**

Les stratégies décrites dans la section précédente sont valables de façon générale, aussi bien pour les cultures conventionnelles que les cultures TH. Cependant, du fait du risque accru d'utilisation répétée d'un même mode d'action en cas d'adoption d'une culture TH, plusieurs études se sont focalisées sur ce cas particulier. La plupart concerne la prévention de la résistance au glyphosate dans les systèmes intégrant des variétés GM ; quelques

études plus récentes envisagent les méthodes de prévention/gestion à associer à la culture de variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS.

#### *Prévention de la résistance au glyphosate*

La prévention de la résistance au glyphosate passe essentiellement par le maintien de faibles densités de populations adventices, ce qui peut suffire à empêcher l'apparition ou à éliminer les gènes de résistance étant donné leur faible taux de mutation (Neve, et al., 2009 ; Neve 2008). Une application tardive du glyphosate est plus efficace en termes de réduction de densité, car elle permet de détruire l'ensemble des cohortes de levée. Mais elle représente également le risque d'évolution de résistance le plus élevé, en soumettant un plus grand nombre de plantes à la sélection. Ceci a été démontré par simulation dans le cas du ray-grass (Neve et al., 2003) et de l'amaranthe (Neve et al., 2011). On peut penser que ces conclusions s'appliquent de façon générale aux herbicides de post-levée. Le maintien de faibles densités d'adventices doit donc être obtenu par des méthodes alternatives à l'herbicide de post-levée.

Des simulations ont permis de comparer l'efficacité de différentes techniques de gestion de la résistance au glyphosate basées sur l'introduction de méthodes de lutte alternatives (Neve et al., 2003; Neve, 2008; Neve et al., 2011). La rotation avec une culture conventionnelle et l'utilisation d'un autre mode action une année sur deux semble moyennement efficace, car elle ne fait que ralentir l'évolution de la résistance. La stratégie "double knock-down" consiste à introduire un travail du sol au moment du semis ou à utiliser un 2<sup>e</sup> mode d'action en séquence avant ou après le glyphosate. Cette stratégie est efficace à condition que l'efficacité du 2<sup>e</sup> mode d'action soit forte (> 95% ; Neve, 2008), ou s'il s'agit d'un herbicide à très forte rémanence dans le sol et appliqué dès le semis de la culture (Neve et al., 2011).

#### *Prévention de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS*

La firme BASF diffuse un ensemble de préconisations pour la prévention de la résistance dans les systèmes utilisant des variétés Clearfield® (Tan et al., 2005). Ces préconisations se basent essentiellement sur la rotation : il est recommandé de ne pas cultiver de variété Clearfield® plus de deux années sur quatre sur une même parcelle, et de pratiquer une rotation des modes d'action herbicide.

En France, le Cetiom diffuse également des recommandations d'usage des herbicides pour prévenir la résistance dans les cultures de colza Clearfield® et de tournesol Clearfield® et Express Sun®. La rotation des modes d'action herbicides est préconisée et passe par un raisonnement du désherbage en céréales, les cultures le plus souvent associées en rotation avec le tournesol et le colza (voir section 3.2.3.3). La mise en oeuvre de programmes herbicides d'automne sur céréales (groupes HRAC C2, K1, K2, K3 et N) est fortement recommandée pour gérer et prévenir la résistance des graminées aux inhibiteurs de l'ALS lorsque l'on augmente la pression de sélection dans la rotation avec l'imazamox (Duroueix et al., 2010). Ces recommandations s'appuient également sur une stratégie de programme, qui consiste à maintenir un traitement complémentaire de pré-semis ou pré-levée à base d'herbicides classiquement utilisés sur les variétés conventionnelles (Duroueix et al., 2010).

On constate que ces recommandations, contrairement au cas des variétés tolérantes au glyphosate, se basent sur une analyse de la situation agronomique et sur les préconisations générales en gestion de la résistance, et non sur des résultats d'études spécifiques, que ce soient des simulations ou des expérimentations : de telles études considérant spécifiquement le contexte de la culture de variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS n'existent pas actuellement dans la littérature.

Les méthodes de prévention-gestion des résistances basées sur la diversification de l'usage des modes d'action herbicide ont potentiellement un impact sur l'usage des herbicides mesuré par l'IFT. Cet aspect n'est cependant pas considéré par les études citées précédemment. La culture d'une VTH avec usage unique de l'herbicide associé en une seule application permet de limiter l'IFT à 1. Or, dans le cas des variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS introduites en rotation avec des céréales, cet usage est celui qui maximise le risque de résistance. L'utilisation recommandée d'un deuxième mode d'action en séquence dans la VTH va donc tendre à ré-augmenter l'IFT vers une valeur plus proche de la valeur actuelle en variété conventionnelle (l'IFT de référence

2008 pour la France entière est de 1,94 pour le colza et 1,75 pour le tournesol<sup>11</sup>. La recommandation d'introduction ou de maintien d'un programme de désherbage d'automne dans la céréale qui suit ou précède la VTH va également dans le sens d'une augmentation de l'IFT à l'échelle de la rotation. En effet, actuellement, de nombreux agriculteurs ne font qu'une seule application d'herbicide en blé (Gasquez *et al.*, 2008), ce qui permet de limiter l'IFT à 1,64 en moyenne (référence 2008 pour la France entière).

### 3.2.3.5.3 Introduction de VTH multi-résistantes et prévention des résistances

Suite à l'extension importante de la résistance au glyphosate en lien avec la culture de variétés transgéniques tolérantes, la stratégie des firmes qui commercialisent ces variétés consiste à développer de nouvelles variétés tolérantes à deux herbicides ou plus (Green et Owen, 2010; Green, 2009; Green *et al.*, 2008; Green, 2007; Wright *et al.*, 2010a, 2010b). Ces nouvelles variétés faciliteraient l'adoption par les agriculteurs d'une stratégie de prévention basée sur le mélange des modes d'action (Green, 2009). Pour une bonne prévention des résistances, les composants du mélange doivent être efficaces sur l'ensemble de la flore présente (Green, 2009) ; les variétés en cours de développement sont donc bi-résistantes à des herbicides à large spectre, appartenant aux groupes HRAC B, G, H, O et F2 (Tableau 3-29).

**Tableau 3-29** : Principales VTH en cours de développement qui cumulent la résistance au glyphosate avec une résistance à un deuxième mode d'action (d'après Green, 2009 et Green et Owen, 2010).

| Herbicides                        | Groupes HRAC | Culture    | Firme             |
|-----------------------------------|--------------|------------|-------------------|
| Glyphosate + Glufosinate          | G + H        | maïs       | Monsanto          |
| Glyphosate + Sulfonyle-urée       | G + B        | soja, maïs | Pioneer Hi-Bred   |
| Glyphosate + Imidazolinone        | G + B        | maïs       | BASF              |
| Glyphosate + inhibiteur de l'HPPD | G + F2       | soja       | Bayer CropScience |
| Glyphosate + Dicamba              | G + O        | soja       | Monsanto          |
| Glyphosate + 2, 4 D               | G + O        | maïs, soja | Dow Agrosciences  |

Pour tous les herbicides listés dans le tableau 3-29, il existe au moins une espèce dans le monde ayant développé une résistance. Les herbicides pour lesquels la résistance est la plus limitée (de 1 à 3 espèces répertoriées) sont le glufosinate, les inhibiteurs de l'HPPD et le dicamba. Cette constatation suscite des interrogations sur l'intérêt de ces nouvelles VTH pour prévenir la résistance, ce qui est le principal avantage mis en avant par les firmes. Ainsi, selon Egan (2011), l'adoption de ces nouvelles VTH va augmenter l'usage d'herbicides jusque-là peu utilisés tels que le 2,4D, et cette augmentation de la pression de sélection ne peut que favoriser une résistance dont on connaît par ailleurs déjà l'existence (16 espèces concernées actuellement pour le 2,4D).

### 3.2.3.5.4 Méthodes de prévention et gestion non chimiques

La rotation des types de cultures (cultures monocotylédones et dicotylédones, d'hiver et de printemps/été...) permet de diminuer les densités de populations adventices et donc de lutter contre la résistance à condition d'être accompagnée par une rotation des modes d'action herbicides. Ainsi, le maintien ou l'introduction de cultures de printemps est à privilégier dans les rotations céréales-colza. Cette mesure agronomique permet une rupture de cycle des graminées ou dicotylédones et favorise l'épuisement du stock semencier (Duroueix *et al.*, 2010).

Les méthodes de lutte mécanique contre les adventices (travail du sol) sont souvent aussi un moyen efficace pour limiter les populations. Le labour est particulièrement efficace sur graminées, par exemple sur le vulpin (*Alopecurus myosuroides*) (Chauvel *et al.*, 2001). *A contrario*, le non-labour ou le travail du sol simplifié peut accélérer l'évolution de la résistance. En effet, il annule un possible effet tampon du stock semencier du sol *via* la remontée en surface des semences sensibles produites les années antérieures (Beckie, 2006).

<sup>11</sup> Ministère de l'Agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire <http://agriculture.gouv.fr/les-produits-phytosanitaires>

Le binage est une méthode de désherbage mécanique intéressante en tournesol et aussi en colza, où il vient compléter l'action des herbicides (Lieven et Duroueix, 2010). Enfin, la pratique du faux semis accompagnée d'un semis retardé du tournesol est une pratique de lutte efficace contre les dicotylédones et particulièrement l'ambrosie (Duroueix et al., 2010). Considérée individuellement, chaque pratique non chimique a une efficacité bien moindre qu'une application d'herbicide : ainsi, pour le vulpin, des simulations ont montré que le binage ou le passage de herse n'éliminent au mieux que 70% des plantules (Colbach et al., 2010). Cependant des expérimentations montrent que l'association du désherbage mécanique avec d'autres pratiques, diversification des rotations, faux semis et semis tardif, permet d'obtenir une efficacité proche de celle des pratiques basées sur les herbicides (Chikowo et al., 2009).

La combinaison de plusieurs pratiques agronomiques à effet partiel peut donc limiter efficacement la taille des populations adventices, ce qui diminue le risque d'apparition de résistance aux herbicides. Or l'introduction de VTH dans une rotation pourrait plutôt avoir pour conséquence un moindre recours aux méthodes non chimiques, voire une simplification ou un abandon du désherbage mécanique (voir sections 3.1.3 et 3.1.4).

### 3.2.3.6. Conclusions

L'introduction de variétés tolérantes au glyphosate ou au glufosinate représenterait un changement radical par rapport aux pratiques d'usage des herbicides en grande cultures en France. La résistance à ces herbicides est lente à évoluer, et le fait seulement dans des conditions d'emploi unique et répété. Les variétés tolérantes au glyphosate/glufosinate représenteraient un risque important d'évolution de résistance chez les adventices si elles étaient adoptées de façon généralisée à l'échelle des rotations.

L'introduction de variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS ne représente pas un changement majeur d'usage des herbicides puisque les inhibiteurs de l'ALS sont déjà très largement utilisés en grandes cultures en France. La résistance à ce mode d'action est d'ores et déjà présente et atteint pour un petit nombre d'espèces (principalement vulpin et ray-grass, ainsi que coquelicot) un niveau préoccupant.

L'introduction de variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS entrainera potentiellement un usage accru de ce mode d'action. Les risques sont donc : 1) de contribuer à l'extension de la résistance chez les espèces où elle a déjà évolué ; 2) d'augmenter la pression de sélection sur les espèces déjà ciblées par ce mode d'action mais qui n'ont pas encore développé de résistance ; et 3) du fait de l'élargissement de l'usage à de nouvelles cultures, d'étendre la pression de sélection à de nouvelles espèces cibles (espèces de la flore du colza et du tournesol).

L'usage des inhibiteurs d'ALS en rotation ou en association avec d'autres modes d'action peut ralentir l'évolution de la résistance mais ne semble pas une garantie suffisante à long terme, puisque des résistances multiples sont également connues. La gamme de modes d'action alternatifs pour la gestion/prévention de la résistance est importante pour les adventices dicotylédones, mais plus réduite pour les graminées. Une réglementation de la fréquence d'usage des modes d'action au cours des rotations pourrait être un outil de prévention. La gestion pouvant nécessiter des choix complexes vis-à-vis des molécules utilisables (surtout pour prévenir la résistance par métabolisation), elle nécessite une bonne information des agriculteurs, accompagnée d'un étiquetage adéquat sur les emballages des produits. Plusieurs études soulignent l'intérêt des pratiques de lutte agronomique complémentaires non basées sur l'emploi d'herbicides (faux-semis en interculture, binage dans le tournesol : Duroueix et al., 2010). Une étude récente suggère également qu'une gestion concertée, associant les différents agriculteurs à l'échelle du parcellaire agricole, serait à même de renforcer l'efficacité des méthodes de prévention et gestion actuellement appliquées à l'échelle de la parcelle (Délye et al., 2010b).

Deux lacunes principales apparaissent dans les connaissances actuelles. D'une part, il n'existe pas d'état des lieux de la résistance aux herbicides à l'échelle du territoire français, ce qui ne permet pas de préciser à l'heure actuelle son étendue et sa répartition géographique. D'autre part, il existe un défaut important de connaissances sur les mécanismes de résistance non liés à la cible et sur les modes d'évolution des résistances multiples. Ce manque de connaissances est un frein à la fois à un diagnostic plus précis des cas de résistances (connaissance des profils de sensibilité aux molécules alternatives) et à l'élaboration d'une gestion proactive.

## 3.3. Effets de l'utilisation des VTH sur la biodiversité non cultivée

### 3.3.1. Toxicité des VTH et des herbicides associés pour la biodiversité

Jane Lecomte

Il s'agit d'envisager dans cette partie les effets des VTH *via* une toxicité directe des herbicides sur la flore, la faune et les microorganismes du sol. Le corpus bibliographique de départ comprenait 128 articles sélectionnés *via* la requête des documentalistes de l'ESCO, mais aussi des articles rajoutés au corpus proposé au fur et à mesure de l'avancée de l'expertise : 87 articles de ce corpus ont été retenus.

#### 3.3.1.1. Eléments de contexte et limites de l'analyse bibliographique

##### 3.3.1.1.1. Remarque liminaire

Un des objectifs du Grenelle de l'Environnement s'est traduit par des engagements d'évolution vers une agriculture durable qui (i) réduirait les intrants (Plan ECOPHYTO 2018), *via*, par exemple, la promotion de variétés végétales qui manifestent une faible dépendance vis-à-vis de ces intrants, (ii) développerait l'agriculture biologique et (iii) maintiendrait et restaurerait la biodiversité dans les agroécosystèmes.

Concernant le premier point, il apparaît *a priori* que l'utilisation des VTH en agriculture ne s'inscrit pas dans les objectifs du Grenelle qui est de promouvoir des variétés végétales qui manifestent une *faible dépendance aux intrants*, sauf à supposer une moindre utilisation d'intrants *via* ces VTH ou l'emploi d'herbicides qui auraient un impact moindre que les herbicides communément utilisés notamment *via* leur période d'application.

Une agriculture qui maintienne et restaure la biodiversité dans les agroécosystèmes s'appuierait sur "*une meilleure utilisation des fonctionnalités écologiques des milieux cultivés de manière à assurer un fonctionnement écologiquement durable des écosystèmes productifs et à renouveler en permanence les ressources naturelles*" (Chevassus-au-Louis & Griffon, 2008). Cette meilleure utilisation des fonctionnalités écologiques dans les agroécosystèmes basée sur la présence d'espèces animales et végétales rendant un service écologique nécessite *a minima* la mise en place de pratiques culturales qui ont le moins d'effets préjudiciables possibles sur la biodiversité des milieux cultivés, mais aussi la biodiversité hors des champs cultivés qui est en interaction avec elle.

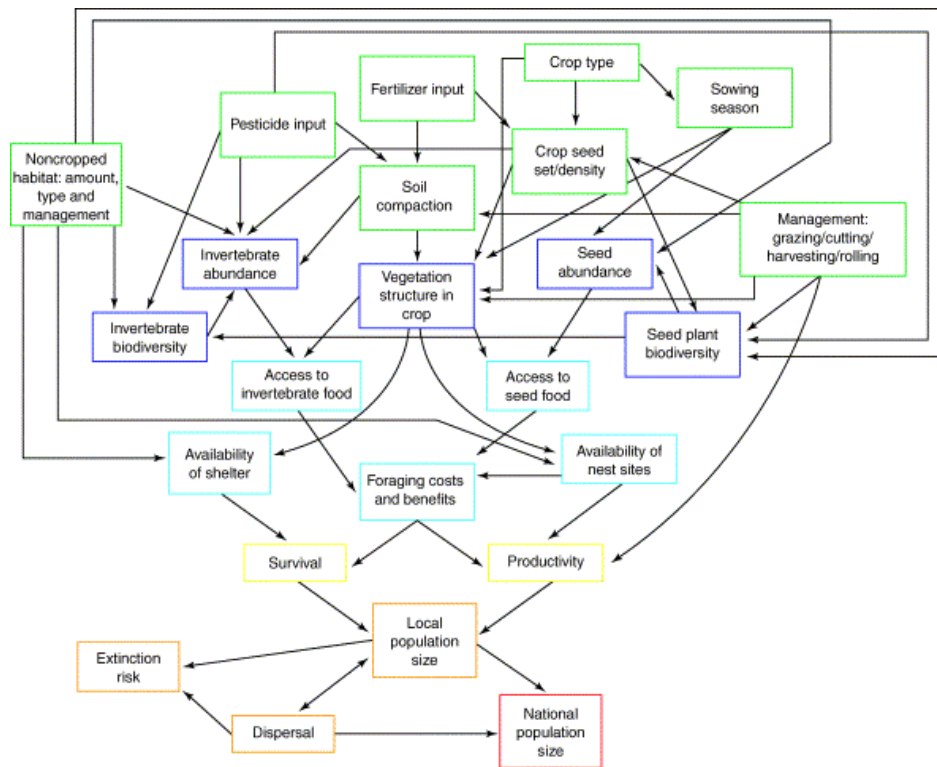
D'une manière générale, nous sommes actuellement confrontés au défi qui est de gérer les compromis entre les besoins humains immédiats et de maintenir la capacité de la biosphère à fournir, *via* la biodiversité, des biens et services à long terme (Foley et al., 2005). L'utilisation des VTH en agriculture s'inscrit implicitement dans la continuité d'une agriculture intensive et non pas dans une logique d'utilisation d'une agriculture qui tirerait parti des services écologiques apportés par la biodiversité non cultivée.

##### 3.3.1.1.2. Une évaluation difficile

Evaluer les effets d'une pratique culturale sur la biodiversité, en l'occurrence l'introduction de VTH dans le paysage agricole, est un défi scientifique car il s'agit de démêler les effets de cette introduction d'autres effets qui peuvent agir sur la biodiversité. La nature multidimensionnelle et l'interaction des pratiques agricoles sont illustrées dans la Figure 3-8 (Benton et al., 2003). Y sont mentionnées quelques-unes des voies par lesquelles les pratiques agricoles ont des effets directs et indirects sur les populations d'oiseaux. Les études à grande échelle qui utilisent des modèles statistiques adéquats pour évaluer les contributions relatives des différents effets sont encore rares (voir Geiger et al., 2010, pour un exemple récent de tentative).



Figure 3-8. Interaction entre pratiques agricoles et oiseaux



TRENDS in Ecology & Evolution

Les flèches indiquent les voies connues par lesquelles les pratiques agricoles (cases vertes), indirectement (boîtes bleu foncé) ou directement (boîtes bleu clair), ont des effets sur la démographie d'oiseaux des champs (cases jaunes), et donc la dynamique des populations locales (boîtes orange) et enfin la population totale (boîte rouge). (Benton et al., 2003)

S'il est question dans cette expertise d'identifier les impacts potentiels sur la biodiversité de la mise en culture de VTH, il semble nécessaire de rappeler le contexte général des effets de l'agriculture sur la biodiversité et leur hiérarchie. Les premières causes d'érosion de la biodiversité identifiées à l'échelle mondiale sont la destruction et la fragmentation des habitats naturels (Groom et al., 2006). Les terres agricoles couvrant des surfaces considérables, la biodiversité agricole se trouve donc aujourd'hui l'une des plus fortement menacées (Aebischer, 1991; Pimentel et al., 1992). Ainsi, l'intensification de l'agriculture est une cause importante des baisses de biodiversité (Hails, 2002; Green et al., 2005; Benton et al., 2003). Dans les pays européens, on assiste ainsi à un déclin des oiseaux des milieux agricoles, qui les rend de surcroît plus vulnérables aux autres facteurs d'extinction, notamment les changements globaux et la pollution (Donald et al., 2001).

Les causes des menaces sur la biodiversité sont multiples (Stoate et al., 2009) et sont identifiées à l'échelle du paysage et de la parcelle cultivée. A l'échelle du paysage, la perte d'habitats consécutive à l'intensification agricole se fait au détriment des espèces spécialistes qui sont souvent les plus touchées (par exemple, Filippi-Codaccioni et al., 2010). En effet, les espèces spécialistes ont des niches plus petites et sont plus affectées par une réduction de cette niche, le corollaire étant que les espèces généralistes devraient être des espèces plus résilientes aux perturbations de l'environnement (Siriwardena et al., 1998; Butler et al., 2007). C'est aussi le cas des espèces vivant dans les habitats naturels et semi-naturels, habitats qui servent aussi de refuge pour les espèces agricoles (Devictor et al., 2007).

Les habitats restants étant souvent fragmentés, il en résulte un isolement reproducteur entre les populations d'espèces vivant dans les agroécosystèmes, de par les phénomènes d'isolement géographique et la perte de connectivité. Ainsi, les surfaces restreintes des habitats abritent des populations de taille réduite, soumises à de plus forts effets stochastiques du point de vue démographique comme génétique et donc susceptibles de conduire à des extinctions locales (Shaffer, 1981; Ewers & Didham, 2006). A l'intérieur des parcelles cultivées, le labour profond (Kladviko, 2001; Cunningham et al., 2004; Holland, 2004) et l'usage de pesticides au sens large dont l'effet peut être direct (Frampton & Dorne, 2007; Brittain et al., 2010) ou indirect *via* les chaînes alimentaires (Boatman et al., 2004) sont des pratiques principalement mentionnés comme néfastes à la biodiversité.

L'expertise doit ici considérer les impacts directs (écotoxicologie) des herbicides et les impacts indirects *via* les chaînes alimentaires des seules VTH. Or les effets consécutifs à l'introduction des VTH varient selon l'herbicide utilisé mais aussi les pratiques culturales associées (par exemple, abandon du labour et du travail du sol) et leurs interactions. Par ailleurs, il est difficile dans les études d'établir une relation de causalité entre l'introduction des VTH à différentes échelles et les changements de biodiversité compte tenu de l'association de la mise en culture des VTH avec des changements de pratiques agricoles.

Les effets sur la biodiversité varient aussi suivant les échelles d'espace et de temps considérées : l'agriculture exerce une influence sur la biodiversité par l'intermédiaire d'un réseau complexe de mécanismes qui agissent à l'échelle locale de la parcelle et aux échelles plus larges du paysage ou de la région, ceci sur des échelles de temps court et de temps long *via* les processus d'adaptation voire de spéciation.

Concernant les échelles spatiales, une étude a été récemment publiée sur les effets de l'utilisation des terres à différentes échelles spatiales sur la biodiversité des agroécosystèmes (Gabriel *et al.*, 2010). L'étude montre que les composantes de la biodiversité à l'échelle de l'exploitation et du paysage dépendent des pratiques agricoles (agriculture biologique *versus* conventionnelle) et qu'il existe des interactions fortes avec des variables intervenant à une échelle fine mais aussi beaucoup moins fine. En effet, le champ, à lui seul, ne fournit pas les ressources nécessaires pour permettre la viabilité des populations, spécialement pour les espèces qui nécessitent des ressources multiples au cours de leur cycle de vie ou celles qui ont des larges aires de répartition. Gabriel *et al.* (2010) ont réalisé une étude comparant agricultures biologique et conventionnelle à différents niveaux hiérarchiques : la localisation dans la parcelle (bordure ou centre), la parcelle, l'exploitation, le paysage et la région. Ils ont étudié les effets des pratiques agricoles sur des taxons peu mobiles comme les vers de terre, les arthropodes épigés et les plantes, et sur des taxons mobiles comme les pollinisateurs (syrphes, abeilles, bourdons, papillons) et les oiseaux. Ils ont montré qu'il était essentiel de réaliser les études à différentes échelles spatiales car les réponses diffèrent fortement entre taxons selon l'échelle spatiale considérée, les réponses pour certains taxons pouvant aussi exister à plusieurs échelles spatiales. Ils ont de plus observé des effets à une échelle très fine, la localisation dans la parcelle (centre ou bordure) pour les arthropodes épigés et les papillons : des effets de la gestion de la parcelle et du paysage pour les plantes et les papillons ; et un effet des interactions entre les variables du paysage et la région pour les oiseaux et les abeilles solitaires.

Concernant les échelles temporelles, un effet bénéfique pour la biodiversité à une échelle de temps réduite peut être négative à long terme ou inversement (voir par exemple, Freckleton *et al.*, 2004). Ces extrapolations pour prédire l'évolution de la biodiversité au-delà d'une seule saison nécessitent d'employer des démarches de modélisation (Hails, 2005). Si peu d'études envisagent les conséquences fonctionnelles de ces changements à court terme, les études qui envisagent les conséquences à long terme de ces changements sur les communautés biotiques sont encore plus rares. Les atteintes sur une seule espèce pourraient en effet être potentiellement dommageables pour d'autres espèces et appréhendables seulement sur le long terme. Chaque espèce constituant une partie de l'environnement des autres espèces, et ce de manière d'autant plus prégnante que l'espèce considérée est abondante dans l'agroécosystème, cette espèce peut être considérée comme faisant partie intégrante de la niche écologique de ces espèces et être nécessaire à leur installation ou à leur maintien. Ce raisonnement peut de la même manière s'appliquer aux relations entre groupes fonctionnels constitués d'espèces dites redondantes (même fonction dans l'écosystème, cas de la pollinisation par exemple).

La difficulté de cette analyse est aussi liée à la définition du référentiel, qui devrait, dans le meilleur des cas, envisager les différentes options de systèmes agricoles (les différents types d'agriculture dite conventionnelle incluant le labour superficiel, l'agriculture biologique...), ce qui n'est pas toujours le cas dans les publications.

Une autre difficulté pour évaluer l'effet de la toxicité des herbicides sur la biodiversité est qu'elle diffère selon les types d'herbicides utilisés (formulation, sélectif, non sélectif). Par ailleurs, beaucoup de tests d'écotoxicologie ne sont généralement pas publiés ; et leur méthodologie est trop artificielle et leurs résultats sont trop catégoriques (Schutte, 2003).

### 3.3.1.1.3. Les approches pour estimer l'effet des herbicides *in situ* dans la littérature

En plus des conditions de contexte, les composantes de la biodiversité qu'il est possible de considérer sont nombreuses et conduisent souvent au fait que les études scientifiques consacrées aux effets des pratiques agricoles sur la biodiversité *sensu lato* soient souvent difficilement comparables. Ainsi, comme mentionné dans le rapport de l'ESCo "Agriculture et biodiversité", "*l'ensemble de la biodiversité selon sa déclinaison taxonomique*

(diversité génétique, diversité spécifique – en terme de richesse mais aussi de composition et d'abondance -, diversité écosystémique) et sa déclinaison fonctionnelle (caractéristiques des traits fonctionnels voire étude de biomasse) est rarement étudiée dans sa globalité dans les études qui visent à étudier les effets d'une pratique agricole sur la biodiversité." Des articles de revue suggèrent des effets différents selon les études, particulièrement quand celles-ci comparent des abondances (Schier, 2006). Dans la plupart des cas, il s'agit d'études portant sur la diversité spécifique, quelquefois la biomasse, et à l'échelle de la parcelle et de sa bordure. Les études sur les effets sur la dynamique des populations sont extrêmement rares, et celles sur les réseaux trophiques quasi inexistantes dans le cas des plantes de grande culture. Aucune étude n'envisage le rôle fonctionnel de la biodiversité et l'impact des herbicides en grande culture. De manière générale, les indices de diversité dans ces études s'ils sont estimés avec un échantillonnage insuffisant peuvent s'avérer peu pertinents pour des études évaluant les impacts d'une pratique culturale sur la biodiversité (Perry et al., 2009). On distingue donc deux approches les plus abordées pour estimer l'effet des herbicides *in situ* dans la littérature : les approches quantitatives et les approches par modélisation.

#### *Les approches quantitatives*

L'évaluation de l'impact des herbicides sur la biodiversité peut se faire en comparant des parcelles de type conventionnelles ayant recours à l'usage de produits phytosanitaires et des parcelles d'agriculture biologique sans pesticides ni engrais chimiques. Bengtsson et al. (2005) et Hole et al. (2005) ont étudié *via* des méta-analyses basées sur une centaine de publications l'effet de l'agriculture biologique *versus* conventionnelle sur le nombre et l'abondance des espèces de plusieurs groupes taxonomiques, les oiseaux, les insectes, les araignées, les organismes du sol (vers-de-terre, microarthropodes, champignons, activité microbienne) et les plantes. Ils ont montré que l'agriculture biologique a un effet positif certain sur la biodiversité globale et sur la richesse en plantes et en insectes prédateurs comme les carabes. Cet effet est moins évident sur la richesse en araignées et la faune du sol. La diversité en oiseaux semble plus associée au type de culture ou au paysage qu'aux types de pratiques. Enfin, les insectes non prédateurs et les ravageurs ne sont pas significativement plus nombreux dans les champs en agriculture biologique que dans les champs conventionnels. L'effet de l'agriculture biologique sur le nombre d'espèces existe à une échelle locale dans un paysage d'agriculture intensive, mais peut ne pas être retrouvé à l'échelle d'un paysage formé d'une mosaïque de zones cultivées et non cultivées. Par ailleurs, ce type d'études comparatives n'aborde que l'aspect quantitatif de la biodiversité et n'explore pas l'influence de ces modes de culture sur la composition des communautés et les fonctions des écosystèmes. Il met en évidence la nécessité d'évaluer les pratiques agricoles sur différents groupes d'organismes et à différentes échelles car les réponses sont dépendantes des espèces et des échelles concernées. Il souligne aussi la nécessité de mener des études à grande échelle spatiale et temporelle, notamment *via* des observatoires pour approfondir nos connaissances sur les impacts des pratiques agricoles au sens large sur la biodiversité.

#### *Les approches de modélisation*

Les protocoles expérimentaux qui permettent de séparer les effets des herbicides des pratiques associées sont souvent réalisés sur un temps court. Les modèles sont alors très utiles pour extrapoler les effets sur la biodiversité sur le long terme, et ils peuvent même pour certains inclure la réponse "socio-économique" de l'exploitant aux changements observés.

Les travaux de modélisation de Heard et al. (2005) montrent qu'en cas d'utilisation de variétés de colza et betterave GM TH, les populations d'adventices seraient réduites d'un facteur 0,7-0,8 sur 28 années, ce qui induirait des effets à long terme sur les invertébrés qui ne peuvent pas être détectés sur le temps des expérimentations. Watkinson et al. (2000) montrent, avec un modèle assez simple évaluant les effets de l'introduction des GM TH, que le contrôle des adventices par les GM HT réduira l'effectif des oiseaux qui s'alimentent à partir des graines des adventices des champs, et que cette diminution dépendra de la relation entre la densité d'adventices avant adoption des GM TH et la probabilité d'adoption par l'exploitant.

Quelques solutions peuvent être aussi testées pour évaluer l'impact *via* des résultats issus de modèles. Dewar et al. (2003) suggèrent que, dans le cas de la culture de betterave GM TH, l'application d'herbicides plus tardive dans la saison pourrait permettre aux adventices qui émergent tôt de survivre suffisamment pour servir de ressources aux arthropodes dont se nourrissent certaines espèces d'oiseaux. Cependant, le modèle de Freckleton et al. (2004) (voir aussi Hails, 2005; Whittingham, 2009) démontre que cela ne suffirait pas à augmenter sur le long terme la biodiversité. Il faut en effet que cette application soit interrompue tôt dans la

saison pour permettre le maintien de la biodiversité. En effet, les effets bénéfiques pour les plantes adventices et donc pour les arthropodes et les oiseaux consécutifs à l'utilisation plus tardive d'herbicides dans le cas des GMTH ne seraient pas durable. Dans le cas du chénopode, le flux de graines ne serait pas suffisant pour la viabilité de leurs populations (Freckleton et al. 2004).

De manière générale, les modèles permettent aussi de tester différentes options pour diminuer les impacts négatifs de l'agriculture sur la biodiversité. *Via* les modèles développés par Butler et al. (2007), les sites de nourriture et d'habitats dans les champs, qui apparaissent comme les principaux déterminants de la biodiversité des oiseaux des agroécosystèmes, sont ceux-là mêmes qui sont affectées par l'utilisation des herbicides.

#### 3.3.1.1.4. Limites de l'expertise

De par les sources multiples de l'évolution de la biodiversité, et de par l'aspect parcellaire des études présentes dans la littérature sur la question des effets sur la biodiversité ou de leur difficile comparaison pour les raisons invoquées précédemment, notre capacité à répondre à la question relative aux effets directs de l'adoption des VTH sur la biodiversité est de ce fait à l'heure actuelle relativement limitée. De plus, comme le titre de cette partie le souligne, nous ne nous intéressons pas ici aux effets de l'adoption des VTH sur la biodiversité cultivée qui est cependant une des composantes de la biodiversité des agroécosystèmes. On peut craindre en effet que les VTH, de par leur avantage économique potentiel à court terme (en tout cas avant les problèmes qui seraient liés à la sélection d'adventices résistantes), ne conduisent à une réduction du nombre de variétés semées et à une diminution de la biodiversité cultivée.

Nous traiterons ici les effets de toxicité directe de manière concomitante avec les effets indirects (raréfaction des ressources), car ils sont souvent intimement liés dans les études. Une autre difficulté tient à la place des plantes génétiquement modifiées tolérantes aux herbicides (GM TH) dans l'expertise, compte tenu des caractéristiques propres de ces plantes (associées à des herbicides totaux, possibilité d'empilages de gènes TH, changements de pratiques, gestion spécifique liée à la séparation des filières qui peut modifier l'organisation des pratiques agricoles à l'échelle du territoire) qui sont susceptibles d'induire des impacts spécifiques.

#### 3.3.1.2. Effets sur les plantes adventices

Les herbicides éliminent, par définition, les plantes adventices qui entrent en compétition avec les plantes cultivées. On peut ainsi rappeler ici, *via* un historique, comment les herbicides ont contribué à la diminution de la quantité des adventices dans les champs *via* la diminution de leur banque de graines (Gray, 2004; Kleijn & Snoeiijing, 1997). Ainsi, la densité en graines d'adventice a diminué de 50% en quelques décennies en Grande-Bretagne (Marshall, 2001). Ces effets sur les adventices des champs se font ressentir aussi dans les bordures sur les plantes non-cibles ("*non-target plants*") en termes de nombre d'espèces – particulièrement les messicoles - et en terme de biomasse des plantes (Marshall, 2001). Ceci a des conséquences sur l'ensemble de la faune qui s'alimente sur les végétaux comme nous le verrons plus bas.

Des travaux ont été réalisés en Grande-Bretagne (*UK Farm Scale Evaluation* - FSE ; Encadré 3-2) pour mesurer les impacts directs et indirects de l'utilisation de variétés GM tolérantes à des herbicides non sélectifs (glyphosate, glufosinate) sur les communautés de mauvaises herbes des parcelles cultivées et des bordures, et les conséquences sur les organismes utilisant la flore adventice comme ressource trophique (Heard et al., 2006; Heard et al., 2003; Andow & Zwahlen, 2006). Ces travaux ont bénéficié d'un protocole expérimental robuste (Perry et al., 2003; Ormerod et al., 2003). Dans ces études, ce sont plus les types d'herbicides employés que le type de plante GM qui expliquent les résultats, cependant il est très difficile de tirer des conclusions des études sur ce qui est lié directement aux VTH, car les VTH sont associées à une simplification du travail du sol (réduction ou abandon du labour). Cela dit, la simplification du travail du sol s'accompagnant d'une augmentation, tant en termes de densité que de nombre d'espèces de plantes (augmentation des pérennes et des graminées à semences petites et/ou à persistance limitée), tandis que l'effet de l'herbicide non sélectif associé à la VTH conduisant à l'inverse, on peut présumer qu'une diminution de l'abondance et/ou de la diversité des plantes adventices puisse être liée à l'herbicide.

### **Encadré 3-2. Les "Farm Scale Evaluations" (FSE)**

Henri Darmency

*Les FSE sont des expérimentations mises en place pour examiner les effets des VTH sur la biodiversité et la gestion des champs en Grande-Bretagne. Elles ont été motivées par la crainte d'accentuer l'élimination des adventices par un contrôle plus efficace qui réduirait, encore plus que les pratiques actuelles, les chaînes alimentaires pour un grand nombre d'organismes (Squire et al., 2003).*

*Elles comparent l'état de différentes composantes de la biodiversité dans des champs gérés par les agriculteurs moitié avec une variété conventionnelle et son désherbage habituel, moitié avec une VTH (ici une variété transgénique tolérante au glufosinate) désherbée en post-levée selon une procédure déterminée par un comité de pilotage. L'étude a porté sur les betteraves sucrière et fourragère, le maïs ensilage, les colzas d'hiver et de printemps.*

*La mise en place des cultures s'est étalée sur trois ans à partir de 2000, avec deux années de suivi post culture transgénique, sur 60 à 70 sites pour chaque culture, représentatifs des zones de culture du pays et de son climat. Seuls le calendrier de traitement, le nombre de traitements et la nature des herbicides ont été étudiés. Les façons culturales habituelles n'ont pas été modifiées ni analysées du fait des disparités régionales et individuelles, ce qui limite la portée des conclusions vis-à-vis des changements de systèmes de culture privilégiant d'autres techniques telles que le non-labour, d'autres rotations, etc.*

*Les mesures sur la flore comprennent les stocks de semences dans le sol, le nombre d'individus de chaque espèce adventice avant et après traitement et leur biomasse en cours de végétation, et la production de semences dans des quadrats échantillonnés depuis la limite du champ jusqu'à 32 m à l'intérieur, pour les années n (VTH) à n+2. Les bordures ont aussi été prises en compte pour le dénombrement des invertébrés de surface (gastéropodes, carabes, collemboles, araignées) et des insectes ailés (abeilles, papillons). Les observations ont été présentées en termes d'abondance spécifique et de rôle fonctionnel (granivores, pollinisateurs, groupe trophique) en fonction des cultures.*

Dans les études FSE, le type d'herbicide influence fortement la banque de graines du sol (Bohan et al., 2005; Firbank, 2005) et l'utilisation d'un désherbant non sélectif de post-levée sur une culture (colza, soja) se traduit par une diminution de l'abondance et de la diversité du nombre d'espèces présentes dans la parcelle par rapport à un système conventionnel (Heard et al., 2003; Heard et al., 2005). Dans le cas du maïs par exemple, on note une augmentation de la richesse spécifique qui peut s'expliquer par l'efficacité supérieure de la triazine utilisée comme herbicide, bien que cela soit contesté par Perry et al. (2004). Si la réduction du nombre d'espèces ne semble pas être un phénomène général (Beckie et al., 2006), d'autres travaux concordent pour indiquer un impact important de l'utilisation de ces herbicides totaux, avec une modification des communautés adventices (sélection d'espèces germant après le traitement, d'espèces naturellement tolérantes ; Beckie et al., 2006) ou la sélection d'individus devenus résistants au produit utilisé (Cerdeira & Duke, 2006).

Les études séparant l'effet de l'herbicide et le travail du sol (conventionnel ou sans labour), comme par exemple celle de Puricelli & Tiesca (2005), montrent que l'effet de l'application de glyphosate est le facteur le plus important pour expliquer les changements dans les adventices. L'étude de Geiger et al. (2010), menée dans neuf pays (Suède, Estonie, Pologne, Pays-Bas, Allemagne, France, Espagne, et Irlande) à l'échelle des exploitations, a pris en compte huit variables de structure du paysage et 13 composantes de l'intensification agricole, l'emploi d'herbicides étant l'un d'entre eux, dans une analyse visant à démêler leurs différents effets sur la perte de biodiversité. L'étude indique notamment que le nombre de plantes sauvages décline avec la fréquence d'application d'herbicide et d'insecticide et la quantité de substances actives dans les fongicides.

Outre les effets de toxicité directe de l'herbicide associé à la culture et les effets indirects sur les autres communautés, l'utilisation massive d'herbicides de manière répétée et sur de grandes surfaces exerce par ailleurs une forte pression de sélection sur les espèces indésirables (parasites, pathogènes, herbivores ravageurs, mauvaises herbes (Murphy & Lemerle, 2006; Gressel, 2009; Neve et al., 2009), conduisant à l'apparition de plus en plus fréquente de résistances aux herbicides (cf. plus bas) et à des phénomènes d'envahissement ou de propagation rapides de plus en plus difficiles à contrôler (Chauvel et al., 2009). L'acquisition de résistances aux herbicides peut ainsi procurer, en présence de l'herbicide, des avantages sélectifs similaires aux VTH mais nettement moins désirables et ceci pour les mêmes espèces non cultivées, pour les populations d'espèces cultivées poussant hors des champs, dites populations férales, ou aux espèces apparentées (Linder et al., 1998).

### 3.3.1.3. Effets sur les invertébrés terrestres

Les études montrent en général que les herbicides présentent une toxicité directe faible sur les arthropodes (Morris et al., 2005). L'étude de Volkmar et al. (2003) ne met pas en évidence de différences de densités et d'activité entre des champs de betterave traités au glufosinate, traités de manière conventionnelle et un témoin. A l'opposé, une comparaison sur trois années de parcelles de blé d'hiver traités à l'herbicide et non traités ont montré très clairement que les plots non traités avaient une plus grande densité, diversité et un nombre significativement plus important de taxons d'invertébrés, et notamment de ceux qui rentrent dans l'alimentation des oiseaux des milieux agricoles (Moreby & Southway, 1999).

La toxicité de quatre herbicides (atrazine, simazine, paraquat et glyphosate) a été testée sur cinq espèces de carabidés (*Amara sp.*, *Agonum sp.*, *Pterostichus sp.*, *Anisodactylus sp.*, *Harpalus sp.*) au laboratoire, par des expérimentations en serre et par des études de terrain à court terme. Ces espèces sont des biorégulateurs des cultures via la prédation des papillons qui sont nuisibles aux cultures. Seuls des effets du glyphosate et du paraquat sur le comportement des carabidés sont observés. Les grands carabidés ne retournent pas dans les champs traités par ces herbicides 28 jours après l'application, ce qui devrait avoir des conséquences sur le taux de prédation des papillons nuisibles aux cultures (Brust, 1990).

Des effets indirects sont possibles sur les arthropodes phytophages et floricoles (dont les auxiliaires zoophages) via la suppression des ressources dont ils ont besoin (Heard et al., 2006). De même, certaines études mettent en évidence un impact significatif de la gestion des mauvaises herbes sur la population d'invertébrés dans les champs (e.g. Moreby & Southway, 1999).

Les résultats d'une méta-analyse (Frampton & Dorne, 2007) montrent que la réduction ou la cessation de l'usage de pesticides sur les bords de champs augmentent de manière significative les populations d'insectes (carabes, hétéroptères, staphylins, lépidoptères et larves de tenthrèdes).

Dans les études FSE, on note une diminution de certaines espèces d'invertébrés dans les champs de betterave et de colza TH et une augmentation dans les champs de maïs TH par rapport à leurs équivalents conventionnels, ce qui s'explique dans le cas du maïs par l'utilisation de l'atrazine dans la culture du maïs non-TH. Les invertébrés supérieurs qui sont actifs au niveau des graines et la couche de litière sont dans l'ensemble peu affectés par le type de semence cultivée et les herbicides. Cependant, de petites différences ont été observées, avec une diminution des papillons dans les champs de colza TH versus non-TH, et d'abeilles, de papillons et d'hétéroptères dans les champs de betterave TH versus non-TH. Enfin, dans toutes les parties cultivées avec des variétés GM TH, les scientifiques ont observé un nombre accru de collemboles et de leurs prédateurs, ce qui est lié à l'application plus tardive des herbicides dans les cas des VTH qui a permis aux adventices de pousser avant d'être éliminées (Brooks et al., 2003; Hawes et al., 2003). De manière générale, les effets des herbicides sur les collemboles sont souvent indirects. Les résultats dépendent du taxon considéré, de sa sensibilité et de sa place dans le réseau trophique.

Dans les champs où la flore est réduite suite à l'utilisation d'herbicides, on retrouve moins d'herbivores, de pollinisateurs et d'insectes qui s'attaquent aux herbivores. Cependant, dans l'ensemble, les différences sont faibles comparées aux différences observées tout au long d'une année et entre les différents types de semence. De plus, le sens de la différence dépend de l'efficacité de la gestion des mauvaises herbes par l'herbicide. Par ailleurs, les effets de VTH GM sur la biodiversité ont été étudiés dans trois endroits des bordures de champ. Les différences les plus importantes sont observées au niveau de la bordure labourée, beaucoup plus affectée par les herbicides appliqués que les parties les plus éloignées, ceci étant cohérent avec les résultats au niveau des champs. Dans les bordures des champs de colza, on observe une diminution de 24% des papillons qui s'explique par une diminution du nombre de fleurs, alors que peu de différences sont notées pour les abeilles, les limaces et les autres invertébrés.

### 3.3.1.4. Effets sur la faune du sol

Les effets des VTH sur la faune du sol (mésofaune et vers de terre) sont souvent plus indirects que directs, car les herbicides éliminant la flore adventice et la matière organique au sol ont un impact secondaire sur la faune du sol. De manière générale, l'analyse de la littérature montre que les autres pratiques agricoles (labours,

insecticides) ainsi que le contexte pédologique ont plus d'impact négatif sur les réseaux trophiques du sol que les herbicides (Debeljak et al., 2008).

Des études de laboratoire mettent en évidence un effet direct des herbicides sur les vers de terre. Citons le MCPA, 2,4,5 T sur la mésofaune et la simazine et la triazine sur les vers de terre (Neher & Barbercheck, 1999). Muthukaruppan et al. (2005) et Muthukaruppan & Paramasamy (2010) montrent des effets subléthaux du butachlor sur la croissance et la production de cocons du ver *Perionyx sansibaricus* qui sont induits par des perturbations histologiques. Mosleh et al. (2003) montrent un effet de l'isoproturon sur la croissance des lombrics (*Lumbricus terrestris* L.). Des applications d'aziphos-methyl et de glyphosate réduisent la croissance des vers de l'espèce *Aporrectodea caliginosa* et l'aziphos-methyl appliqué à de fortes doses peut les tuer (Springett & Gray, 1992). Les herbicides combinés ont moins d'effets que quand ils sont appliqués seuls et la combinaison des trois herbicides a autant d'effet sur la croissance des vers de cette espèce que le glyphosate seul. Le labour peut éventuellement les protéger des effets néfastes de certains herbicides car il les éloigne de la surface du sol (Krogh et al., 2007).

### 3.3.1.5. Effets sur les vertébrés : micromammifères et oiseaux

Compte tenu de l'emplacement des micromammifères et des oiseaux dans le réseau trophique, les effets observés sont principalement des effets indirects de l'emploi des herbicides associés aux VTH. La façon dont les herbicides conduisent à une diminution des populations d'oiseaux et de micromammifères est souvent associée à une baisse de l'approvisionnement alimentaire qui atteint un niveau tel qu'il influence négativement la survie ou la reproduction des oiseaux. Selon Hart et al. (2006), il y a deux voies possibles pour expliquer cet effet chez les oiseaux : (i) les herbicides éliminent les plantes hôtes des arthropodes qui sont consommés par les oiseaux des terres agricoles; (ii) les herbicides réduisent l'abondance des adventices dont se nourrissent les oiseaux herbivores et les granivores (e.g. Heard et al., 2003; Whittingham, 2009) (Tableau 3-30).

**Tableau 3-30.** L'effet des VTH GM sur les semences d'adventices et les invertébrés importants dans le régime des oiseaux associés aux zones cultivées

| Farm-scale Evaluation trials. |  |  |
|-------------------------------|--|--|
| Crop                          | Differences in the abundance of key invertebrates in the diet of birds <sup>a</sup> between GM and conventional crop varieties   | Differences in the abundance of key weed seeds <sup>b</sup> in the diet of birds between GM and conventional crop varieties <sup>c</sup> |
| Winter-sown oilseed rape      | No significant difference between any group <sup>d</sup>   | Approximately twice as many seeds present on conventional than GM crop variety <sup>e</sup>  |
| Spring-sown oilseed rape      | More spiders on conventional crops later in the year <sup>f</sup> and more bugs on conventional crops. <sup>f</sup> No significant difference for any other group <sup>g</sup> | Approximately three times as many seeds present on conventional than GM crop variety <sup>e</sup>  |
| Sugarbeet                     | No significant difference between any group <sup>g</sup>   | Approximately three times as many seeds present on conventional than GM crop variety <sup>e</sup>  |
| Maize                         | No significant difference between any group <sup>g</sup>   | More seeds present on GM crop variety than conventional crop <sup>e</sup>  |

<sup>a</sup>These include beetles (Carabidae species and Staphylinidae species), bugs (Heteroptera species) and spiders (Araneae species) (Wilson et al., 1999).

<sup>b</sup>Key weed seeds in the diet of birds as defined by Gibbons et al. (2006) and Wilson et al. (1999).

<sup>c</sup>Based on averages across 17 species of farmland birds (Gibbons et al., 2006).

<sup>d</sup>Bohan et al. (2005).

<sup>e</sup>Gibbons et al. (2006).

<sup>f</sup>Haughton et al. (2003).

<sup>g</sup>Brooks et al. (2003).

D'après les FSE en UK, Whittingham, 2009

Ces effets conjoints sur les plantes adventices et les oiseaux, qui sont souvent difficiles à étudier par des études isolées de suivi ou des expérimentations, peuvent être appréhendés via des compilations d'études ou l'analyse de nombreuses données issues d'observatoires. Dans leur article de revue, Benton et al. (2003) montrent notamment que la viabilité des populations d'oiseaux peut être influencé par la diminution du nombre d'insectes liée à l'effet des herbicides sur les plantes adventices.

Par ailleurs, les effets des herbicides sur les populations de vertébrés sont assez délicats à mettre en évidence expérimentalement, car ils n'affectent pas forcément la survie des individus ou leur reproduction mais influencent secondairement d'autres traits d'histoire de vie qui ont un effet négatif sur leur viabilité (temps de recherche de nourriture plus long par exemple). C'est le cas des rongeurs compte tenu de la diminution de leurs sites de nourriture consécutive à l'utilisation d'herbicides. Ainsi, Tew et al. (1992) ont montré une activité plus importante de rongeurs dans des zones non soumises aux herbicides.

### 3.3.1.6. Effets sur les amphibiens

Les populations de plus de 40% des espèces d'amphibiens sont en régression (Stuart et al., 2004) et la cause de leur déclin est clairement multifactorielle. L'accumulation de pesticides (herbicides, insecticides et fongicides) est invoquée comme l'une des causes de ce déclin. Hormis dans le cas de l'atrazine, où des effets subléthaux sur le développement ont été montrés à de faibles concentrations par de nombreuses études (27 études citées par Hayes et al., 2006), peu d'études ont analysé sur d'autres pesticides les effets à de faibles doses et ont considéré les effets des pesticides séparément et en mélange. Au laboratoire, si l'herbicide S-metolachlor n'a pas d'effets sur les amphibiens, son mélange avec l'atrazine induit une défaillance du système immunitaire d'amphibiens les rendant plus susceptibles aux parasites, qui se développent ainsi plus vite (Hayes et al., 2006). De plus, cette étude montre que l'effet délétère de l'atrazine sur la croissance et le développement est amplifié dans le cas du mélange des deux herbicides, et on observe un effet négatif sur la survie par le fait que la métamorphose est retardée.

Des études menées dans des dispositifs expérimentaux placés à l'extérieur (mésocosmes) utilisés classiquement en écotoxicologie montrent que si les insecticides seuls ou combinés ont des effets sur la mortalité des amphibiens, les herbicides ont des effets occasionnels sur certains taxons, mais aucun effet clair de l'addition de plusieurs herbicides n'est démontré sur la métamorphose et la survie des amphibiens. Les effets de divers mélanges de pesticides (insecticides - malathion, carbaryl, chlorpyrifos, diazinon et endosulfan - et herbicides - glyphosate, atrazine, acetochlor, metolachlor et 2,4-D -) sur des amphibiens révèlent que le mélange de l'ensemble des 10 pesticides tue 99% des grenouilles de l'espèce *Rana pipiens* alors que pour l'espèce *Hyla versicolor* on observe seulement une augmentation de sa masse à la métamorphose. Ces effets combinés pourraient donc bouleverser les interactions des espèces au sein des communautés d'amphibiens (Relyea, 2009).

### 3.3.1.7. Effets sur les pollinisateurs

Gérard Arnold

#### 3.3.1.7.1. Eléments de contexte

Avant d'aborder les éventuels effets directs et/ou indirects des plantes TH sur les insectes pollinisateurs, il convient d'évoquer la situation actuelle de ces espèces. Il est maintenant démontré que l'abondance et la diversité des abeilles sauvages et des abeilles domestiques subissent un déclin important et que certaines espèces d'abeilles sauvages présentent un risque élevé de disparition. Or ces insectes jouent un rôle crucial dans la pollinisation des plantes sauvages et cultivées. Dans un article récent, Gallai et al. (2009) réalisent une évaluation économique de la vulnérabilité de l'agriculture mondiale confrontée au déclin des pollinisateurs. Les lignes suivantes sont issues et traduites de leur article : "La production de 84% des espèces de plantes cultivées en Europe dépend directement des insectes pollinisateurs, spécialement des abeilles (Williams, 1994). Par ailleurs, Klein et al. (2007) ont montré que 87 cultures, soit 70% des 124 principales cultures utilisées directement pour la consommation humaine dans le monde, sont dépendantes des pollinisateurs. La pollinisation par les insectes est, à la fois, un service écosystémique et une pratique de production utilisée de manière extensive par les agriculteurs partout dans le monde. C'est un service écosystémique, par le fait que les insectes pollinisateurs,



en particulier les abeilles sauvages, contribuent de manière significative à la pollinisation d'un large éventail de cultures (Kremen et al., 2002; Morandin & Winston, 2005; Greenleaf & Kremen, 2006; Winfree et al., 2007, 2008). Et c'est un outil de gestion en ce que les abeilles domestiques, les bourdons et quelques autres espèces d'abeilles sont achetés ou loués par des agriculteurs de beaucoup de pays pour améliorer la faune locale des pollinisateurs (McGregor, 1976; Olmstead & Wooten, 1987; Robinson et al., 1989; Free, 1993; Dag et al., 2006). Ainsi, le bénéfice économique de la pollinisation par les insectes est clair pour les agriculteurs. Cette pratique suggère qu'il n'y a déjà plus assez de pollinisateurs sauvages pour assurer une pollinisation adéquate de toutes les cultures au cours de l'année dans certains pays."

Compte tenu, à la fois, de l'importance des pollinisateurs et de leur déclin actuel, il semble particulièrement important de porter une attention particulière aux éventuels changements qui pourraient intervenir dans l'environnement et qui pourraient influencer de manière négative sur leur survie. Parmi ces changements figurent, potentiellement, la mise en culture de plantes TH. Ce rapport traite des conséquences éventuelles de la culture de VTH sur la biodiversité de certains invertébrés, avec une focalisation particulière sur les pollinisateurs apidés. Les plantes TH peuvent impacter les pollinisateurs de deux manières : soit directement, *via* la plante elle-même, soit indirectement, si la culture de cette plante affecte la disponibilité de plantes adventices mellifères ou pollinifères, par exemple.

### 3.3.1.7.2. Evaluation des éventuels effets directs des plantes TH sur les pollinisateurs

Les éventuels effets directs des plantes TH sur les insectes pollinisateurs pourraient avoir une double origine : la présence de la protéine dans les produits de la plante qu'ils consomment (le nectar et le pollen), et/ou des modifications secondaires des composés qui attirent les insectes sur ces plantes dues à un effet pléiotropique si le produit du gène interfère avec les voies métaboliques de la plante. La recherche d'éventuels effets directs des plantes TH sur les pollinisateurs peut être envisagée aux trois niveaux d'étude classiques : en laboratoire, en conditions contrôlées (tunnels, serre...) et non contrôlées (plein champ). Dans l'étude bibliographique réalisée ici, il n'a pas été trouvé de publications relatant des expérimentations en laboratoire.

#### *Etudes en conditions contrôlées*

i) L'étude de Châline et al. (2001) se présente sous la forme d'un résumé d'une présentation à deux congrès qui se sont tenus en 1999. Elle a été réalisée sous tunnel, pour tester l'impact d'un colza génétiquement modifié tolérant au glufosinate, par rapport à un colza non transformé. Deux types de tunnels ont été utilisés : des tunnels (n = 4) ne comportant qu'une seule culture, TH (n = 2) ou non-TH (n = 2), et des tunnels comportant les 2 types de culture (n = 4). Dans les tunnels ne comportant qu'une seule culture, l'activité des colonies d'abeilles était mesurée par des compteurs placés devant les ruches (2 colonies sur les colzas TH et 2 colonies sur les colzas non-TH). Dans les tunnels comportant les 2 types de culture, des comptages de butineuses étaient réalisés sur les fleurs. Par ailleurs, du nectar était collecté aux fins d'analyse ultérieure. Selon les auteurs, aucune différence n'a été montrée entre les tunnels TH et les contrôles.

Le fait que peu de résultats détaillés soient fournis dans ce résumé de congrès, ni qu'aucune analyse statistique ne soit présentée, et d'autres arguments mentionnés ci-dessous, conduisent à ne pas prendre en compte les résultats de cette expérimentation. Ainsi, concernant la mesure de l'activité globale des abeilles, l'effectif des colonies était très faible puisque deux colonies seulement ont été utilisées pour tester chaque modalité. De plus, le fait que des problèmes soient apparus dans 2 tunnels sur les 4, conduit à ne disposer que de résultats portant sur une seule colonie par modalité. Par ailleurs, concernant la mortalité des abeilles au cours de l'expérience, il est mentionné qu'elle était variable entre les tunnels et corrélée positivement à la taille des colonies (pas de données fournies). Cette affirmation indique que les colonies n'étaient pas de tailles identiques au début de l'expérimentation, ce qui révèle un biais méthodologique important.

Les auteurs reconnaissent d'ailleurs que de telles expérimentations en conditions contrôlées nécessitent un grand nombre de répliques, mais cela n'a pas été le cas dans cet essai. Il ne semble pas qu'il y ait eu une suite à cette expérimentation, dont les résultats n'ont pas été publiés dans une revue scientifique. Le fait que cette expérimentation n'avait pas eu de suite, en particulier en raison d'un manque de financement, a été confirmé par Châline (comm. pers.).

ii) L'étude de Schulz et al. (1999) ne présente aucune donnée détaillée puisqu'il s'agit d'un résumé de congrès. Elle a testé l'influence du colza tolérant au glufosinate sur le développement du couvain chez l'abeille mellifère. Quarante deux micro-colonies de 500 abeilles ont été testées pendant une durée de 18 à 21 jours dans des cages de 4 x 4 x 2,4 m (L x l x h). Six à huit cages contenaient le colza TH et le même nombre de cages le colza contrôle non-TH. Les abeilles étaient nourries de sirop de sucres et du nectar et du pollen fournis par le colza. Au début de l'expérimentation, les cellules de couvain contenaient des œufs ou des larves âgées d'un jour, et après 11 à 12 jours le taux de développement du couvain était noté. Celui-ci était de 69% et ne différait pas statistiquement entre les deux types de colza. De même, le poids des ouvrières à la naissance n'était pas différent entre les colzas TH et non-TH.

Pour cette étude, comme pour la précédente, on doit à nouveau regretter que les données obtenues n'aient fait l'objet que d'une présentation à un congrès et n'aient pas été publiées dans une revue scientifique à comité de lecture, ce qui aurait permis de fournir les données détaillées.

iii) L'étude de Pierre et Pham-Delègue (2000) est un compte rendu d'expérimentation qui ne présente aucun protocole précis ni aucun résultat détaillé. Il s'agit d'une présentation très générale d'une méthodologie appliquée à l'étude de l'impact d'un colza tolérant au glufosinate sur les abeilles, qui vise i) à comparer l'attractivité du colza TH, du colza non TH et de la ravenelle pour ces insectes, et ii) à analyser le comportement des abeilles afin de déterminer quelles sont les probabilités de transfert de pollen entre les deux espèces végétales *via* ces insectes. Les études ont été conduites sous tunnel ou en cage de vol. Les auteurs affirment que de l'ensemble des données obtenues (non présentées), il ressort que les deux variétés transformées pour la tolérance au glufosinate ne présentent aucun effet pléiotropique sur les caractéristiques de la fleur, et que les abeilles ne font aucune différence entre colza transgénique TH ou classique.

Une publication des résultats concernant l'attractivité des différents colzas sur les abeilles sous tunnel ou en cage de vol, qui était soumise en 2000, ne semble pas être parue. Une publication de résultats obtenus en plein champ est parue en 2003 (voir plus loin). Les résultats portant sur les transferts de gènes ne semblent pas avoir fait l'objet d'une publication scientifique dans une revue, mais ont fait l'objet d'une présentation lors d'un symposium (Pierre, 2000).

#### *Etudes en conditions non contrôlées (plein champ)*

i) L'étude de Pierre et al. (2003) a été réalisée pour comparer la diversité et la densité des pollinisateurs butinant sur deux variétés de colza d'hiver, TH et non-TH. Les auteurs ont quantifié la présence de 4 groupes d'insectes pollinisateurs : l'abeille domestique, les bourdons, des abeilles solitaires (Andrenidae, Colletidae) et des diptères (Syrphidae, Scatophagidae). Ils ont également analysé en détail le comportement de butinage des abeilles domestiques et des bourdons, en se focalisant sur la vitesse et les postures du butinage, ainsi que sur les passages des abeilles entre les champs TH et non-TH. De plus, les auteurs ont recherché un éventuel effet pléiotropique des gènes modifiés sur la production de nectar et de pollen par les colzas TH.

Une première expérimentation s'est déroulée en 1999 avec les variétés de colza *Falcon* et *Falcon pat* en Bretagne, dans un champ isolé comprenant deux bandes identiques (6 x 30 m) séparées par un chemin (large de 24 m) sans végétation. Le champ expérimental était entouré par un champ de blé, puis par une jachère. Une ruche a été installée au milieu du champ en début de floraison. Un total de 46 observations a été réalisé pendant 8 jours.

Une seconde expérimentation s'est déroulée en 2000, avec les variétés de colza *Artus* et *Artus LibertyLink®* dans le Sud-ouest, dans un champ isolé comprenant 4 parcelles (22 x 22 m), 2 plantées en colza TH et 2 en colza non-TH. Le champ expérimental était entouré par un champ de colza non-TH. Aucune ruche n'a été apportée, et seuls les pollinisateurs naturels ont été considérés. Un total de 16 observations a été réalisé pendant 8 jours.

Les principaux résultats ont montré que la diversité et la densité des insectes pollinisateurs n'étaient pas différentes entre les colzas TH et non-TH. Les pollinisateurs les plus importants étaient les abeilles domestiques : en moyenne 50% dans la 1<sup>re</sup> expérience et 96,2% dans la seconde. La densité des pollinisateurs n'était pas différente entre les colzas TH et non-TH, mais était différente entre les deux expériences : en moyenne 1,1 abeille pour 1000 fleurs dans la première<sup>e</sup> et 8 pour 1000 dans la seconde. La stratégie de butinage était la même entre les colzas TH et non-TH : tous les insectes ont montré la même posture ("*crawling over – around posture*" et pas "*inserting posture*"). Par ailleurs, les abeilles volaient indifféremment d'un colza TH à non-TH situé à proximité, et inversement. Aucune différence n'a été montrée entre les volumes de nectars et leurs compositions en sucres, ni

dans la production de pollen entre les colzas TH et non-TH. Cette absence de différence entre les génotypes TH et non-TH dans la qualité des sources de nourriture, nectar et pollen, est cohérente avec l'absence de différence dans la diversité et la densité des insectes pollinisateurs entre les paires de génotypes.

ii) L'étude de Huang et al. (2004) a été réalisée pour évaluer les effets du pollen de colza TH sur des larves et des ouvrières d'abeilles. Bien que le titre de cette étude mentionne qu'elle a été réalisée en "*field and semi-field*", il faut souligner qu'elle a été entièrement conduite en plein champ, et que les auteurs ont utilisé le terme "*semi-field*" parce que les larves d'abeilles ont été nourries artificiellement de pollens puis replacées dans leurs ruches.

- L'étude en plein champ (conditions non contrôlées) s'est déroulée en 2001 et 2002. Douze colonies ont été utilisées chaque année : 6 colonies ont été placées en bordure de deux champs de colza TH (d'une surface d'environ 40 ha chacun) et 6 colonies en bordure de deux champs de colza non-TH. L'expérience a commencé quand 10 à 15% environ des plantes étaient en fleurs. A la fin de l'expérience, aucune différence n'a été montrée entre les deux types de colza sur la survie des larves, la durée de vie des jeunes abeilles, le poids des nymphes et la concentration de l'hémolymphe en protéines.

- L'étude en conditions semi-contrôlées s'est déroulée en 2002. Cinq colonies d'environ 30 000 abeilles ont été placées dans un champ et les abeilles pouvaient butiner librement. Aucun champ de colza n'était présent dans un rayon de 16 km autour des ruches. Dans chacune des 5 colonies, des larves ont été prélevées et ont subi un traitement contenant du pollen en laboratoire, avant d'être replacées dans leurs colonies. Cinq types de traitements ont été appliqués : des pollens de colza TH, des pollens de colza non-TH, des pollens mélangés sans colza, des pollens mélangés traités avec l'insecticide diazinon (témoin toxique positif), et des contrôles non nourris artificiellement. A la fin de l'expérience, à part pour le lot traité au diazinon, aucune différence n'a été montrée entre les différents pollens sur la survie des larves ni celle des nymphes. De même, le poids des nymphes n'était pas différent, ni les teneurs de l'hémolymphe en protéines.

La conclusion des auteurs concernant les résultats de cette étude est que le pollen de colza TH ne provoque pas d'effets indésirables sur le développement des abeilles et donc que l'utilisation de colzas transgéniques TH ne présente aucune menace pour ces insectes. L'analyse approfondie de cette étude amène néanmoins à formuler certaines critiques sur les protocoles utilisés, et à en préciser les limites :

- Distances de butinage. Le fait de réaliser des expérimentations en plein champ avec des abeilles pose, d'une manière générale, la question de la validité de l'interprétation des résultats obtenus. Une des limites les plus importantes est que lors de ce type d'expérimentation, il n'est pas possible de contrôler les sources alimentaires visitées par les abeilles. La distance de butinage de ces insectes par rapport à leur ruche varie de quelques centaines de mètres à plusieurs km (parfois jusqu'à 5 à 10 km). Le fait que les champs de colza, en général, soient attractifs pour les abeilles, et qu'ils aient une grande superficie (40 ha) dans cette expérience, a certainement conduit les abeilles des ruches placées à proximité à les visiter en grand nombre. Toutefois, le fait que les pollens de colza rapportés dans les ruches ne représentaient même pas la moitié des pollens récoltés (48%), démontre, avec certitude, que 52% des butineuses de pollen ont visité d'autres fleurs que le colza.

- Dans l'étude en conditions non contrôlées : 1) La distance entre les champs TH et non-TH n'est pas mentionnée. Seule, une "enquête visuelle" a été réalisée, qui a conduit les auteurs à conclure qu'il n'y avait pas de champs de colza TH à moins de 2,4 km des champs de colza non-TH. Le fait que les abeilles puissent butiner à des distances supérieures à 2,4 km ne peut donc pas garantir que les abeilles des ruches situées près d'un champ de colza non-TH n'aient pas butiné sur des colzas TH, et inversement. Dans leur expérimentation "*semi-field*" les auteurs ont d'ailleurs veillé à ce qu'aucun champ risquant de fausser leurs résultats ne soit présent dans un rayon de 16 km autour des ruches. 2) Avant le début de l'expérience, les auteurs enlèvent les cadres de la ruche qui contiennent de grosses quantités de réserves de pollen, afin de diminuer la probabilité que les abeilles utilisent ce pollen stocké pour produire de la nourriture larvaire. Les réserves de pollen étant généralement réparties sur de nombreux cadres, le fait d'enlever seulement une partie de ces cadres laisse donc aux abeilles la possibilité d'utiliser du pollen récolté avant le début de l'expérimentation. 3) L'alimentation des larves d'abeilles est réalisée par de jeunes ouvrières qui s'alimentent en pollen pour développer leurs glandes nourricières. Les nourrices déposent leurs sécrétions dans les alvéoles contenant les larves, ainsi qu'une petite quantité de pollen que les larves ingèrent directement. Au début de l'expérience, les larves sont donc alimentées par des nourrices dont les glandes se sont développées au cours de la période précédente. Dans la suite de l'expérience, il n'y a aucune preuve que les nourrices et les larves aient ingéré du pollen de colza TH, et si elles l'ont fait, on ignore en quelles quantités.

- Dans l'étude en conditions "contrôlées" : pour des raisons qu'ils n'expliquent pas, les auteurs ont déposé près des larves une quantité de pollen qui n'était que de 27% de celle normalement fournie par les nourrices, sous-exposant ainsi les larves à un éventuel effet toxique des pollens testés.

En conclusion, cette étude ne montre pas d'effet du pollen de colza TH sur les larves et les jeunes ouvrières d'abeilles. En raison des lacunes et imprécisions importantes soulignées plus haut, elle ne permet pas de conclure avec certitude à l'absence totale d'effets létaux ou sub-létaux sur les colonies d'abeilles. Il est également à signaler que cette étude présente potentiellement un conflit d'intérêt, puisque l'auteur placé en dernière position - ce qui correspond dans le système américain à celle de "principal investigateur" - est employé par la firme Monsanto, producteur de plantes TH. Par ailleurs, l'étude a été partiellement financée par cette firme.

#### *Articles de synthèse ou résumés d'études*

i) Le document des décisions concernant le canola tolérant au glufosinate-ammonium d'AgrEvo Canada Inc. (1995) contient deux paragraphes susceptibles de nous intéresser dans le cadre de cette expertise. Dans le premier ("Impact possible sur des espèces non visées"), 3 lignes sont consacrées aux effets possibles sur les abeilles "On n'a pas décelé d'activité de l'enzyme Pat dans les grains de pollen ni dans le miel non traité recueilli dans une ruche dont les abeilles avaient butiné la lignée de *B. napus* tolérante au glufosinate. On n'a pas non plus constaté d'effet nocif sur les abeilles qui butinaient la lignée HCN92, pas plus que sur le développement du couvain".

Dans le second ("Répercussions possibles sur la biodiversité"), il est mentionné : "L'agence canadienne d'inspection des aliments a donc conclu que les effets éventuels de la lignée HCN92 sur la biodiversité étaient équivalents à ceux des lignées de canola actuellement commercialisées". En conclusion, ce rapport ne présente aucune donnée précise qui prouverait ce qu'il affirme. On ne peut donc le prendre en compte, tant que les données expérimentales sur lesquelles il s'appuie ne sont pas disponibles.

ii) La publication de Pham-Delègue et al. (2002) est une revue de synthèse qui résume principalement les travaux ayant porté sur les interactions entre l'abeille domestique et le colza génétiquement modifié. Concernant les colzas TH, l'article décrit les résultats de deux expérimentations menées par le groupe de M. H. Pham-Delègue, celle de Châline et al. (2001) et celle de Pierre et al. (2003) - la raison pour laquelle cette revue discute d'un travail publié en 2003 est que l'article de Pierre et al. a été soumis pour publication en 2000. La publication de Pham-Delègue et al. (2002) n'apporte aucun élément nouveau par rapport aux deux articles qui ont été analysés plus haut.

iii) La publication de Malone et Burgess (2009) est une revue de synthèse des travaux ayant porté sur l'impact des cultures GM sur les pollinisateurs. Il porte sur l'ensemble des plantes GM, mais analyse surtout les articles traitant des plantes insecticides. Concernant les plantes TH, les auteurs affirment qu'il n'y a pas de preuve que ces plantes représentent un danger toxicologique pour les abeilles ou d'autres insectes. Cette analyse est basée sur trois études. La première est celle réalisée au Canada en 1995, mais le rapport qui est accessible (CFIA, 1995) ne présente aucun résultat expérimental (cf. ci-dessus), et il n'est donc pas possible de la prendre en compte.

Les deux autres études sont celles de Châline *et al.* 2001) et Huang *et al.* (2004). Malone et Burgess n'en font aucune analyse critique, et il est simplement mentionné qu'elles fournissent des résultats similaires à ceux de l'étude canadienne. Or l'analyse qui est faite de ces études, dans le présent rapport, a montré qu'elles souffraient toutes les deux de biais méthodologiques importants susceptibles d'en altérer les résultats principaux.

La publication de Malone et Burgess (2009) n'apporte donc aucun fait nouveau intéressant.

#### *Conclusion sur l'évaluation des éventuels effets directs des plantes TH sur les pollinisateurs*

- Trois études ont été réalisées en conditions contrôlées (Châline *et al.*, 2001 ; Schulz *et al.*, 1999 ; Pierre et Pham-Delègue, 2000). Elles concluent que les colzas TH analysés n'ont pas d'effets négatifs sur l'abeille domestique. Toutefois, aucune ne répond aux critères habituels des travaux scientifiques, pour plusieurs raisons qui sont détaillées pour chacune d'entre elles. Toutes les trois sont des résumés de communications présentées à des congrès, et n'ont pas été publiées dans des revues à comité de lecture où elles auraient pu être soumises à une analyse indépendante par des pairs.

- Deux études ont été réalisées en conditions non contrôlées (plein champ) (Pierre *et al.*, 2003 ; Huang *et al.*, 2004). La première montre que la diversité et la densité des insectes pollinisateurs ne sont pas différentes entre les colzas TH et non-TH, et que la stratégie de butinage est la même sur les deux types de colzas. De plus, les abeilles volent indifféremment d'un colza TH à non-TH situé à proximité, et inversement. Par ailleurs, il n'y a pas de différence entre les volumes de nectars et leurs compositions en sucres, ni dans la production de pollen entre les colzas TH et non-TH. La seconde montre que le pollen de colza TH ne provoque pas d'effets indésirables sur le développement des abeilles, et donc que l'utilisation de colzas transgéniques ne présente aucune menace pour ces insectes. Toutefois, cette étude présente de nombreuses faiblesses méthodologiques qui conduisent à ne pas valider cette conclusion, en raison des incertitudes portant sur les résultats.

En conclusion, la seule étude validée (Pierre *et al.*, 2003) porte sur le comportement de butinage des abeilles qui est le même pour les colzas TH et non-TH. Il est à signaler que le but de cette étude, qui était de comparer la diversité et la densité des pollinisateurs butinant sur deux variétés de colza d'hiver TH et non-TH, n'apporte aucune donnée sur les éventuels effets toxiques pour les abeilles butineuses des nectars et des pollens récoltés. Les quatre autres études n'étant pas validées, il n'en existe donc aucune qui montrerait, de manière certaine, que les colzas TH ne présentent aucun effet léthal ou sub-léthal sur les colonies d'abeilles. De telles études, réalisées avec des protocoles rigoureux et adaptés aux spécificités des colonies d'abeilles pourraient être réalisées avant la mise en culture des colzas TH.

### 3.3.1.7.3. Evaluation des éventuels effets indirects sur les pollinisateurs

L'évaluation des effets indirects a été menée sur les insectes pollinisateurs, mais aussi sur d'autres groupes d'insectes ou d'invertébrés. Cette analyse bibliographique porte principalement sur les insectes pollinisateurs. Une grande partie des publications disponibles est issue d'une vaste étude de terrain réalisée en Grande-Bretagne pendant plusieurs années à partir de 1999 : "Farm Scale Evaluations (FSEs) of the genetically modified herbicide-tolerant (GM HT) crops" (Encadré 3-2).

#### *Etude FSE*

L'étude FSE, qui a évalué certains effets des cultures TH à l'échelle de la ferme, a été réalisée par un consortium de chercheurs ayant travaillé à la demande du gouvernement britannique avec des financements publics. Son objectif était de comprendre comment la culture de plantes TH pourrait affecter l'abondance et la diversité de la faune sauvage des terres agricoles, comparativement aux cultures conventionnelle des mêmes plantes non-TH. Les chercheurs ont étudié 4 cultures : du colza semé en hiver, du colza semé au printemps, de la betterave et du maïs. Chaque champ analysé était divisé en deux parties comparables, l'une contenant la culture TH et l'autre la culture conventionnelle.

Les résultats détaillés de cette étude concernant les insectes pollinisateurs et d'autres groupes d'invertébrés ont été regroupés dans 4 publications, selon les types d'invertébrés étudiés et les méthodes utilisées : 1) ceux qui sont présents à l'intérieur des champs, se déplaçant à la surface (Brooks *et al.*, 2003) ou 2) vivants en surface du sol sous la strate herbacée, et aériens (Haughton *et al.*, 2003) ; 3) ceux qui sont présents en bordure des champs (Roy *et al.*, 2003), et 4) une publication synthétique sur les groupes trophiques (Hawes *et al.*, 2003) .

i) L'étude de Brooks *et al.* (2003) était destinée à comparer l'abondance et la diversité des groupes d'invertébrés vivant à la surface du sol des cultures TH et non-TH, et si possible à relier les éventuelles différences à des changements dans les populations d'adventices dus à des pratiques d'utilisation des pesticides différentes. L'étude a principalement porté sur l'abondance des insectes coléoptères carabidés et staphylinidés, des araignées, des collemboles et des gastéropodes, ainsi que sur la diversité des carabidés. Les invertébrés ont été échantillonnés sur des transects distribués de manière identique entre les demi-champs au moyen de pièges adaptés aux invertébrés de surface et aux gastéropodes.

Les principaux résultats ont montré que les plantes TH affectaient l'abondance des invertébrés de surface, soit en l'augmentant, soit en la diminuant, en fonction des plantes, et de la phénologie et de l'écologie des espèces concernées. En général, les effets ont été indirects, et étaient la conséquence de la gestion des adventices par les herbicides.

Les plantes conventionnelles ont abrité, globalement, plus d'invertébrés de surface du sol que les plantes TH dans le cas du colza de printemps et de la betterave, et moins dans le cas du maïs. C'est également le cas pour

les carabidés qui se nourrissent des graines des plantes adventices. Le nombre de collemboles détritviores est toujours plus élevé dans les cultures TH que dans les cultures conventionnelles.

ii) L'étude de Haughton *et al.* (2003) était destinée à décrire les effets indirects des cultures TH sur les arthropodes actifs dans les champs, en milieu épigé et aérien. Comme l'étude de Brooks *et al.* (2003) décrite précédemment, elle considère les carabidés, les araignées et les collemboles, mais adopte une méthode d'échantillonnage différente. Alors que Brooks *et al.* utilisent des méthodes de piégeage, Haughton *et al.* utilisent une méthode d'aspiration des arthropodes qui vivent à la surface des plantes, dans la litière et à la surface du sol. Concernant les abeilles et les papillons, le dénombrement est réalisé par comptages visuels le long de transects.

- Abeilles (cette catégorie regroupe l'abeille domestique, des bourdons et des abeilles sauvages) : leur nombre est très supérieur dans les champs de colza de printemps à ce qu'il est dans les champs de betteraves et de maïs. Toutefois, les données sur le maïs ne sont pas totalement comparables avec celles des autres cultures puisque la méthode d'échantillonnage n'était pas la même. Au bilan global annuel, le nombre d'abeilles total est significativement inférieur dans les champs de betterave TH à ce qu'il est dans les champs non-TH. Cette différence est due à la plus grande variété de plantes adventices visitées dans les champs conventionnels. Concernant les champs de colza et de maïs, le bilan global annuel ne montre pas de différence significative entre les champs TH et non-TH, quoique les différences présentent toujours les mêmes tendances pour une culture donnée : pour le colza, il y a toujours moins d'abeilles dans les champs TH que non-TH, et pour le maïs, la situation est inversée.

- Papillons : leur nombre est supérieur dans les champs de colza de printemps à ce qu'il est dans les champs de betteraves et de maïs. Sur l'année, les papillons sont significativement moins nombreux dans les champs de colza TH et de betterave TH que dans les cultures non-TH. Ils sont présents en quantités égales sur les maïs TH et non-TH.

iii) L'étude de Roy *et al.* (2003) était destinée à analyser l'influence des cultures TH sur les invertébrés et la végétation présents dans les lisières des champs. Les principaux résultats ont montré que l'utilisation de plantes TH entraînait des répercussions sur les plantes et les invertébrés de la lisière des champs par rapport aux plantes non-TH. Elles ont principalement été trouvées dans la partie labourée la plus proche du champ, et à un moindre degré dans les deux parties plus éloignées (bordure et limites du champ).

Dans la partie labourée en dehors de la culture, le niveau de couverture globale en espèces de plantes, ainsi que les niveaux de floraison et d'ensemencement ont tous été affectés, mais différemment selon les cultures. Pour le colza de printemps TH, on trouve 25% moins de plantes, qui produisent 44% moins de fleurs et 39% moins de graines que pour le colza non-TH, et pendant toute la saison. Pour la betterave, on trouve les mêmes effets (34% moins de fleurs et 39% moins de graines), mais limités en juillet et août. Pour le maïs, la situation est inversée, puisque c'est dans les lisières des parcelles TH que se trouvaient 28% plus de plantes et 67% plus de fleurs par rapport aux non-TH. Cet état de fait s'explique par l'utilisation généralisée dans le maïs non-TH d'herbicides tels que l'atrazine qui persistent dans les sols pendant de longues périodes (Heard *et al.* 2003).

Les effets sur les papillons suivent les effets sur la végétation, avec 24% de papillons en moins sur les parcelles TH. La raison la plus vraisemblable est la moindre quantité de nectar qui y est disponible. Peu de différences ont été trouvées pour les abeilles, les gastéropodes ou d'autres invertébrés. Pour les abeilles et les insectes volants, ceci pourrait être dû, pour une part, au faible nombre de comptages réalisés, et pour les champs de colza, en particulier, au fait que la culture produit d'abondantes quantités de nectar et de pollen très attractives lors de la floraison.

iv) L'étude de Hawes *et al.* (2003) a regroupé les différents taxons d'insectes analysés dans les études de la FSE en groupes trophiques : herbivores, prédateurs, parasitoïdes, détritviores et pollinisateurs. La gestion des parcelles TH modifie l'abondance des plantes adventices et des insectes, l'ampleur et la direction de ces effets étant dépendantes de l'efficacité relative des herbicides utilisés dans les parcelles non-TH comparables.

D'une manière générale, la biomasse des plantes adventices est réduite dans les parcelles TH de betterave et de colza de printemps et augmentée dans celles de maïs, par rapport aux parcelles conventionnelles (non-TH). Ce changement dans les ressources végétales conduit à un effet d'entraînement sur les populations d'insectes. Concernant les pollinisateurs, les effectifs tendent à être plus faibles dans les parcelles TH de betterave et de colza de printemps et légèrement plus élevés dans les parcelles TH de maïs. Ces tendances sont statistiquement

significatives pour les résultats cumulés de l'ensemble de la saison pour la betterave et le colza de printemps, et pour le maïs, uniquement au cours du mois de juillet.

#### *Autre étude*

L'étude de Morandin et Winston (2005) avait pour but de comparer l'abondance en abeilles sauvages et ses conséquences en terme de déficit de pollinisation dans trois modes de culture de colza : conventionnel, biologique et GM TH. L'étude a été réalisée dans des champs de canola (*Brassica napus* et *B. rapa*) situés en Alberta au Canada, au cours de l'été 2002. L'abondance en abeilles a été mesurée à la fois par piégeage dans des récipients contenant de l'eau sucrée et au moyen de filets fauchoirs. Le déficit éventuel en pollinisation a été mesuré en comparant le nombre de graines obtenues à partir de fleurs pollinisées uniquement de manière naturelle (contrôles) et à partir de fleurs auxquelles un supplément de pollen a été apporté expérimentalement.

Les résultats ont montré que les nombres d'abeilles collectées étaient significativement différents selon le mode de culture. Les cultures biologiques abritant le plus grand nombre, suivies par les cultures conventionnelles et enfin par les cultures GM TH. Par ailleurs, les cultures biologiques n'ont pas présenté de déficit en pollinisation, alors que les cultures conventionnelles en ont présenté un léger et les cultures GMTH un plus important. Ces résultats suggèrent que la culture de *B. napus* peut bénéficier des transferts de pollen apportés par les insectes, et qu'il n'y avait pas assez d'abeilles sauvages ou d'autres pollinisateurs dans les sites de cultures conventionnelle ou GM TH étudiés dans cette expérience pour produire le maximum de graines.

Bien que *B. napus* soit auto-fertile, la pollinisation par les insectes peut donc augmenter la production de graines ou la densité des siliques. Toutefois, le niveau de cette augmentation est variable et pourrait dépendre des variétés cultivées, des conditions environnementales et des variétés utilisées. Les résultats de cette expérience suggèrent que c'est le faible nombre de pollinisateurs présents dans les champs GM TH qui explique le déficit en pollinisation. Les auteurs font l'hypothèse que le plus faible nombre d'insectes pollinisateurs dans les champs GM TH serait dû au fait que l'herbicide utilisé, le RoundUp, est très efficace et a entraîné une diminution du nombre et de la variété des plantes adventices, causant ainsi une réduction des ressources pour les insectes, dont les abeilles. En conclusion, les auteurs soulignent que leur recherche met en évidence une interaction dans laquelle le système de culture influence l'abondance des abeilles dans les champs, et le déficit en insectes pollinisateurs peut entraîner une diminution des rendements.

#### *Conclusion sur l'évaluation des éventuels effets indirects des plantes TH sur les pollinisateurs*

Les principaux résultats de l'étude FSE ont montré qu'il existait des différences dans l'abondance de la faune pour chacune des 4 cultures TH et non-TH. Pour deux d'entre elles, le colza de printemps et la betterave, les méthodes conventionnelles ont conduit à une faune plus abondante. Il y avait plus d'insectes (tels que les papillons et les abeilles) à l'intérieur et autour des cultures conventionnelles, parce qu'il y avait davantage de plantes adventices qui leurs fournissaient de la nourriture et des abris. Il y avait également davantage de graines d'adventices dans les cultures conventionnelles de colza de printemps et de betterave que dans les cultures TH correspondantes. Ces graines sont importantes pour l'alimentation de certains groupes d'animaux.

A l'inverse, pour le maïs, les plantes TH étaient plus favorables à plusieurs groupes de la faune sauvage que les variétés conventionnelles. Il y avait plus de plantes adventices à l'intérieur et autour des cultures conventionnelles, et plus de papillons et d'abeilles autour des champs à certaines périodes de l'année. Il y avait également davantage de graines de plantes adventices.

La situation était plus contrastée pour le colza d'hiver, où le nombre de plantes adventices était le même dans les deux types de cultures TH et non-TH. Toutefois, les cultures TH hébergeaient moins d'adventices à feuilles larges en fleurs, qui sont importantes pour la faune, et plus d'adventices herbacées. Les cultures TH abritaient également moins d'abeilles et de papillons que les cultures conventionnelles, mais les nombres d'autres insectes, d'araignées et de limaces étaient identiques.

Les chercheurs soulignent que les différences trouvées ne proviennent pas du fait des cultures TH en elles-mêmes, mais du fait qu'elles conduisent les agriculteurs à utiliser des herbicides différents et à les appliquer différemment. Les abeilles et les papillons ont besoin de s'alimenter en nectar et en pollen sur les fleurs des plantes cultivées, des plantes adventices et des plantes sauvages. Par conséquent, ils seront affectés par une diminution des plantes adventices. Toutefois, comme ces insectes peuvent voler sur de longues distances pour trouver de la nourriture, ils ne seront affectés que si la diminution des plantes adventices intervient de façon

importante. Ce pourrait être le cas si des colzas d'hiver et de printemps TH et des betteraves TH étaient plantés sur des surfaces importantes et pendant plusieurs années. Ainsi, dans les régions où les ressources en nectar sont peu abondantes, ce qui est, par exemple, le cas dans les régions de production de betteraves, les populations d'abeilles et de papillons pourraient décliner fortement.

En conclusion, les résultats de cette étude suggèrent que la culture des plantes TH entraîne des conséquences pour la biodiversité à l'échelle des terres agricoles. Cependant, d'autres facteurs sont impliqués dans les impacts à moyen et long termes, tels que les surfaces et la répartition des terres impliquées, les méthodes de culture, incluant les techniques de rotation. Les résultats de l'étude de Morandin et Winston confirment que le nombre d'insectes pollinisateurs est plus faible dans les colzas TH que dans les colzas en cultures conventionnelles ou biologiques. Ces différences seraient liées à la diminution des plantes adventices dans les cultures. Cette étude montre également que ce déficit en insectes pollinisateurs peut entraîner une diminution des rendements.

#### **3.3.1.7.4. Evaluation de la toxicité des herbicides pour les abeilles**

Les abeilles peuvent être exposées aux herbicides, lorsqu'elles butinent sur des cultures en cours de traitement ou sur les plantes voisines, en raison des dérives de pulvérisation, ou lorsqu'elles butinent sur des fleurs qui ont été traitées récemment. L'exposition peut se faire par contact ou par ingestion. Elles peuvent aussi être exposées lorsqu'elles récoltent de l'eau qui en contient (Morton et al., 1974). Les abeilles butineuses peuvent donc rapporter des herbicides à la colonie où ils peuvent être présents dans le miel et la cire (Morton et al., 1974).

##### *La question des doses*

La toxicité des herbicides pour les insectes pollinisateurs est considérée comme étant, globalement, plus faible que celle des insecticides, mais elle existe. Elle varie selon les molécules, certaines étant très hautement toxiques (Moffett et al., 1972). La toxicité peut affecter les jeunes abeilles tout comme les abeilles butineuses (Morton et al., 1972), ainsi que les œufs et les larves (Morton et Moffett, 1972). Elle dépend également des formulations et des solvants utilisés (Moffett et al., 1972).

A l'heure actuelle, le seul paramètre dont on dispose généralement pour évaluer la toxicité d'un pesticide lors de son homologation est la dose létale 50 (DL50), qui est la dose de substance qui tue la moitié des insectes dans un délai de 48h, dans des conditions expérimentales données (tests en cagette en laboratoire). La DL50 est calculée pour une ingestion orale et pour une application par contact. Plus le chiffre trouvé est petit, plus la substance est toxique. Les documents bibliographiques fournis dans le cadre de l'ESCo portent sur 7 substances actives : bromoxynil, chlorsulfuron, cycloxydim, glufosinate, glyphosate, imazamox, tribenuron (European Commission, 2002a, b, 2004 ; EFSA, 2004, 2005, 2008). Le tableau 3-31 présente les valeurs des DL50 par ingestion et par contact pour ces 7 matières actives, ainsi que pour certaines formulations. Les valeurs sont généralement de l'ordre de 100 µg par abeille, avec quelques valeurs plus élevées ou plus basses. Les valeurs les plus faibles sont de 5 µg pour le bromoxynil et de 9,1 µg pour le tribenuron.

Il est important de souligner que la dose létale 50 n'a qu'une valeur indicative d'un niveau de toxicité, destinée à permettre des comparaisons entre molécules. Elle n'a qu'une valeur statistique, dans des conditions expérimentales données, et n'a aucune valeur biologique. La mort de 50% des individus d'une population est un phénomène extrêmement grave ; ainsi pour l'abeille, cela pourrait représenter jusqu'à 20 000 ou 40 000 individus ! La DL 50 ne signifie pas, en particulier, qu'une dose qui lui est inférieure est sans risque pour les abeilles. La valeur qu'il serait le plus utile de connaître est la dose sans aucun effet sur ces insectes, mais actuellement cette dose n'est pas demandée dans le cadre des procédures d'homologation et elle n'est donc jamais déterminée. Il existe par conséquent un grand flou dans la connaissance des toxicités réelles des pesticides (dont les herbicides) chez les abeilles. De plus, il est parfois considéré que les colonies d'abeilles étant peuplées (selon la saison et l'état des colonies) de 20 000 à 60 000 individus, elles pourraient supporter sans dommages des pertes de quelques centaines ou quelques milliers d'individus. Cette assertion est complètement erronée et témoigne d'une méconnaissance de la biologie et du comportement de ces insectes. Toute mortalité anormale d'abeilles, de l'ordre de quelques centaines ou davantage, a forcément un coût pour la colonie à différents niveaux : ponte de la reine, élevage des larves, répartition des tâches entre les ouvrières, diminution de la capacité de butinage, etc.

**Tableau 3-31.** Valeurs des DL50 par ingestion et par contact pour 7 matières actives



| Matière active | Toxicité         | Substance testée  | DL 50   |
|----------------|------------------|---|---|
| Bromoxynil     | <b>Ingestion</b> | Matière active<br>Bromoxynil octanoate<br>CGD 97040     | 5 µg / abeille<br>> 120 µg / abeille<br>> 100 µg / abeille    |
|                | <b>Contact</b>   | Matière active<br>Bromoxynil octanoate                  | 150 µg / abeille<br>> 100 µg / abeille                        |
| Chlorsulfuron  | <b>Ingestion</b> | Matière active<br>Préparation                           | > 130 µg / abeille<br>> 135 µg / abeille                      |
|                | <b>Contact</b>   | Matière active<br>Préparation                           | > 100 µg / abeille<br>> 135 µg / abeille                      |
| Cycloxydim     | <b>Ingestion</b> | Matière active<br>BAS 517 24 H                          | > 102 µg / abeille<br>64 µg / abeille                         |
|                | <b>Contact</b>   | Matière active<br>BAS 517 24 H                          | > 100 µg / abeille<br>> 100 µg / abeille                      |
| Glufosinate    | <b>Ingestion</b> | Matière active<br>SL14 (Basta)<br>SL18 (Liberty, Basta) | > 600 µg / abeille<br>46 µg / abeille<br>> 100 µg / abeille   |
|                | <b>Contact</b>   | Matière active<br>SL14 (Basta)<br>SL18 (Liberty, Basta) | > 345 µg / abeille<br>154 µg / abeille<br>> 100 µg / abeille  |
| Glyphosate     | <b>Ingestion</b> | Matière active  | 100 µg / abeille  |
|                | <b>Contact</b>   | Matière active  | > 100 µg / abeille  |
| Imazamox       | <b>Ingestion</b> | Matière active<br>RLF 12270<br>SF 09464                 | > 40 µg / abeille<br>387 µg / abeille<br>> 500 µg / abeille   |
|                | <b>Contact</b>   | Matière active<br>RLF 12270<br>SF 09464                 | > 58 µg / abeille<br>1066 µg / abeille<br>> 2500 µg / abeille |
| Tribenuron     | <b>Ingestion</b> | Tri.-methyl technical<br>Tri.-methyl 75WG               | > 9,1 µg / abeille<br>> 186 µg / abeille                      |
|                | <b>Contact</b>   | Tri.-methyl technical<br>Tri.-methyl 75WG               | > 98,4 µg / abeille<br>> 200 µg / abeille                     |

Deux autres points nécessitent d'être évoqués dans le cadre d'un tableau aussi complet que possible sur d'éventuels effets toxiques des herbicides pour les insectes pollinisateurs en général, et l'abeille domestique en particulier : les effets sublétaux et les synergies entre molécules.

#### *Effets sublétaux*

La seule utilisation du test de toxicité aiguë en conditions de laboratoire (DL50) pour évaluer la toxicité d'un pesticide ne permet pas de prendre en compte, en particulier, d'éventuels effets sublétaux. Ces effets, qui ne provoquent pas la mort des insectes à court terme (1-2 jours), peuvent intervenir sur leur physiologie (respiration, rythme cardiaque, etc.) et sur leurs nombreux comportements complexes (butinage, construction de rayons, soins aux larves, thermorégulation...). Ces effets peuvent entraîner différents types de conséquences :

- sur la durée de vie des individus : par exemple, si leurs capacités d'orientation sont affectées par une exposition sublétaux à un pesticide, les butineuses ne peuvent plus retrouver leur colonie et elles meurent prématurément dans la nature ;
- sur le fonctionnement normal d'une colonie, lorsque le nombre d'abeilles concernées est important (quelques centaines).

#### *Synergie entre molécules*

Il est maintenant établi que des molécules étudiées séparément peuvent n'entraîner aucun effet toxique chez un insecte, à une dose donnée, mais que l'association de deux - ou plus - de ces molécules, à cette même dose, peut entraîner des effets toxiques, par action synergique entre ces molécules. Cela a particulièrement été montré dans le cas d'une association entre des molécules insecticides et fongicides (Chalvet-Monfray et al., 1995; Colin & Belzunces, 1992; Pilling et al., 1995; Vandame & Belzunces, 1998). Les données sont manquantes dans le cas

d'association entre herbicides et insecticides et/ou fongicides et des études nécessitent d'être entreprises sur cette question. Par ailleurs, des interactions ont été montrées entre le glyphosate et certains insecticides dans le cas de traitement du coton aux USA ; par exemple, l'application simultanée de glyphosate et de l'insecticide imidaclopride augmente l'efficacité du traitement insecticide contre les Thrips (Pankey et al., 2004).

### 3.3.1.7.5. Conclusion

i) Concernant les éventuels effets directs des plantes TH sur les insectes pollinisateurs en général, et l'abeille domestique en particulier, il est à souligner que sur les 5 études analysées, une seule a été validée. Les 4 autres études ne peuvent pas être prises en compte pour deux raisons principales : soit parce qu'elles présentent des biais méthodologiques importants qui peuvent fausser les résultats obtenus, soit qu'elles ne fournissent pas de protocoles et de données détaillées qui permettraient d'en faire une analyse critique approfondie. La seule étude validée (Pierre *et al.*, 2003) porte sur l'analyse du comportement de butinage des abeilles, qui est le même pour les colzas TH et non-TH, mais ne fournit pas d'indication sur d'éventuels effets létaux ou sub-létaux sur les colonies d'abeilles.

ii) Concernant les éventuels effets indirects des plantes TH sur les insectes pollinisateurs en général, et l'abeille domestique en particulier, l'ensemble des études analysées soulignent que le principal effet indirect est, pour certaines cultures (colza et betterave), la diminution des populations de plantes adventices (présentes dans les champs ou autour des champs) qui peuvent servir de ressources alimentaires, en particulier pour les insectes pollinisateurs. Toutefois, comme ces insectes peuvent voler sur de longues distances pour trouver de la nourriture, ils ne seront affectés que si la diminution des plantes adventices intervient de façon importante. Ce pourrait être le cas si des colzas TH et des betteraves TH étaient plantés sur des surfaces importantes et pendant plusieurs années. De plus, dans les régions où les ressources en nectar sont peu abondantes, ce qui est par exemple le cas dans les régions de production de betteraves, les populations d'abeilles et de papillons pourraient décliner fortement.

iii) Concernant la toxicité des herbicides pour les abeilles, il est à souligner que celles-ci peuvent être exposées aux herbicides lorsqu'elles butinent sur des cultures en cours de traitement ou sur des fleurs qui ont été traitées récemment ou lorsqu'elles récoltent de l'eau qui en contient. La toxicité des herbicides pour les abeilles doit tenir compte non seulement de leur toxicité aiguë, mais aussi de leurs éventuels effets sublétaux, ainsi que des synergies entre les différents pesticides appliqués sur une même culture au cours d'une même période. Les études au cas par cas, sur les principales associations de molécules auxquelles les abeilles sont exposées dans une culture donnée, sont aujourd'hui insuffisantes.

L'importance d'évaluer, de manière rigoureuse, les effets éventuels, directs et indirects, des VTH sur les pollinisateurs est particulièrement cruciale à l'heure actuelle, alors que les mortalités de colonies d'abeilles sont élevées en France (et dans de nombreuses régions du monde), et que le déclin général des pollinisateurs est démontré. Le résultat principal de ces diminutions de populations de pollinisateurs est la réduction de leur activité pollinisatrice, qui entraîne des conséquences négatives importantes au niveau agricole et au niveau de la biodiversité des plantes sauvages.

### 3.3.1.8. Effets sur les populations et communautés de micro-organismes du sol

Yves Dessaux

#### 3.3.1.8.1. Présentation de l'étude

##### *Situation du sujet*

L'étude des effets des herbicides sur les populations et communautés de micro-organismes telluriques reste paradoxalement un domaine de recherche dans lequel peu de publications existent. Il est possible que cette relative pauvreté des ressources bibliographiques soit liée au fait que la microflore tellurique n'apparaît pas comme la cible première de ces molécules, et que sa capacité à les dégrader, directement ou après une période d'adaptation (voir Chapitre 4, dégradation microbienne des herbicides dans les sols), implique *de facto* qu'elle y serait insensible. Il est possible également que l'apport organique que constituent les herbicides soit considéré comme trop faible pour induire des effets sur la microflore tellurique. Pour mémoire, en 2001, 110 000 tonnes

d'herbicides ont été vendues dans l'UE, dont plus de 32 000 tonnes en France (valeurs ramenées à 26 800 tonnes en 2007 et 25 000 tonnes en 2009) épandues sur quelques 20 millions d'hectares de surface arable cultivée, soit une pression moyenne de l'ordre de 1 à 1,5 kg par hectare ou de 100 à 150 mg/m<sup>2</sup> <sup>12</sup>. Pourtant, comme on le verra, ces molécules peuvent exercer des effets sur ces populations microbiennes, effets qui pourraient s'avérer importants en termes de fonctionnement écologique des sols, puisque les micro-organismes y assurent environ 90% des processus biologiques (Nannipieri et al., 2003).

Cette section propose un tour d'horizon succinct, et en aucun cas exhaustif, des impacts de différents herbicides sur la structure et/ou le fonctionnement de populations ou communautés microbiennes. Cette non-exhaustivité est liée en premier lieu au fait que le monde microbien tellurique présente une très grande diversité, encore largement méconnue : 90% des micro-organismes associés au système racinaire des plantes ne sont pas cultivables sur les milieux gélosés utilisés classiquement en microbiologie, et les 3 groupes bactériens généralement les plus abondants (*Acidobacterium* spp., *Acidovorax* spp. et *Chitinobacteria* spp., dont la très grande majorité des membres ne sont pas cultivables et dont on ignore les rôles exacts) ne représentent que 13 à 20% de bactéries détectées par des approches moléculaires (Buée et al., 2010). De plus, cette section ne s'intéresse qu'à un nombre limité d'herbicides, essentiellement ceux pour lesquels des variétés TH existent.

#### Méthodologie bibliographique

Cette section résulte de l'analyse des publications sélectionnées dans les bases de publications Medline, CAB, Current Contents et Google Scholar, à partir : a) d'une équation de recherche composée du mot "herbicide" et "bacteria" ou "fungi" ou "soil", ou b) du nom de classes ou d'herbicides avec les mots "bacteria" ou "fungi" ou "soil". La plupart des références produites concernent des pratiques agronomiques et des phénomènes de rémanence des herbicides dans le sol ou de dégradation physico-chimique ou microbienne (voir Chapitre 4, dégradation microbienne des herbicides dans les sols). Quarante neuf références pertinentes ont été retenues pour la rédaction de cette section.

#### 3.3.1.8.2. Herbicides de la classe A

Des travaux déjà anciens de Roslycry (1986) ont porté sur l'effet de la séthoxydime, une cyclohexadione, sur les populations microbiennes d'un sol limono-sableux. Aux concentrations agronomiques recommandées ou légèrement supérieures, variant de 1 à 50 µg de matière active par gramme de sol, cette molécule a peu d'effet sur la microflore, alors que des concentrations de 1 000 µg par gramme de sol conduisent à une multiplication par un facteur d'environ 10 des populations d'actinomycètes et de bactéries, et n'entraînent qu'une légère réduction de celles des champignons.

L'inhibition de la respiration microbienne est généralement fonction de la dose et varie selon les groupes microbiens considérés, qui sont, des moins sensibles aux plus sensibles, les actinomycètes, les champignons et les bactéries. Cependant, au sein de la bactérioflore, les alpha-protéobactéries *Agrobacterium radiobacter*, *A. tumefaciens*, *A. rhizogenes* (devenue depuis *Rhizobium rhizogenes*, toutes trois des pathogènes végétaux), *R. leguminosarum*, *Sinorhizobium meliloti* (toutes deux symbiontes fixateurs d'azote de légumineuses), les gamma-protéobactéries *E. coli* et *Proteus mirabilis* (saprophytes), et de nombreux firmicutes du genre *Bacillus* (saprophytes pour la plupart), sont apparemment insensibles aux plus fortes concentrations testées. Ces données sont quelque peu en contradiction avec les résultats présentés par Botsford (1997), qui indique que la DL50 (dose entraînant une perte de viabilité de 50% des micro-organismes testés) est de 3 ppm pour cette molécule (voir Tableau 3-32) en essai *in vitro* au laboratoire, pour une souche de *Rhizobium* sp. Il reste possible que les effets observés soient spécifiques d'une espèce donnée et non extrapolables à une autre espèce, même voisine.

Le mécanisme par lequel la cyclohexanedione affecte la viabilité microbienne n'est pas connu. Cette molécule inhibe l'activité de l'enzyme acétyl CoA acétyl carboxylase (ACCCase), impliquée dans la biosynthèse des lipides ; les monocotylédones sont sensibles à des doses de 50 à 1000 plus faibles que les dicotylédones (Rendina et Felts, 1988). Les ACCCases bactériennes sont en général insensibles aux doses affectant l'enzyme des

---

<sup>12</sup> <http://www.epp.eurostat.ec.europa.eu>

monocotylédones, ce qui permet de les utiliser en vue de l'obtention de plantes génétiquement modifiées (Brevet US 5 539 092).

### 3.3.1.8.3. Herbicides de la classe B

Les travaux concernant les imidazolinones ont essentiellement conduit à l'identification de micro-organismes "résistants" à ces molécules, voire capables de les métaboliser (e.g. Wang et al., 2007). Ce constat vaut également pour ceux de la classe des sulfonyle-urées (e.g. Braschi et al., 2000).

#### *Effets sur les bactéries*

Les travaux de La Rossa et al. (1987) ont montré que les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* étaient sensibles à l'herbicide sulfométuron-méthyl, et que cette sensibilité était liée à l'accumulation d'alpha-cétobutyrate, résultant de l'inhibition de l'enzyme acétolactate synthase (ALS), cible de l'herbicide. Une même conclusion est proposée par Allievi et Gigliotti (2001) pour expliquer la toxicité de l'herbicide cinosulfuron sur certaines bactéries à de très hautes doses (100 mg/l). Ces derniers ont en revanche montré que cet herbicide n'affecte pas, *in vitro*, la croissance de bactéries de collection ou d'origine tellurique aux doses utilisées aux champs. Cependant, pour les communautés de bactéries nitrifiantes (dites aussi *ammonium oxidizing bacteria* ou AOB, et transformant l'ammonium en nitrite puis nitrate), l'activité de nitrification et la respiration microbienne totale sont réduites lors d'expériences réalisées sur deux sols différents, y compris aux doses agronomiques (soit environ 40 µg/kg de sol), démontrant un effet délétère potentiel de cette sulfonyle-urée sur le fonctionnement microbien de l'écosystème sol, et particulièrement sur certaines étapes du cycle de l'azote.

Par ailleurs, une étude importante (Forlani et al., 1995) fait le point sur la sensibilité aux herbicides des familles imidazolinones et sulfonyle-urées, de bactéries associées aux végétaux. Dix-huit isolats ont été exposés *in vitro* à des concentrations similaires à celles utilisées aux champs d'imazapyr (100 µM), d'imazethapyr (100 µM), de chlorsulfuron (3µM), et de rimsulfuron (3 µM). Le temps de génération a ensuite été mesuré par rapport à une expérience contrôle réalisée sans herbicide. Les souches appartenant aux genres et espèces principalement saprophytes *Bacillus licheniformis*, *B. megatherium*, *B. pumilus*, *Enterobacter sakazakii*, *E. agglomerans*, *E. cloacae*, *Pseudomonas maltophilia*, *P. vesicularis*, *P. paucimobilis* et *Serratia plymuthica*, semblent insensibles à la présence des herbicides testés. Il en est de même pour les fixateurs libres d'azote atmosphérique de l'espèce *Azotobacter chroococcum*.

En revanche, certaines des souches d'un autre fixateur libre d'azote, rhizobactéries favorisant la croissance de plantes (dites *plant growth promotin rhizobacteria* ou PGPR) et appartenant à l'espèce *Azospirillum lipoferum* présentent une sensibilité aux deux sulfonyle-urées testées. Il en est de même pour les souches appartenant à l'espèce saprophyte *Pseudomonas luteola* dont la croissance est très sensiblement ralentie en présence de ces sulfonyle-urées. De façon remarquable, la souche de *Bacillus subtilis* analysée présente, elle, une sensibilité aux deux imidazolinones étudiées, alors que celle de *Bacillus circulans* n'est affectée que par le seul imazapyr. On retrouve donc au sein du même genre, voire de la même espèce, des souches qui peuvent être sensibles à un herbicide ou à une famille d'herbicides, ou non.

D'une façon globale, il existe une bonne corrélation entre la sensibilité de l'enzyme ALS et la résistance des micro-organismes (mesurée par la DL 50) à un herbicide. Ces mesures de colonisation racinaire effectuées en sol ont révélé que les souches sensibles à un ou plusieurs herbicides présentent soit des retards, soit une capacité réduite, à coloniser les racines des végétaux. Ces mesures ont également révélé que la population de souches sensibles colonisant efficacement la rhizosphère de végétaux en l'absence d'herbicides peut se trouver déplacée par des souches d'un genre et/ou d'une espèce différente en présence d'herbicides. Cette observation est particulièrement importante lorsque les souches déplacées appartiennent à des espèces bénéfiques pour la croissance des végétaux, tels qu'*Azospirillum*.

L'effet d'inhibition de croissance de bactéries aérobies par certaines sulfonyle-urées a été confirmé par He et al. (2006). Parmi les communautés bactériennes dont la croissance est affectée par le metsulfuron-méthyle, se trouvent celles groupant des micro-organismes capables de dégrader des composés aromatiques. En termes de densité de populations, celle des fixateurs libres d'azote *Azotobacter sp.* diminue après application de l'herbicide (alors que ces bactéries semblaient insensibles au chlorsulfuron et rimsulfuron, voir ci-dessus), comme diminuent aussi celles des sulfato-réducteurs et des sulfoxydants. De plus, l'application de l'herbicide réduit le niveau des

activités enzymatiques hydrogène peroxydase et polyphénol oxydase mesurées en sols, ce qui pourrait traduire une moindre résistance de certains micro-organismes aux stress oxydatifs ou chimiques.

#### *Effets sur les champignons*

L'étude de He et al. (2006) a également porté sur les populations fongiques résistantes au metsulfuron-méthyle, dont la densité augmente dans les sols traités, en même temps que diminue celle des actinomycètes, l'un des groupes bactériens producteurs de nombreuses molécules antifongiques. Cette observation pourrait expliquer les observations de Smiley et Wilkins (1992) présentées ci-dessous.

Des sols traités par du chlorsulfuron et du metsulfuron-méthyle ont été volontairement contaminés par des souches des champignons phytopathogènes *Rhizoctonia solani* et *R. oryzae*, et l'effet sur le développement et les symptômes de la maladie (pourriture racinaire) ont été étudiés sur du blé d'hiver, sous serre (Smiley et Wilkins, 1992). Les plantes qui se sont développées dans les sols traités ont présenté des symptômes racinaires plus sévères, et une croissance plus réduite que les plantes qui se sont développées en sol non traités, sans que les mécanismes en cause ne soient précisés par ces auteurs. Par ailleurs, Allievi et Gigliotti (2001) ont montré que le cinosulfuron n'affecte pas, *in vitro*, la croissance de champignons de collection ou d'origine tellurique aux doses utilisées aux champs.

Une étude plus récente (Stuart et al., 2010) s'est aussi intéressée aux populations fongiques, et plus précisément aux endophytes colonisant deux lignées de canne à sucre, une sauvage et l'autre génétiquement modifiée exprimant une acétolactate synthase lui conférant une tolérance aux imidazolinones. Les analyses ont été effectuées trois mois et dix mois après plantation des cannes à sucre. Elles ont révélé l'existence de faibles différences de colonisation entre les lignées sauvages et transgéniques, mais des différences de colonisation plus importantes entre lignées transgéniques non traitées par l'imazapyr et traitées par cet herbicide. Dans ce dernier cas (traitement imazapyr), on observe la disparition de souches appartenant, ou voisines des genres et espèces *Cochliobolus homomorphus*, *Xylkaria sp.* et *Ampelomyces sp.* (famille des *Leptosphaeriaceae*). A l'inverse, on observe l'apparition de deux champignons endophytes non identifiés de la famille des *Magnapothaceae* et de souches de *Paecilomyces fumosoroseus*. Certains de ces genres ou espèces regroupent des pathogènes de végétaux ou d'insectes. Ceci suggère que les équilibres microbiologiques affectés par le traitement herbicide pourraient induire à leur tour des déséquilibres écologiques affectant des organismes n'appartenant plus au "monde microbien".

#### **3.3.1.8.4. Herbicides des classes C**

##### *Le cas de l'atrazine (classe C1)*

Sur les micro-organismes telluriques, le nombre de références issues d'une recherche bibliographique croisant les mots clés indiqués à la section 3.3.1.7.1 et le terme atrazine, s'élève à plusieurs centaines. Cependant, la plupart des travaux ayant concerné l'atrazine se rapporte à la dégradation de ce composé (e.g. Govantes et al., 2010) et à l'adaptation qu'elle implique en matière de métabolisme des micro-organismes (e.g. Seffernick et Wackett, 2001). Ainsi des sols non ou très faiblement exposés à l'atrazine présentent une activité de minéralisation nulle ou réduite (Barriuso et Houot, 1996), alors que ceux exposés à des applications continues de cet herbicide présentent en général une activité rapide de minéralisation (Martin-Laurent et al., 2004), ce qui suggère fortement que cette molécule exerce une pression de sélection telle qu'elle peut affecter les fonctions métaboliques microbiennes.

Quelques travaux ont cependant porté sur l'effet de ce composé sur les populations microbiennes des sols. Ainsi, Seghers et al. (2003) ont étudié les modifications de la microflore bactérienne (cultivable ou non) issue d'un sol agricole cultivé en maïs ayant été exposé pendant 20 ans à un traitement par de l'atrazine (750 g/ha), par comparaison à la microflore bactérienne issue du même sol portant les mêmes maïs, mais avec un désherbage assuré manuellement. Le traitement par l'atrazine ne semble pas avoir affecté de façon marquée la densité et la structure des populations d'Acidobactéries, qui constituent une des composantes principales des sols agricoles, aux fonctions encore méconnues (Buée et al., 2010). Un résultat analogue a été observé pour les Actinomycètes, bactéries particulièrement importantes en regard de leur capacité à produire des antibiotiques et des antifongiques et à dégrader la chitine, ainsi que pour les bactéries oxydant l'ammonium (ou AOB), importantes, elles, dans le cycle de l'azote. Ce résultat diffère de celui obtenu par Chang et al. (2001) qui ont observé une

modification de la structure de cette communauté en réponse à l'atrazine. Ces auteurs ont en revanche utilisé des doses massives de cet herbicide (2 t/ha), ne correspondant pas à un usage agricole. Seghers et al. (2003) rapportent par ailleurs que l'atrazine utilisée à la dose de 750 g/ha affecte sensiblement la structure de la communauté des méthanotrophes (bactéries oxydant le méthane et l'utilisant comme source de carbone), sans que cette modification ne change l'activité globale d'oxydation du méthane du sol.

Les travaux de Hu et al. (2005) semblent indiquer que l'atrazine à la dose de 50 mg / kg de sol semble provoquer un accroissement de la densité cellulaire des bactéries et des champignons, ainsi qu'une activation de leur métabolisme mesuré par le biais de la respiration. La validité de ces travaux n'a pu être expertisée, la publication étant rédigée en chinois. L'analyse de la diversité bactérienne révélerait en revanche que celle-ci décroît en présence de cet herbicide, en accord avec l'existence d'un processus de sélection de micro-organismes dégradeurs.

Sur les micro-organismes aquatiques, Downing et al. (2004) ont étudié l'effet de l'atrazine et d'autres composés sur les assemblages microbiens des "wetlands" en Floride, particulièrement au niveau des canaux de drainage. A la concentration de 200 µg/l, l'atrazine réduit la biomasse bactérienne d'environ 20% mais stimule l'incorporation de leucine d'un facteur 10 par la microflore bactérienne. A cette même concentration, cet herbicide réduit de 60% la fixation du carbone dans les micro-algues et les bactéries photosynthétiques, et réduit également la biomasse micro-algale. Dans ces milieux aquatiques, le principal problème posé par l'atrazine reste la diminution de la concentration d'oxygène dissous (Solomon et al., 1996). L'origine de l'atrazine dans ces zones est liée au ruissellement affectant des surfaces traitées. Il est néanmoins important de mentionner que ce composé a pu être aussi détecté dans les précipitations de printemps et d'été à raison de 445 ng/l en Ontario au début des années 90, probablement en lien avec la formation d'aérosols ou l'érosion éolienne du sol (Hall et al., 1993).

#### *Le cas du bromoxynil (classe C3)*

Comme pour l'atrazine, la plupart des travaux ayant concerné les micro-organismes du sol et le bromoxynil ont porté sur la dégradation de cette molécule. L'effet de cet herbicide sur la microflore bactérienne - dégradatrice ou non - a cependant été étudié par Baxter et Cummings (2008). Utilisant un sol de surface, ces auteurs ont observé la dégradation rapide de l'herbicide. La présence de 50 mg de bromoxynil par kilo de sol induit la sélection de bactéries des genres *Xylolla* et *Ralstonia* qui regroupent de nombreux pathogènes de végétaux, et la diminution voire la disparition de membres des genres *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Actinomyces* et *Streptomyces sp.*, genres généralement saprophytes ou bénéfiques à la croissance des plantes. En revanche, la densité cellulaire des AOB détectées dans les sols augmente d'un facteur maximum de quatre après deux ou trois traitements de ces sols par cet herbicide, à raison de 50 mg de bromoxynil par kilo de sol. Cependant, aucun effet du bromoxynil sur les AOB n'avait été observé dans une étude précédente (Pampulha et Oliveira, 2006).

De façon notable, la capacité de dégradation de l'herbicide diminue avec la multiplication des applications, possiblement en lien avec la toxicité de produits de dégradation pour la microflore. En accord avec ces observations, la dégradation du bromoxynil par une souche tellurique de *Variovorax* conduit à la formation rapide d'un composé halogéné, non dégradable (Nielsen et al., 2007). Une observation similaire a été effectuée sur des souches de *Rhodococcus* et de *Nocardia* (Vesela et al., 2010). Par ailleurs, la dégradation du bromoxynil à fortes concentrations semble nécessiter l'apport d'une source de carbone exogène (Baxter et Cummings, 2006). Ainsi un amendement en glucose de sols contaminés par cet herbicide induit une modification des communautés microbiennes, associée à l'accroissement de la capacité à dégrader cette molécule.

L'effet du bromoxynil a également été étudié en association avec du prosulfuron (une sulfonyle-urée), une combinaison d'herbicides utilisée au champ. Les résultats observés (Pampulha et Oliveira, 2006) montrent une augmentation de la densité bactérienne au cours des premiers jours post-application, suivie d'une diminution et d'un retour à un état proche de l'état d'équilibre au-delà de 40 jours post-application, pour des concentrations de 1 à 10 ppm. En revanche, des concentrations plus fortes induisent à cette même date une diminution de la densité cellulaire bactérienne. La combinaison d'herbicides utilisée induit également une baisse sensible et rémanente au-delà des 40 jours de l'expérience, de la densité des champignons telluriques, y compris à la dose de 1 ppm. Un effet similaire est observé pour les actinomycètes aux doses de 10 et 100 ppm. En revanche, les bactéries cellulotiques, particulièrement importantes en matière de recyclage du carbone, voient leur population diminuer de plusieurs logs très rapidement après traitement pour les trois doses utilisées (1, 10, et 100 ppm) pour revenir à un état d'équilibre 40 jours après traitement.

### 3.3.1.8.5. Herbicide de la classe G : le cas du glyphosate

Il est généralement admis que les traitements de cultures par le glyphosate n'ont pas de conséquences en termes de biomasse et de diversité microbiennes des sols, ni en termes d'activité respiratoire enzymatique de ces mêmes sols (revue de Kremer et Mean, 2009). Si cette assertion est vraie au niveau macroscopique ou à celui de la microflore considérée dans son ensemble, elle ne l'est plus au niveau de chacun des constituants de cette microflore. Ainsi, une étude récente (Zobiolo et al., 2011) s'est intéressée aux effets du glyphosate sur les micro-organismes qui colonisent le système racinaire de soja transgénique tolérant au glyphosate par expression d'une cible modifiée (il s'agit de lignées exprimant l'enzyme EPSP synthase d'*Agrobacterium* insensible à cet herbicide). L'expérience réalisée sur des cultivars différents et à trois doses de glyphosate différentes (800, 1200, et 2400 g par hectare) a révélé une augmentation de la densité des champignons du genre *Fusarium*, pouvant atteindre un facteur six, possiblement en lien avec l'augmentation de l'exsudation de glucides et d'acides aminés dans les plantes traitées par le glyphosate (Kremer et al., 2005).

#### *Effet sur les interactions entre micro-organismes*

En lien avec l'observation mentionnée ci-dessus, Harper (2007), cité dans Zobiolo et al. (2011), rapporte que les cultivateurs de coton australiens et américains ont noté une résurgence des fusarioses depuis l'introduction de lignées de coton RoundUp Ready®. Cet effet pourrait être lié à la diminution de la densité cellulaire des bactéries associées aux racines produisant de l'auxine. En effet, celles-ci appartiennent le plus souvent au genre *Pseudomonas*, dont de nombreux membres présentent également la capacité de produire plusieurs composés antifongiques. Or l'étude de Zobiolo et al. (2011) révèle que la présence de glyphosate conduit à la diminution des populations de producteurs d'auxine, donc de *Pseudomonas*, de plus d'un demi  $\log_{10}$  à la concentration de 2400 g par hectare. La relation entre décroissance de populations de *Pseudomonas* et accroissement de celle de *Fusarium* sur le soja avait été établie préalablement par Kremer et Mean (2009).

Un accroissement d'autres maladies fongiques a également été détecté sur des céréales plantées immédiatement après un traitement de parcelles par le glyphosate (Smiley et al., 1992), ou sur le tournesol après traitement de parcelles cultivées en haricots par du glyphosate (Descalzo et al., 1998). Par ailleurs, les faibles doses d'auxine produites par certaines bactéries associées à la rhizosphère de plantes permettent de stimuler la croissance du système racinaire des végétaux et donc de favoriser leur nutrition minérale et hydrique (d'où le nom de "*plant growth promoting rhizobacteria*" ou PGPR donné à ces bactéries). En lien avec ce qui précède, le poids sec du système racinaire des végétaux traités par le glyphosate décroît de 20 à presque 70% selon les doses utilisées et les périodes de traitement (Zobiolo et al., 2011).

Des PGPR autres que les symbiotes fixateurs d'azote du soja peuvent aussi présenter une sensibilité au glyphosate. Ainsi une souche appartenant au genre *Klebsiella*, produisant des composés antifongiques, des chélateurs/transporteurs de fer (sidérophores), et de l'auxine en faible quantité, voit sa capacité de solubiliser le phosphate divisé par trois en présence de concentrations "agronomiques" de glyphosate, et presque par 10 à des doses trois fois supérieures aux doses agronomiques. Sa production de sidérophores (chélateurs et transporteurs de fer) est réduite de 30 à 40% en présence de concentrations agronomiques de glyphosate, et de 50 à 70% à des doses trois fois supérieures aux doses agronomiques (Ahemad et Khan, 2011). A l'inverse, les travaux de Keum et al. (2010) ont montré que la production de pyrrolnitrine, molécule halogénée aux propriétés antibactériennes et antifongiques, pouvait être stimulée en présence de glyphosate.

#### *Effet sur les fixateurs d'azote symbiotiques*

Le soja, une des principales variétés RoundUp Ready®, présente comme toute légumineuse la caractéristique de former avec certains partenaires bactériens des symbioses fixatrices d'azote dont le siège est la nodosité, excroissance apparaissant sur les racines de la plante. Cette fixation d'azote peut contribuer à hauteur de 40 à 70% à la nutrition azotée nécessaire à la croissance du soja durant sa période de culture (Zablotowicz et Reddy, 2007). Les travaux de Kremer et Mean (2009) ont révélé que l'activité de nodulation (déterminée par la masse totale des nodosités) de lignées de soja tolérantes au glyphosate est plus faible de 25% que celle de lignées non tolérantes en l'absence d'herbicides (désherbage manuel). Un résultat similaire (baisse de 25%) a été observé pour des lignées tolérantes lors du dénombrement des nodosités effectué en l'absence de traitement, ou après un ou deux traitements au glyphosate (Reddy et Zablotowicz, 2003), sans que le traitement par le glyphosate induise une baisse de rendement en graines. Kremer et Mean (2009) suggèrent que ce phénomène résulte de la

présence d'azote "minéral" en abondance dans les parcelles cultivées, et que les lignées RoundUp Ready® pourraient donc être davantage dépendantes de fertilisations azotées que les lignées non tolérantes. D'une façon générale, le glyphosate affecte la croissance de très nombreuses bactéries appartenant au genre *Rhizobium* (Zabaloy et Gomez, 2005). Le lecteur qui souhaiterait davantage d'informations sur les interactions entre le traitement par le glyphosate, et la physiologie, la nutrition et les maladies des plantes peut se référer au numéro spécial de European Journal of Agronomy (Kremer et al., 2009) consacré à ces questions.

#### *Effet sur les micro-organismes aquatiques*

La présence d'herbicides étant constatée en sol mais également en eaux de surface et souterraines, il est justifié de s'intéresser à l'effet du glyphosate sur les micro-organismes retrouvés dans ces eaux. L'effet de la formulation commerciale RoundUp 360SL sur sept genres de bactéries photosynthétiques et sur la micro-algue *Chlorella vulgaris* a ainsi été étudié en eau douce par Lipok et al. (2010). D'une manière générale, la formulation commerciale présente une toxicité supérieure à celle de ses constituants (glyphosate et isopropylamine) pris isolément. L'examen de l'EC50 (demi concentration effective maximale) du RoundUp 360SL s'établit ainsi entre 4 et 120  $\mu\text{M}$  pour les bactéries photosynthétiques et à 150  $\mu\text{M}$  pour la chlorelle, ces valeurs étant pour le glyphosate seul comprises entre 1 et 10 mM pour les procaryotes et de 1,7 mM pour la chlorelle. Ces valeurs restent très supérieures aux valeurs habituellement retrouvées dans les eaux douces, qui excèdent rarement quelques  $\mu\text{g/l}$  (Pesce et al., 2009) (note : 20  $\mu\text{g/l}$  de glyphosate correspondent à une concentration d'environ 0,1  $\mu\text{M}$ ). Cependant, les travaux de Stachowski-Haberkorn et al. (2008) ont révélé que de faibles concentrations de glyphosate (1 et 10  $\mu\text{g/l}$ ) pouvaient affecter la structure des populations bactériennes marines de zones côtières, alors que ces mêmes concentrations ne semblent pas affecter les micros-algues de ces mêmes zones. A l'inverse, la structure des populations micro-algales d'eau douce est affectée à la concentration de 10  $\mu\text{g/l}$  dans l'étude de Pesce et al. (2009). L'intérêt de ces deux dernières études est d'avoir été menées par une approche globale, ne nécessitant pas de mise en culture, et ne ciblant pas un ou quelques micro-organismes en particulier.

#### **3.3.1.8.6. Herbicide de la classe H : le cas du glufosinate**

Plus de 95% des données publiées sélectionnées par le biais de l'équation de recherche déjà rappelée concernent l'obtention de lignées végétales tolérantes à cet herbicide, ou l'identification de souches microbiennes capables de dégrader l'herbicide. Quelques publications se sont cependant intéressées aux effets du glufosinate (ou phosphinothricine) sur des populations microbiennes bien ciblées.

Ainsi, les travaux de Tubajika et Damann (2002) montrent, qu'*in vitro*, le glufosinate aux doses de 2 à 2000  $\mu\text{g/mL}$  inhibe la croissance d'*Aspergillus flavus* (biomasse) et la production de l'aflatoxine B1, de 17 à 97% et de 39 à 90%, respectivement. De même, la sensibilité d'une souche de *Rhizobium meliloti* à cet herbicide a été évaluée *in vitro*. La croissance de la souche est fortement ralentie en présence de 20  $\mu\text{g/ml}$  de la molécule, et ne "démarré" en culture qu'après une latence de l'ordre de deux jours, probablement en liaison avec l'apparition de mutants résistants. Un phénomène similaire (retard de croissance) a été observé en sols ; il est plus marqué en sols stérilisés qu'en sols non stérilisés, probablement en lien avec la capacité de certains micro-organismes de ces sols non stérilisés de dégrader le glufosinate. La nodulation de la plante hôte *Medicago sativa* induite par *R. meliloti* a également été étudiée, au moyen de plantes tolérantes au glufosinate. Une réduction du nombre de plantes présentant des nodules de 30% a été observée en présence d'herbicides, *in vitro*. Une réduction de plus de 50% du nombre de nodosités par plante est également rapportée, en présence de l'herbicide en sol stérile, alors que celui-ci n'a aucun effet en sol non stérile. Cependant, la réduction du nombre de plantes nodulées ou du nombre de nodules par plante n'est pas corrélée à une diminution de la capacité fixatrice d'azote de ces nodosités (Kriete et Broer, 1996).

Ahmad et Malloch (1995) ont observé l'effet de concentrations fortes (1 à 10 mM) de glufosinate sur certains composants de la microflore tellurique dans 12 sols "agricoles" d'origine nord-américaine. Ils décrivent une réduction de 40 à 70% du nombre de bactéries cultivables, en fonction de l'origine des sols, qui affecte les différents groupes bactériens à l'exception des actinomycètes. Chez les champignons, plusieurs présentent une relative insensibilité au glufosinate (ex. *Mortierella* sp, *Verticillium albo-atrum*), alors que d'autres sont fortement inhibés dès la concentration de 1 mM (ex. *Paecilomyces marquandii*, *Trichoderma longipilus*). A noter que le genre *Verticillium* regroupe plusieurs espèces phytopathogènes, dont *Verticillium dahliae* et *V. albo-atrum*, agents de la verticilliose du houblon, de la tomate, de l'aubergine, de la pomme de terre, ou du coton. Par ailleurs, la nature des sols influe probablement sur la résistance à cet herbicide. En effet, les travaux de Ramos et al. (1991)



portant sur des sols espagnols exposés à la même dose de glufosinate que celle utilisée par Ahmad et Malloch ont montré l'absence quasi complète de bactéries résistantes à cet herbicide.

Plus récemment, Schmalenberger et Tebbe (2002) ont comparé les populations bactériennes qui colonisent le système racinaire de maïs tolérants (LibertyLink®) ou non (lignée parente "Bosphore") au glufosinate par une approche indépendante de la culture des micro-organismes. La comparaison des profils de colonisation du système racinaire des lignées Bosphore et LibertyLink® après traitement (aux doses agronomiques) par des herbicides conventionnels (terbutylazine et bentazon ; puis nicosulfuron), avec celui de la lignée LibertyLink® traitée par le glufosinate ne fait pas ressortir de différences de colonisation microbienne 35 et 70 jours après semis. En revanche, les profils de colonisation observés à 35 jours diffèrent des profils de colonisation à 70 jours, indiquant que le stade de développement du végétal affecte de façon plus marquée la microflore bactérienne que ne le fait le traitement au glufosinate.

#### 3.3.1.8.7. Herbicide de la classe O : le cas du dicamba

Très peu d'articles traitant de l'effet du dicamba sur les populations microbiennes des sols sont disponibles. Un de ceux-ci rapporte néanmoins une inhibition de croissance du fixateur d'azote libre *Azospirillum brasilense* pour des doses de dicamba s'échelonnant entre 50 et 500 µg/ml (Martinez-Toledo et al., 1990). Cette inhibition est beaucoup plus marquée sur milieux dépourvus d'ammonium, dans lesquelles *Azospirillum* doit activer sa nitrogénase pour se développer. L'activité nitrogénase est d'ailleurs fortement inhibée par les herbicides du groupe des acides benzoïques, une donnée à prendre en considération, compte tenu de l'association préférentielle de ces bactéries avec les racines de plusieurs céréales de grande culture, telles que le blé.

Les données publiées par Zabaloy et Gómez (2005) indiquent que le dicamba n'affecte pas, *in vitro*, à la dose de 200 mg/l, la croissance de plusieurs souches de *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, et *Bradyrhizobium*, à la différence d'herbicides appartenant à d'autres classes tels que le glyphosate (classe H), l'atrazine (classe C1) ou le metsulfuron méthyle (classe B).

Par ailleurs, le dicamba n'inhibe pas la croissance du champignon phytopathogène *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* à des doses 10 fois supérieures aux doses agricoles recommandées (Mekwatanakarn et Sivasithamparam, 1987), et son usage peut conduire à une augmentation de la croissance du champignon phytopathogène *Bipolaris sorokiniana*, agent du dépérissement foliaire de plusieurs céréales, sur le pâturin des prés, espèce adventice commune (Hodges, 1994).

#### 3.3.1.8.8. Herbicides des autres classes

L'effet des tricétones sulcotrione et mésotrione (classe F2) sur les populations microbiennes a été étudié au laboratoire, sur la bactérie bioluminescente *Photobacterium fisheri* (ex. *Vibrio fischeri*). L'atténuation de la luminescence est utilisée dans le cadre d'un test écotoxicologique (dit test Microtox), comme marqueur d'un impact d'un toxique sur le métabolisme microbien. Les travaux de Bonet et al. (2008) ont montré la forte influence du pH dans l'impact sur le métabolisme microbien des herbicides testés. A pH neutre, les formulations commerciales (Mikado et Callisto) ont présenté une toxicité 2 et 80 fois plus élevée que les seules molécules actives (sulcotrione et mésotrione, respectivement) utilisées à concentrations équivalentes. Par ailleurs, la toxicité des deux métabolites principaux de la sulcotrione, l'acide 2-chloro-4-méthylsulfonylbenzoïc (CMBA) et le 1,3-cyclohexanedione (CHD) est supérieure à celle de la molécule mère. Cette observation n'est pas généralisable. Dans le cas de la mésotrione, l'un des deux métabolites principaux est plus toxique que la molécule mère, alors que le second l'est moins.

Enfin, une comparaison intéressante de l'effet des herbicides sur un micro-organisme modèle a été réalisée par Botsford (1997). Les travaux de cet auteur ont porté sur la survie de souches de *Rhizobium* sp. en présence de différents herbicides. Les résultats sont résumés dans le Tableau 3-31. Comme on l'a vu plus haut, cette bactérie est le symbionte responsable de la formation de nodosités fixatrices d'azote chez diverses légumineuses. L'action des herbicides sur ce groupe microbien peut donc entraîner des effets délétères en matière de fonctionnement du cycle de l'azote.

**Tableau 3.32.** Effet de différentes molécules herbicides sur la survie de *Rhizobium sp.* (Botsford, 1997)

| Classe | Famille                      | Nom de l'herbicide | DL50(a) |
|--------|------------------------------|--------------------|---------|
| A      | Aryloxyphenoxy-propionate    | Fluazifop-p-butyl  | >1200   |
|        | Cyclohexanedione             | Sethoxydime        | 3       |
| B      | Imidazolinone                | Imazapyr           | 229     |
|        |                              | Imazethapyr        | 353     |
|        | Sulfonyl-urée                | Metsulfuron        | >1200   |
|        |                              | Nicosulfuron       | 267     |
|        |                              | Primisulfuron      | 269     |
|        |                              | Thifensulfuron     | 928     |
| C1     | Triazinone                   | Metribuzine        | >1200   |
|        | Triazine                     | Cyanazine          | 245     |
| C2     | Urée                         | Diuron             | 87      |
| C3     | Nitrile                      | Bromoxnyl          | 26      |
| D      | Bipyridylum                  | Paraquat           | 48      |
| E      | Oxadiazole                   | Oxadiazone         | 269     |
| G      | Glycine                      | Glyphosate         | 18      |
| K1     | Acide benzoïque              | DCPA               | 427     |
|        |                              | Dicamba            | >1200   |
|        | Dinitroaniline               | Ethalfuraline      | >1200   |
|        |                              | Trifluratine       | 10      |
|        | Pyridine                     | Thaizopyr          | 150     |
| K3     | Acetamide                    | Napropamide        | 289     |
|        | Chloracétamide               | Alachlor           | 111     |
| L      | Benzamide                    | Isoxaben           | 365     |
|        | Acide quinoline carboxylique | Quinoclorac        | >1200   |
| N      | Phosphorodithioate           | Bensulide          | 54      |
|        | Thiocarbamate                | EPTC               | 1650    |
| O      | Acide phenoxy-carboxylique   | 2,4 D              | 347     |

(a) la DL50 est définie comme la dose (en ppm) à laquelle une survie bactérienne de 50% est observée. Les valeurs ont été arrondies au ppm supérieur.

### 3.3.1.8.9. Conclusions

Bien qu'elle ne soit pas exhaustive, plusieurs conclusions peuvent être tirées de cette section ciblant les effets non intentionnels des herbicides sur les micro-organismes. La première est qu'à l'exception du cas du glyphosate, peu d'études ont abordé ces questions, et très peu l'ont fait en utilisant les outils modernes de l'écologie microbienne moléculaire, permettant de s'affranchir du biais lié à la "cultivabilité" des micro-organismes. Pourtant, l'existence établie de méthodes permettant l'analyse des populations fondées sur la diversité des séquences des opérons ribosomiques, et l'utilisation de "puces" taxonomiques ou des techniques de métagénomique ou de séquençage à haut débit (Sørensen et al., 2010), devraient permettre ce type d'étude. Il en découle que les résultats analysés sont fragmentaires, car ils ne concernent pour la plupart que des groupes microbiens cultivables, dont on a vu qu'ils ne représentent qu'une fraction mineure de la diversité microbienne (Buée et al., 2010). Une éventualité pourrait être d'inclure ce type d'analyse d'impact environnemental fin lors des études d'écotoxicité faites en amont de la mise sur le marché des molécules actives, même si les liens entre diversité microbienne et fonctions écologiques d'importance restent une "boîte noire" de l'écologie microbienne, et que peu des travaux présentés plus haut ont concerné de telles fonctions.

Une deuxième conclusion porte sur le fait que même aux doses agronomiques prescrites, des effets sur la viabilité – et donc la densité cellulaire - de certains micro-organismes sont perceptibles, bien qu'une résilience du système soit notée dans bon nombre de cas (voir par exemple le cas des cellulolitiques exposés au bromoxnyl). A ces mêmes doses, des effets globaux sur certaines activités enzymatiques peuvent être observés, mais ils restent globalement limités. Cependant, il n'en va pas de même pour les effets observés sur une espèce ou un

genre microbien donné (voir ci-dessous), ce qui pose clairement la question de l'identification des "cibles" microbiennes potentielles de l'herbicide, une question récurrente au-delà du cas des herbicides, en termes d'évaluation d'impact écologique.

Une troisième conclusion importante est fournie par l'examen du Tableau 3-32. Bien que celui-ci ne porte que sur une souche modèle, on constate que des molécules appartenant à la même classe mais à des familles différentes peuvent présenter des effets opposés sur la viabilité du micro-organisme (ex. les deux molécules de la classe A étudiées). Par ailleurs, ce phénomène peut aussi être observé au sein d'une même classe pour une même famille de molécules (ex. dinitroanilines, classe K1). Chez les micro-organismes, il arrive fréquemment que les enzymes cibles des herbicides soient résistantes à ces molécules. Les phénomènes décrits plus haut suggèrent donc que chez les micro-organismes, l'herbicide pourrait avoir des cibles différentes de celles des végétaux, et peut-être pas uniques. Cette hypothèse est soutenue par le fait que l'activité nitrogénase d'*Azospirillum* est fortement inhibée par les herbicides du groupe des acides benzoïques. De plus, l'ensemble des données montre qu'il est donc impossible de généraliser les résultats obtenus pour une molécule à des molécules voisines, y compris à des molécules de la même classe. En termes d'impact des herbicides sur la microflore, la situation est celle du "cas par cas". Cette notion est d'autant plus importante que l'on a vu que les résultats obtenus pour un même herbicide et une même "cible" microbienne potentielle diffèrent selon l'origine, et donc la nature du sol (voir le cas du glufosinate). Il est également impossible de généraliser les conclusions obtenues pour un herbicide donné sur un genre microbien à toutes ses espèces, comme en attestent les travaux menés sur les imidazolinones imazapyr et d'imazethapyr (classe B).

Une quatrième conclusion porte sur les différences, en termes d'impact, qui ont pu être observées entre la molécule active seule, et la formulation commerciale, comme cela a été mis en évidence dans le cas du glyphosate, dont la formulation commerciale (qui contient de l'isopropylamine) présente une toxicité supérieure à celle de la seule molécule active. A l'évidence, des études d'impact pourraient être menées sur les formulations commerciales, dont certaines contiennent en particulier des agents mouillants susceptibles d'exercer un effet additionnel sur les populations microbiennes.

Enfin, une dernière conclusion porte sur le fait que des effets directs d'un herbicide sur une cible microbienne donnée peuvent entraîner des conséquences sur d'autres cibles microbiennes, voire sur des cibles n'appartenant pas au monde microbien. Cette conclusion est soutenue par les travaux portant sur les endophytes de la canne à sucre exposés aux imidazolinones, et par ceux portant sur les sojas RoundUp Ready®, dont la culture entraîne une baisse de la densité de micro-organismes antagonistes de champignons, et par voie de conséquence un accroissement de la densité de certains champignons, dont les *Fusarium*, avec un accroissement de l'incidence des fusarioses sur les plantes cultivées, dénotant pas là même la complexité des relations qui s'établissent à l'interface sol – plantes – micro-organismes.

### 3.3.1.9. Conclusion

L'utilisation d'herbicides a conduit de manière directe à une diminution de la banque de graines du sol, une baisse de diversité et d'abondance des plantes adventices des cultures. Même si quelques cas de toxicité directe ont été mis en évidence, les effets des herbicides sur la faune sont majoritairement indirects. Les espèces d'insectes qui dépendent de certaines espèces de plantes, notamment durant leur phase larvaire, ont par voie de conséquence connu un déclin. D'autres espèces de la chaîne trophique comme les vertébrés et notamment les oiseaux sont affectées par ces réductions.

Le recours à la modélisation est indispensable pour mieux évaluer la part des impacts des herbicides sur la biodiversité, mais surtout pour prédire les effets à long terme. Ainsi une application tardive dans le cas des VTH, qui pourrait être favorable à court terme pour la biodiversité l'est moins à plus long terme. Les modèles confirment l'effet indirect des herbicides sur les oiseaux, la perte des habitats et de sites de nourriture consécutifs à l'emploi des herbicides étant le facteur principal de la perte de biodiversité.

### 3.3.2. Perturbation physique du milieu et impact sur bioagresseurs et composantes biotiques non nuisibles

Nathalie Colbach<sup>13</sup>

Cette partie étudie l'impact des modifications de pratiques agricoles associées aux VTH sur des composantes biotiques du champ cultivé autres que les adventices. Elle se concentre sur les perturbations physiques du milieu, particulièrement du sol, et traite donc essentiellement des conséquences de la simplification voire de l'abandon du travail du sol rendu possible par les VTH et, dans une moindre mesure, sur les mulchs vivants qui deviennent possibles en cas d'absence de travail du sol. Parmi les composantes biotiques, on distinguera d'une part les bioagresseurs des cultures autres que les adventices, et d'autre part des composantes non nuisibles ou même favorables pour les cultures. Cette section ne sera pas une étude exhaustive de toutes les composantes biotiques mais traitera de quelques exemples de bioagresseurs puis de composantes non nuisibles. Ces exemples ne seront pas non plus basés sur une analyse exhaustive de la littérature; il s'agit d'exemple de composantes biotiques apparaissant à différentes guildes (champignons, insectes etc.) réagissant fortement aux changements de pratiques agricoles et/ou étant liant aux adventices. Les publications utilisées ne concernent que très rarement les VTH.

#### 3.3.2.1. Cas des maladies fongiques

##### 3.3.2.1.1. Effet des différents changements de pratiques

###### *Abandon du labour*

Certains champignons responsables de maladies (ex. *Oculimacula yallundae* et *O. acufiformis*<sup>14</sup>, agents du piétin-verse des céréales; *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, agent du piétin-échaudage du blé; *Leptosphaeria maculans* agent du phoma du colza, etc.) sont influencés par le labour d'une manière similaire aux adventices. En effet, ces champignons survivent en l'absence de plantes hôtes pendant une période limitée sur d'anciens résidus de culture (racines, pied des tiges, etc.) et ils ne peuvent infecter, *via* spores (ex. *Oculimacula* spp., Fitt & Bainbridge, 1983; *L. maculans*, West et al., 2001) ou croissance mycélienne (ex. *G. graminis*, Prew, 1980), leurs nouveaux hôtes uniquement si ces résidus sont proches de la surface du sol (ex. *Oculimacula* spp., Colbach & Meynard, 1995; *L. maculans*, Schneider et al., 2006).

Comme dans le cas des adventices, l'effet du labour dépend de la durée de survie du champignon sur les résidus de culture. Si cette durée est faible (ex. *G. graminis*, un an environ; Walker, 1967; Colbach et al., 1994), un labour *versus* non-labour après une culture hôte (blés et orges) a tendance à réduire la maladie dans un blé suivant, tandis qu'il n'y a pas de différence après d'autres précédents (Colbach, 1994).

Si cette durée est plus longue (ex. *Oculimacula* spp., deux ans ou plus; Macer, 1961a; Macer, 1961b; Colbach et al., 1994), la situation se complique puisque le labour peut remonter d'anciens résidus de culture encore infectieux. L'effet du labour *vs.* non-labour dépend alors de l'histoire culturale : diminution après un blé suivant une culture non-hôte (ex. colza, pois), augmentation après un non-hôte précédé d'un labour et d'un blé (Maenhout, 1975; Colbach & Meynard, 1995; Colbach et al., 1997a). À long terme, l'abandon du labour va cependant toujours augmenter le risque de maladie par rapport à une parcelle régulièrement labourée, puisque les résidus de culture s'accumuleront en surface.

Cet effet du labour ne se limite pas nécessairement à la seule parcelle étudiée. Dans le cas de champignons se dispersant par des spores vers des parcelles voisines (*L. maculans*, West et al., 2001), l'abandon du labour après une culture hôte augmente le risque pour les parcelles voisines portant des cultures hôtes l'année suivante (Lô-Pelzer et al., 2010).

---

<sup>13</sup> Remerciements : pour cette partie, j'ai fait appel ponctuellement à certains collègues hors ESCo VTH que je remercie ici pour leur patience face à mes questions et leur contribution: Elise Lô-Pelzer (INRA Agronomie, Grignon), Sandrine Petit, Aude Trichard et Dominique Jacquin (INRA UMR BGA, Dijon).

<sup>14</sup> autrefois, types W et R de *Pseudocercospora herpotrichoides* (Lucas et al., 2000; Crous et al., 2003)

### *Abandon du travail du sol*

L'augmentation du risque est renforcée lorsque tout travail du sol est abandonné puisque les résidus des cultures porteurs de champignons phytopathogènes et/ou pouvant servir de base nutritive à ces champignons se trouvent alors en position idéale (Cook, 2006). C'est notamment le cas de plusieurs pathogènes racinaires (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae*) dont le développement est favorisé par les conditions plus humides et tempérées sous les résidus de culture (Cook, 2006). Cependant, d'autres expérimentations de longue durée montrent qu'une forte concentration de débris à la surface du sol peut réduire des champignons comme *Oculimacula* spp. (Jenkyn et al., 2010). Il s'agissait essentiellement de paille de céréales (habituellement non infestée par le pathogène qui est installé sous la barre de coupe), qui pourrait soit favoriser une microflore antagoniste au champignon ou simplement constituer une barrière physique aux spores.

### *Mulchs vivants*

*A priori*, on pourrait penser que les mulchs vivants favoriseraient les maladies, notamment telluriques, en créant des conditions hydro-thermiques plus favorables. Cependant, une étude suisse montre une diminution du charbon du maïs (*Ustilago maydis*) dans un maïs semé dans un mulch vivant, ce dernier créant une barrière physique entre les spores du champignon et les nouvelles plantes hôtes potentielles (Bigler et al., 1995b).

### *Extrapolation à d'autres bioagresseurs*

Il en est de même pour de nombreux insectes ravageurs qui sont favorisés par les résidus de culture accumulés à la surface du sol en cas de simplification ou d'abandon du travail du sol, conduisant à une augmentation des applications d'insecticides (Cook, 2006) ; Giere et al, 1980 ; Phillips et al., 1980 ; Triplett et Van Doren, 1977) bien que des exceptions soient mentionnées. Les nématodes semblent cependant être favorisés par le travail du sol (Liphadzi et al., 2005). D'autre part, si des prédateurs de bioagresseurs sont favorisés par l'abandon du travail du sol ou les mulchs vivants, il peut y avoir réduction de ces bioagresseurs (ex. des aphides et de la pyrale du maïs, Bigler et al., 1995b; Bigler et al., 1995a).

### *Semis précoce*

Avancer la date de semis, notamment des cultures d'hiver, favorise certaines maladies telluriques, en laissant aux pathogènes plus de temps pour infecter les cultures avant l'hiver (ex. agent du piétin-verse, Scott et al., 1975; du piétin-échaudage, Prew et al., 1986; Hornby et al., 1990; Polley & Thomas, 1991; Jenkyn et al., 1992; Colbach et al., 1997b; Colbach & Saur, 1998).

#### **3.3.2.1.2. Effet indirect *via* les adventices**

Certaines adventices peuvent aussi être plantes hôtes de maladies infectant les cultures. Par exemple, plusieurs adventices graminées sont hôtes pour l'ergot du seigle (Mantle et al., 1977; Eken et al., 2006) ou le piétin-échaudage du blé (Dulout et al., 1997; Gutteridge et al., 2006). Comme ce type d'adventices est favorisé par l'abandon du labour, cette pratique peut indirectement aussi augmenter le risque de maladies. Cependant, comme la plupart des essais au champ se focalisent sur un type de composantes biologiques (ex. adventices ou maladies), aucune étude rapportant des interactions de ce type dans les essais étudiant l'abandon du labour ou d'autres modifications de pratiques agricoles, n'a été repérée.

#### **3.3.2.1.3. Conclusion**

Globalement, les modifications de pratiques étudiées ici devraient donc s'accompagner d'une augmentation de l'utilisation de fongicides, en traitement de semences (ex. piétin-échaudage) ou sur plante levée (ex. piétin-verse). Il en est de même des autres pesticides, notamment des insecticides. Cependant, les effets cumulatifs de modifications récentes comme l'abandon total du travail du sol ou l'introduction de mulchs vivants sont encore mal connus. Il en est de même des interactions entre bioagresseurs et auxiliaires. Il est donc possible que les augmentations de bioagresseurs ne soient pas aussi importantes que prévues, ou qu'il y ait des nouveaux équilibres entre bioagresseurs et auxiliaires qui s'établissent à long terme, permettant de réguler les maladies, etc.

### 3.3.2.2. Cas de composantes biotiques non nuisibles

Sont rassemblées dans cette partie des informations extraites des différentes publications sur des composantes biotiques non nuisibles du champ cultivé, essentiellement des organismes prédateurs de semences adventices.

#### 3.3.2.2.1. Vers de terre

Le cas des vers de terre est particulièrement intéressant puisque leur présence est très bénéfique aux cultures ; leurs galeries contribuent fortement à augmenter la porosité du sol (Capowiez et al., 2009). De plus, les vers de terre sont prédateurs de semences adventices (Regnier et al., 2008; Schutte et al., 2010).

L'abandon du travail du sol et, dans une moindre mesure, du labour permettrait de favoriser ces vers de terre, bien que des synthèses bibliographiques rapportent des effets contradictoires (Chan, 2001). D'un côté, le labour réduit par exemple les lombrics (House & Parmelee, 1985; Krogh et al., 2007; Pelosi et al., 2009) (et Tableau 3-33), par effet direct mécanique, mais aussi indirectement, en détruisant leurs galeries, en les exposant à la prédation et en éloignant la matière organique leur servant de nourriture. Cependant, le labour peut éventuellement les protéger des effets néfastes de certains herbicides, en les éloignant de la surface du sol (glufosinate ammonium, Krogh et al., 2007). De plus, différentes espèces de lombrics réagissent différemment. Ainsi, l'abondance d'espèces anéciques (creusant profondément) tend à décroître en cas de travail du sol important (notamment de labour), alors que celle des espèces endogéiques peut même augmenter à cause de l'augmentation de la disponibilité en nourriture (voir synthèse de Chan, 2001).

**Tableau 3-33.** Exemple de travaux européens sur l'effet du travail du sol sur les vers de terre  
(extrait de Cunningham et al., 2004)

| Modalités de travail du sol comparées            | Effet  | Pays       | Culture  | Référence                  |
|--|--|------------|--|----------------------------|
| Semis direct vs. labour                          | + de <i>L. terrestris</i>  | Angleterre | Blé d'hiver  | (Edwards, 1977)            |
| Semis direct vs. travail non-inversant et labour | + d'abondance  | Angleterre | Blé d'hiver  | (Edwards & Lofty, 1982)    |
| Chisel vs. labour d'automne                      | + d'abondance  | Finlande   | Céréales de printemps  | (Nuutinen, 1992)           |
| Travail non-inversant vs. labour                 | + d'abondance et de biomasse   | Angleterre | Céréales d'hiver   | (Hutcheon et al., 2001)    |
| Travail non-inversant vs. labour                 | + d'abondance  | Allemagne  | Céréales avec semis sous couvert et interculture                       | (El Titi & Ipach, 1989)    |
| Semis direct vs. labour                          | + d'abondance  | Angleterre | Blé d'hiver et orge de printemps                                       | (Barnes & Ellis, 1979)     |
| Travail non-inversant vs. labour                 | Pas de différence  |            |  |                            |
| Travail non-inversant vs. labour                 | + d'abondance et de biomasse   | Allemagne  | Rotation céréalière avec légumineuses et intercultures                 | (Emmerling, 2001)          |
| Semis direct vs. travail rotatif                 | Pas différence toutes espèces confondues<br>+ d'espèces anéciques<br>- d'espèces endogéiques | Suisse     | Mais   | (Wyss & Glasstetter, 1992) |
| Semis direct vs. labour                          | + d'abondance  | Écosse     | Monoculture d'orge   | (Gerrard & Hay, 1979)      |
| Semis direct vs. labour                          | + d'abondance et de biomasse   | Irlande    | Monoculture de blé (avec semis sous couvert de trèfle en semis direct) | (Schmidt et al., 2001)     |

Généralement, la simplification du travail du sol, surtout accompagnée d'une forte abondance de résidus de culture, est bénéfique pour les vers de terre (Kladivko, 2001). Les mulchs vivants pourraient aussi favoriser les vers de terre (Schmidt et al., 2001; Hartwig & Ammon, 2002).

#### 3.3.2.2.2. Arthropodes, notamment prédateurs des semences adventices

De nombreux arthropodes sont prédateurs de semences adventices (Brust & House, 1988; Honek et al., 2003; O'Rourke et al., 2006; Baraibar et al., 2009). Certains limiteraient aussi d'autres bioagresseurs des cultures,

comme des carabes prédateurs des aphides ravageurs les céréales et la betterave sucrière (synthèse de Brust & House, 1990; Kromp, 1999; Lang, 2003).

Les effets observés dans des études européennes sur la simplification ou l'abandon du travail du sol sont très variables (Tableaux 3-34 et 3-35) (synthèse de Kromp, 1999). Une des raisons est notamment la variabilité des dates et outils de travail du sol, mais aussi la variabilité de la couverture adventice, dont l'effet dépasse souvent celui du travail du sol (Andersen, 2003), puis la variabilité des espèces d'arthropodes présentes. Il y aurait par exemple un effet de la taille des arthropodes, les grands (et mobiles) pouvant fuir plus facilement le travail du sol (Holland, 2004), bien que des observations opposées sont également rapportées (Baguette & Hance, 1997; Kladviko, 2001). Les travaux méthodologiquement les plus solides sur les prédateurs de semences adventices indiquent cependant une tendance décroissante en cas de travail du sol, particulièrement du labour, des carabes (synthèse de Kromp, 1999) (Tableau 3-34), araignées et fourmis (Tableau 3-35). L'effet bénéfique de la simplification ou de l'abandon du travail du sol et des mulchs vivants serait notamment dû à une couverture du sol plus élevée pouvant servir d'abris aux arthropodes (Clark et al., 1993; Schier, 2006). Cet effet bénéfique est notamment observé en cas de VTH (maïs tolérant au glyphosate, Espagne, Ruiz et al., 2001; Schier, 2006)

**Tableau 3-34.** Exemple de travaux européens sur l'effet du travail du sol sur les carabes

| Modalités de travail du sol comparées | Effet  | Pays       | Culture                                    | Référence                        |
|---------------------------------------|--|------------|--|----------------------------------|
| Travail simplifié vs. labour          | + de carabes   | Norvège    | Céréales                                   | (Andersen, 1999; Andersen, 2003) |
| Non-labour vs. labour                 | - d'abondance pour les espèces dominantes<br>+ d'abondance pour les espèces mineures<br>Diversité spécifique dépend des cultures | Belgique   | Maïs, betterave sucrière, céréales d'hiver | (Baguette & Hance, 1997)         |
| Non-labour vs. labour                 | + d'abondance  | Angleterre | Chaumes                                    | (Holland & Reynolds, 2003)       |
| Travail non-inversant vs. labour      | Variable   | Angleterre | Céréales d'hiver                           | (Kendall et al., 1995)           |
| Conservation tillage vs. labour       | +  | Allemagne  | Maïs tolérant au glyphosate                | (Schier, 2006)                   |

Source : extrait de Cunningham et al., 2004, complété ici

**Tableau 3-35.** Exemple de travaux européens sur l'effet du travail du sol sur d'autres arthropodes

| Modalités de travail du sol comparées  | Effet    | Pays       | Culture                     | Types d'arthropodes | Référence                  |
|--|----------|------------|-----------------------------|---------------------|----------------------------|
| Semis direct vs. travail conventionnel | +        | Espagne    | Maïs                        | Araignées           | (Rodriguez et al., 2006)   |
| Semis direct vs. travail conventionnel | +        | Espagne    | Maïs tolérant au glyphosate | Araignées           | (Ruiz et al., 2001)        |
| Semis direct vs. travail conventionnel | +        | Espagne    | Blé d'hiver                 | Fourmis             | (Baraibar et al., 2009)    |
| Non-labour vs. labour                  | +        | Angleterre | Chaumes                     | Araignées           | (Holland & Reynolds, 2003) |
| Non-labour vs. labour d'automne        | +        | Angleterre | Céréales et graminées       | Araignées           | (Thomas & Jepson, 1997)    |
| Travail non-inversant vs. labour       | variable | Angleterre | Céréales d'hiver            | Araignées           | (Kendall et al., 1995)     |

### 3.3.2.2.3. Effet indirect sur d'autres composantes biotiques (oiseaux...)

La simplification ou l'abandon du travail du sol peut affecter indirectement des composantes biotiques qui ne sont pas directement et physiquement influencées par le travail du sol, notamment en augmentant la quantité de semences adventices, de vers de terre et d'arthropodes présents à la surface du sol permettant de nourrir par exemple des oiseaux (synthèse de Cunningham et al., 2004).

### 3.3.2.3. Conclusion

Bien qu'il y a une certaine variabilité dans les réponses des guildes et espèces à la simplification du travail du sol, la plupart tendent vers une abondance et/ou biomasse accrue en travail simplifié ou absent, qu'il s'agisse de composantes nuisibles ou non (Tableau 3-36). Le manque de connaissances empêchent de tirer des conclusions plus fortes : 1) les communautés et espèces ont des comportements et réactions très diverses; 2) les effets cumulatifs à long terme sont encore mal connus, notamment dans le cas de l'abandon du travail du sol ; 3) la dynamique de plusieurs guildes et espèces dépendent aussi des interactions avec d'autres organismes, avec des possibilités de régulations (ex. microflore antagoniste à des champignons pathogènes, prédation de parasites par des athropodes, prédation de semences adventices par des arthropodes et vertébrés, etc.).

**Tableau 3-36.** Tentative de synthèse des effets des changements de quelques pratiques agricoles probables en cas d'introduction de VTH

| Type de composante biotique                                   | Changement de pratique analysé  |                   |                           |                |              |
|---|---|-------------------|---------------------------|----------------|--------------|
|   | Réduction de la fréquence de labour   | Abandon du labour | Abandon du travail du sol | Mulchs vivants | Semis avancé |
| Pathogènes survivant sur résidus de culture                   | + après cultures hôtes<br>- après cultures non-hôtes                                      | +?                | +?                        | -?             | +            |
| Autres bioagresseurs sans prédateurs                          | Idem au cas précédent car cycle de vie similaire  |                   |                           |                |              |
| Bioagresseurs avec prédateurs                                 | Opposé au cas des pathogènes si effet sur prédateurs similaire à celui sur les pathogènes |                   |                           |                |              |
| Vers de terre   | +   |                   |                           |                |              |
| anéciques   | +   | +                 | +                         |                |              |
| endogéiques   | -   | -                 | -                         |                |              |
| si pesticides   | -   | -                 | -                         |                |              |
| Carabes   | +?  | +?                | +?                        | +?             |              |
| Autres arthropodes  | +   | +                 | +                         |                |              |
| Vertébrés prédateurs d'adventices, arthropodes, vers de terre | +?  | +?                | +?                        | +?             |              |



## 3.4. Bilan des effets et conclusion

Ce chapitre a rassemblé et analysé les connaissances accessibles sur et autour des VTH pour établir un bilan des résultats scientifiques disponibles et validés concernant les VTH déjà cultivées, un éclairage des questions spécifiques aux VTH, un diagnostic des lacunes et des controverses dans les connaissances et les méthodologies d'évaluation, et des protocoles utilisables pour l'évaluation préalable et le suivi de telles variétés. Cette section livre un premier niveau d'intégration des résultats scientifiques du chapitre. Des conclusions partielles ont été dégagées à chaque type de conséquence, ou en fonction des organismes impliqués. Nous les reformulerons ici selon les grandes catégories d'impact agri-environnemental évoquées dans le cahier des charges initial : impacts agronomiques à court terme et à moyen terme, à l'échelle de la parcelle comme à l'échelle supra-parcellaire ; impacts sur l'environnement, essentiellement les effets sur la biodiversité. La composante multifactorielle de l'utilisation des VTH rend cependant leur évaluation difficile. En effet, l'identification des relations de cause à effet et leur extrapolation à des scénarios futurs sont d'autant plus difficiles que, même en disposant d'une littérature abondante, le type d'herbicide, les variétés TH elles-mêmes, leurs modalités d'utilisation et les changements induits par leur culture concourent à produire des conséquences spécifiques.

### 3.4.1. Impacts agronomiques

On peut distinguer d'une part des effets immédiats sur l'efficacité du désherbage, les types d'adventices mieux ou moins bien contrôlés, les contraintes ou simplifications auxquelles l'agriculteur doit faire face dans son champ, et les économies d'intrants réalisées. D'autre part, il faut envisager des effets à plus long terme à l'échelle de la ferme et au-delà sur la collectivité des agriculteurs dans la région.

#### 3.4.1.1. A court terme et à l'échelle de la parcelle

##### 3.4.1.1.1. Efficacité du désherbage

Avec les herbicides non sélectifs comme le glyphosate et le glufosinate, l'idée est d'élargir le spectre d'activité à toutes les adventices et d'éviter le développement des espèces peu sensibles aux désherbants sélectifs classiques. C'est le cas des variétés TH GM en Amérique du nord qui ont donné satisfaction sur ce point, notamment dans les zones les plus infestées et où le désherbage était le plus complexe et le plus coûteux. En Amérique du sud, la culture de soja est le plus souvent récente, donc sans référence à une flore associée préexistante ni à l'efficacité d'herbicides préexistants. C'est aussi le cas des herbicides inhibiteurs d'ALS qui permettraient de contrôler en France, par exemple, les géraniums dans le colza alors que ces espèces s'y développent sur la place laissée libre par les autres adventices détruites. C'est aussi un bon moyen pour se débarrasser des adventices apparentées aux cultures, car à l'intérieur d'une même famille botanique les différentes espèces partagent souvent la même réponse aux herbicides et donc les herbicides sélectifs de la culture sont peu efficaces, mais ce lien d'apparement est brisé avec une VTH.

L'utilisation d'un seul produit simplifie donc le travail de l'agriculteur qui peut éviter les désherbages de pré-semis et ne plus se soucier d'associer différentes matières actives pour compléter leur spectre d'activité, ou encore ne plus réaliser de désherbage mécanique d'appoint. La VTH étant devenue insensible quel que soit son stade, cela offre des opportunités de désherbage en pleine croissance, par exemple pour le tournesol. Si un désherbage tardif est permis, en revanche, on peut craindre que des plantes petites ou tardives échappent, par effet parapluie sous les plus grandes. Par ailleurs, l'offre en VTH peut être multiple (par exemple au Canada, colza tolérant au glyphosate, au glufosinate, aux sulfonyle-urées, ou, mais plus commercialisé, au bromoxynil), ce qui permet d'utiliser le mode d'action ou la méthode d'application les plus appropriés à la situation locale et de réduire le risque d'apparition d'adventices résistantes. L'adoption de VTH en Amérique ne semble pas avoir modifié les rotations qui étaient déjà très simplifiées (par exemple rotation maïs/soja avec semis sans labour) et peu d'études ont fait une démarche comparative. On peut néanmoins noter une simplification du travail du sol, voire l'utilisation de mulch vivant, qui rendraient plus difficile la gestion des adventices si le système VTH + herbicide n'était pas suffisamment efficace.

#### 3.4.1.1.2. Dérive de flore

Bien que le spectre d'activité des produits utilisés avec le VTH soit plus large, il existe cependant des variations entre espèces. Des adventices qui n'étaient pas auparavant des espèces déterminantes dans le désherbage des cultures conventionnelles sont devenues préoccupantes dans le soja, dans le maïs et dans le coton tolérants au glyphosate. Elles ont pu occuper rapidement les espaces libérés par les adventices auparavant importantes et maintenant mieux contrôlées. Par exemple, une levée plus tardive et un développement plus lent mettaient ces plantes en situation d'infériorité dans un peuplement d'adventices déjà établi. En revanche, des entre-rangs bien propres leur permettent maintenant de récupérer rapidement une croissance capable de concurrencer la culture malgré leur levée tardive. Chaque changement d'herbicide ou de technique de désherbage conduit à ce phénomène, plus ou moins exacerbé et générateur de problèmes nouveaux pour l'agriculteur. Il est impossible d'anticiper ce phénomène sans avoir de modèles démographiques ni de bases de données précises sur la sensibilité des espèces aux différents produits, aux différents stades de croissance et sous des conditions climatiques et édaphiques précisées.

Les changements de pratiques associés (simplification ou abandon du travail du sol, abandon du désherbage mécanique et manuel, avancée des semis) vont aussi avoir des effets à court terme sur la flore. Ils entraînent une augmentation des adventices, surtout des graminées et des espèces pérennes, et aussi des repousses des cultures. Du fait de l'augmentation des populations d'adventices qui subissent le désherbage, la sélection de plantes résistantes aux herbicides s'opère sur un plus grand nombre d'individus, donc avec plus de chance d'aboutir à une plante résistante. Cette sélection sera d'autant plus rapide que les mêmes herbicides sont utilisés dans toutes les cultures de la rotation, et que ces cultures ont des périodes de croissance similaires laissant la même flore pousser à chaque fois (exemple soja et maïs). Ces phénomènes sont assez bien étayés mais essentiellement en Amérique du Nord (abandon du travail du sol), et aussi en Europe (abandon du labour). Ils ont suscité la mise au point de programmes de désherbage complémentaires qui donnent satisfaction et permettent de conserver le système de culture mais limitent l'intérêt des VTH.

Une autre particularité de l'abandon du travail du sol est la forte présence de résidus végétaux lors du semis, pouvant contribuer à maîtriser les adventices. Cet effet d'étouffement est particulièrement efficace avec les mulchs vivants. On n'en connaît cependant pas les effets à long terme, leur gestion est délicate, et ils sont souvent associés à une diminution du rendement, sauf lorsqu'il s'agit de légumineuses. Enfin, dans les conditions françaises, l'abandon du travail du sol qui peut conduire à l'augmentation de la compaction du sol et les mulchs vivants à la dégradation du bilan hydrique peuvent modifier le type de flore présente.

Les flux de gènes entre culture et apparentées adventices ne devraient pas avoir d'effet à court terme sur la composition de la flore car les descendants d'hybrides doivent d'abord éliminer l'hybridité et récupérer des caractéristiques typiquement adventice, ce qui prend plusieurs générations. Cependant, ce n'est pas le cas pour les betteraves, le riz et probablement le tournesol, car il s'agit simplement de formes sauvages ou cultivées de la même espèce, pas d'espèces différentes. Sans problème de fertilité, les formes sauvages ayant hérité d'un gène de tolérance à un herbicide sont directement des adventices tolérantes qui peuvent proliférer dans les cultures désherbées avec l'herbicide concerné.

#### 3.4.1.1.3. Utilisation des pesticides

Dans de nombreux cas de VTH, le passage aux VTH s'accompagne d'une substitution d'un programme de désherbage utilisant plusieurs herbicides sélectifs par un seul autre à large spectre. On peut donc s'attendre à une réduction des doses pour une même efficacité. Que l'on prenne les évaluations des gains *a priori* ou les données statistiques des auteurs les plus favorables ou les plus critiques envers les cultures GM TH, on assiste effectivement à une réduction de la quantité d'herbicides utilisée à court terme. Cependant, en l'espace de trois ans pour le soja, et de six ans pour le coton, le bénéfice associé aux VTH a disparu par rapport aux pratiques avec des variétés conventionnelles. Il s'est réduit mais reste encore favorable dans le cas du maïs. Cette réduction du bénéfice en termes de tonnage d'herbicides répandus, voire l'augmentation de leur usage, s'explique par différents facteurs. 1) Les industries phytosanitaires concurrentes ont proposé des solutions de désherbage consommant moins d'herbicide ; 2) les dérives de flore ont entraîné l'ajout de programmes de désherbage ; 3) des espèces sont devenues plus difficiles à détruire, ce qui a fait augmenter les doses ; 4) l'apparition d'adventices résistantes a conduit à des solutions de rattrapage en complément des traitements prévus ; 5) la gestion préventive de la résistance chez les adventices dans des zones à risque a mis en place des

stratégies fondées sur la nécessité de maintenir une diversité des modes d'action, ce qui va à l'encontre des effets positifs de l'introduction de la VTH sur l'IFT global.

Ce scénario n'est pas incontournable. Les agriculteurs américains se sont placés dans une logique de production simplifiée où chaque nouvel écueil soulève des problèmes nouveaux et importants. Dans un système plus complexe, l'effet de chaque facteur a moins de poids et une bonne gestion agronomique devrait pouvoir maintenir l'utilité des VTH pour résoudre les cas les plus problématiques de mauvaises herbes sans systématiquement vouloir rechercher une économie immédiate d'herbicide à court terme. La réduction possible des traitements et des doses peut venir de la mise en place des bonnes pratiques, avec en particulier le recours au désherbage mécanique et à des variétés plus rustiques, et du simple fait de pouvoir retarder les traitements afin de décider de l'opportunité et de l'intensité du traitement en fonction de la flore visible

Dans le cas où les VTH s'accompagnent d'une simplification du travail du sol, la densité d'adventices et le risque d'apparition de résistances aux herbicides vont augmenter, accroissant donc la quantité d'herbicides utilisés. De plus, la simplification du travail du sol augmente le risque de certaines maladies fongiques transmises par les résidus de culture, conduisant à une utilisation accrue de fongicides. Les insectes sont également favorisés, d'où une augmentation de l'utilisation probable des insecticides. En revanche, la possibilité d'appliquer les herbicides en post-levée et spécifiquement localisés sur les zones de développement des adventices peut permettre de réduire les doses réelles utilisées à l'hectare.

Enfin, on peut remarquer que les herbicides totaux sont souvent aussi utilisés pour gérer les bordures de route. Avec l'augmentation de l'utilisation de ces herbicides dans les champs, le risque d'apparition d'adventices résistantes va augmenter dans les bordures, nécessitant à moyen terme une augmentation des doses appliquées et/ou un changement des produits appliqués dans les bordures.

#### **3.4.1.1.4. Qualité et performance des cultures**

La question de la qualité intrinsèque des VTH a été traitée au chapitre 2. Dans la pratique, les obtenteurs des variétés ou les conseillers techniques pour l'application du désherbage ont trouvé les combinaisons appropriées pour maintenir, à de rares exceptions près, la qualité comme le rendement des cultures. S'il y a augmentation du rendement, elle provient d'un meilleur désherbage du fait de l'efficacité de la matière active, d'une période d'application plus appropriée, d'absence d'effet phyto-toxique sur la culture, ou encore d'un spectre d'activité élargi. Certaines modifications des pratiques agricoles accompagnant les VTH (simplification ou abandon du travail du sol, mulchs vivants) peuvent cependant avoir un effet négatif sur le rendement, voire la qualité (par exemple lorsque des repousses entraînent des flux de gènes avec des variétés non TH).

#### **3.4.1.2. A moyen terme et à l'échelle supra-parcellaire**

##### **3.4.1.2.1. Evolution des conduites de désherbage**

L'idée force est le passage de l'herbicide sélectif vers l'herbicide à spectre large et à molécules plus efficaces dont on en met moins à l'hectare. L'hypothèse de substitution n'est pas toujours générique, comme dans le cas du tournesol où il y a ici plutôt de la complémentation et du soutien des traitements de pré-levée dans le cas de désherbages délicats. Mais avec la simplification du système de culture, on risque de voir s'amplifier au cours du temps les effets négatifs soulignés ci-dessus. Cependant, la pratique des façons culturales semble plus ancrée dans la tradition agricole européenne qu'en Amérique. Par ailleurs, face au risque d'apparition de repousses ou d'adventices résistantes (mutants spontanés et descendants d'hybrides interspécifiques, les repousses tolérantes vont se généraliser et demander des mesures spécifiques de nettoyage.

L'apparition spontanée d'adventices résistantes est maintenant un phénomène bien connu. Il concerne la plupart des familles d'herbicides. Le plus ou moins grand nombre de cas répertoriés par herbicide ne correspond pas toujours aux surfaces sur lesquelles il est appliqué et varie largement selon le nombre d'applications, les tailles des populations traitées, les doses utilisées et le type d'herbicide (mode d'action et possibilité de dégradation). Dans le cas du glyphosate et du glufosinate, la résistance à ces herbicides est lente à évoluer dans les modalités d'emploi classique (désherbage total). Elle s'est répandue rapidement en Amérique dans des conditions d'emploi comme herbicide sélectif et elle a touché des espèces à fort taux de reproduction et de dispersion. Certaines de ces espèces sont déjà présentes en France (érigeron, ambroisie) et pourraient aussi bien qu'outre-Atlantique

développer des résistances dans le cas d'introduction de variétés tolérantes à ces produits. L'introduction de variétés tolérantes aux inhibiteurs de l'ALS ne représente pas un changement majeur d'usage des herbicides puisque les inhibiteurs de l'ALS sont déjà très largement utilisés en grandes cultures en France. La résistance à ce mode d'action est d'ores et déjà présente et même fréquente pour un petit nombre d'espèces. Les risques sont donc de contribuer à l'extension de la résistance chez les espèces où elle a déjà évolué, d'augmenter la pression de sélection sur les espèces déjà ciblées par ce mode d'action mais qui n'ont pas encore évolué de résistance, et d'étendre la pression de sélection à de nouvelles espèces cibles (espèces de la flore du colza et du tournesol).

Il est possible que les scénarios de mise en œuvre des VTH soient complètement différents en Europe, alors qu'on ne se fonde que sur les informations disponibles, c'est-à-dire provenant d'Amérique du nord. Des observatoires des changements de pratiques avec état des lieux initial et analyse des sur les substitutions de pratiques semblent nécessaires. En revanche, l'utilisation des VTH peut être intégrée dans des systèmes de culture plus élaborés. Par exemple, au lieu d'être l'outil d'un système de culture simplifié, les VTH pourraient être utilisées pour remédier ponctuellement à des infestations de mauvaises herbes dans le cadre de systèmes de culture plus sophistiqués fondés sur une gestion intégrée, les économies d'intrants ou tout autre critère évalué sur une période de temps plus longue. Associées à d'autres solutions de désherbage, les VTH seraient donc des outils durables pour gérer les adventices.

#### **3.4.1.2.2. Risque sur la biodiversité cultivée**

La mise en place des technologies pour produire les VTH étant onéreuse, il y a un risque de concentration des efforts d'amélioration variétale sur certaines espèces seulement, mais aussi de ralentissement des efforts sur d'autres espèces. Ceci pénaliserait les possibilités de choix pour réaliser des rotations diversifiées et aggraverait encore les défauts indiqués plus haut. Les flux de gènes entre variétés TH et non-TH au niveau des obtenteurs et producteurs de semences conduiront à des problèmes de qualité de récolte et de séparation des filières. La présence de plantes à caractéristiques mélangées dans le colza au Canada à la fin des années 90 était plus due aux semences qu'aux croisements entre repousses. En revanche, l'utilisation d'un gène de tolérance ne signifie pas l'homogénéisation génétique des variétés car il peut être inséré dans une diversité de cultivars, chacun adapté à des situations climatiques et agronomiques particulières : ainsi, plus de 50 variétés de colza tolérantes au glyphosate sont inscrites au Canada, autant au Nord Dakota.

La simplification des rotations et l'uniformisation des variétés vont conduire à la sélection de bioagresseurs adaptés (aussi bien les adventices que les ravageurs et les pathogènes), donc à un besoin de protection des cultures et de renouvellement génétique accru. Avec la chute des brevets (2014 pour les premiers soja RR), des VTH génériques pourraient voir le jour sans que des plans de surveillance ou des recommandations particulières leur soient associés. Les sociétés productrices de semences TH, s'appuyant sur la nécessité de lutter contre les adventices résistantes, mettent actuellement au point des VTH dotées d'un empilement de tolérances. Le deuxième herbicide devrait tuer les plantes actuellement résistantes, sauf que le même scénario d'apparition de résistance va se répéter avec le deuxième herbicide. Les VTH bi-résistantes sont cependant un bon outil préventif d'apparition d'adventices résistantes dans les régions où il n'y en a pas encore, mais cela revient à utiliser deux herbicides, ce qui n'est pas très cohérent avec l'objectif de réduction de l'usage des pesticides. A terme, et avec l'accumulation des tolérances à plusieurs herbicides au sein de la même espèce, le risque pourrait en être l'impossibilité d'éliminer une telle espèce se développant au sein d'une autre culture.

#### **3.4.1.2.3. L'échelle régionale**

Si le choix des herbicides associés aux VTH reste restreint, et si les VTH se popularisent, le risque est d'assister à l'utilisation excessive du même produit (même si sa dose est réduite à l'échelle du champ) et d'arriver à la contamination des eaux et de l'habitat dans des bassins versants entiers. Le choix de VTH correspondant à des herbicides ayant des profils écotoxicologiques nettement meilleurs que ceux utilisés sur des variétés non-TH pourrait pallier ce phénomène. La simplification des techniques culturales conduira à des spécialisations régionales, ce qui est antagoniste de la conception actuelle de l'organisation des mosaïques paysagères et des trames vertes, et qui est plus fragile aussi bien sur le plan biologique qu'économique qu'un système diversifié. Concernant le risque de développement d'adventices résistantes, un usage généralisé des VTH à l'échelle régionale conduira à une homogénéisation spatiale de la pression de sélection herbicide, ce qui va à l'encontre

des stratégies de prévention par diversification dans le temps (rotation des modes d'action) mises en œuvre à l'échelle de chaque exploitation. Un autre problème émergeant avec les cultures GM est le risque de croisement entre productions GM et non-GM et la mise au point de règles de coexistence qui vont aussi conduire à des spécialisations régionales. L'instauration de distance d'isolement entre colza TH et non-TH n'est efficace qu'en l'absence de repousses dans la région, et la distance nécessaire varie fortement en fonction du type de variété de colza et du niveau de repousses. La seule situation où les repousses ne contribuent pas au flux de gènes sont les fermes ayant des grandes parcelles (plusieurs dizaines d'ha) ou des parcelles agrégées en un îlot contigu. Le taux d'adoption des VTH dans la région est aussi un facteur limitant la coexistence.

## **3.4.2. Impacts sur l'environnement**

### **3.4.2.1. Contamination de l'environnement**

Cette partie est traitée au chapitre 4. On peut cependant souligner ici que les herbicides actuellement choisis pour être associés aux VTH sont des herbicides utilisés en post-levée. Même si c'est aussi une tendance générale du marché des herbicides, ils contribuent à éviter le désherbage d'assurance réalisé avant même qu'aucune plante ne pousse et permettent ainsi le traitement à vue selon la densité d'infestation et le type d'adventices. Il devient alors possible de faire l'impasse d'un traitement, par exemple si un climat sec a réduit la levée des adventices, ou encore de ne traiter que les taches denses d'adventices si leur peuplement est agrégé. En particulier, n'ayant plus à craindre d'effet toxique sur la VTH quel que soit son stade de développement, le traitement peut être différé afin de traiter un maximum d'adventices levées. Le couvert végétal à détruire peut ainsi être plus dense, couvrant mieux le sol, ce qui fait qu'une grande partie de la pulvérisation est interceptée par la végétation et n'est pas déposée directement sur le sol. Les quantités d'herbicide risquant d'être entraînées dans les eaux pourraient donc en être réduites.

### **3.4.2.2. Effets sur la flore, services et fonction**

Les essais à l'échelle du champ en Angleterre (évaluation des impacts des cultures GM HT dans le dispositif FSE) ont montré des changements d'abondance des espèces différents selon les cultures testées (maïs, betterave et colzas d'hiver et de printemps), mais il n'a pas été observé de modification sur le plan fonctionnel de la flore adventice : variété résistante ou variété conventionnelle traitées avec leurs herbicides correspondants ne retranchent ni n'ajoutent aucun type fonctionnel d'adventice.

### **3.4.2.3. Effets sur la faune associée : les pollinisateurs**

Compte tenu, à la fois, de l'importance des pollinisateurs et de leur déclin actuel, il semble justifié d'examiner le rôle des VTH dans les éventuels changements qui pourraient intervenir dans l'environnement et qui pourraient influencer de manière négative sur leur survie. Les VTH peuvent avoir un impact sur les pollinisateurs *via* l'effet direct de l'herbicide utilisé, *via* la plante elle-même, ou encore indirectement si la culture de cette variété affecte la disponibilité en plantes mellifères ou pollinifères. Les insectes pollinisateurs peuvent être exposés aux herbicides lors des traitements, soit directement, soit par dérive des pulvérisations, ou après les traitements lorsqu'ils butinent sur des fleurs qui ont été traitées récemment. A l'heure actuelle, le seul paramètre dont on dispose pour évaluer la toxicité d'un herbicide est la dose létale 50 (DL50). Il est important de souligner que la DL50 n'a qu'une valeur indicative d'un niveau de toxicité et n'a aucune valeur biologique. La valeur qu'il serait indispensable de connaître est la dose sans aucun effet sur ces insectes ; en son absence, il est souvent impossible de conclure sur les effets des pesticides. Une évaluation plus approfondie des effets des herbicides sur les insectes pollinisateurs est nécessaire, incluant les éventuels effets sublétaux des herbicides et les synergies entre molécules (mélanges de plusieurs herbicides ou mélanges d'herbicides et/ou d'insecticides et/ou de fongicides). Remarquons que les études écotoxicologiques sont menées sur des espèces modèles et pas sur des bioindicateurs marqueurs plus stratégiques pour en tirer des conclusions dans les conditions naturelles

Il n'existe actuellement aucune étude validée qui montrerait, de manière certaine, que les colzas TH ne présentent aucun effet létal ou sub-létal sur les colonies d'abeilles. De telles études, réalisées avec des

protocoles rigoureux et adaptés aux spécificités des colonies d'abeilles pourraient être réalisées avant la mise en culture des colzas TH. Ce point soulève, en particulier, la question de la confidentialité des données des dossiers d'homologation sur les effets sur l'environnement !

Les insectes pollinisateurs ont besoin de s'alimenter en nectar et en pollen, à la fois sur les fleurs des plantes cultivées, des plantes adventices et des plantes sauvages. A court terme, l'utilisation d'herbicides totaux tend à réduire la flore adventice, donc la disponibilité de fleurs pour les abeilles en l'absence de cultures en fleurs adéquates. Cependant, déjà dans l'agriculture actuelle, il y a un manque d'adventices pouvant nourrir les abeilles. A l'échelle d'une région, les insectes pollinisateurs ne seront affectés que si la diminution des plantes adventices intervient de façon importante. Ce pourrait être le cas si des colzas TH et des betteraves TH étaient plantés sur des surfaces importantes et pendant plusieurs années. Ainsi, dans les régions où les ressources en nectar sont peu abondantes, ce qui est par exemple le cas dans les régions de production de betteraves, les populations d'abeilles et de papillons pourraient décliner fortement.

### 3.4.2.4. Risques de dispersion

A côté des repousses se développent dans les champs, il existe aussi des pertes avérées de semences dans d'autres milieux, par les engins agricoles, les moyens de transport des récoltes, les oiseaux. Les repousses de colza sont celles qui ont le plus de potentiel de dispersion vers les champs voisins proches et lointains, ce qui a été confirmé par des analyses de parenté des repousses de colza en conditions françaises. On voit peu de repousses de blé et de maïs. Les populations de betteraves adventices sont généralement confinées au champ qui les a vues apparaître. En dehors des champs, des populations férales se constituent, périodiquement enrichies génétiquement par l'apport de nouvelles graines de variétés plus récentes. L'analyse de marqueurs d'anciennes variétés montre que ces populations peuvent perdurer longtemps. Munies d'un gène de tolérance à un herbicide, elles peuvent se disséminer dans les bordures de routes et les zones industrielles où les herbicides correspondants sont utilisés. Dans des milieux favorables, elles peuvent se multiplier, mais elles restent le plus souvent peu adaptées à des milieux ayant une végétation permanente. Avec une banque de semences constituée dans le sol, elles font perdurer la présence de gènes de tolérance au-delà de l'arrêt de la commercialisation des VTH correspondantes. Les risques sont différents selon les espèces cultivées (Tableau 3-38).

**Tableau 3-38.** Caractéristiques biologiques des principales espèces cultivées et risques de diffusion du trait TH

|                  | Biologie des semences : pertes de récolte, dormance, survie dans le sol   | Repousses<br>Populations férales  | Flux de pollen<br>Risques de contamination des récoltes voisines                                       | Existence d'adventices apparentées<br>Risque de transfert du trait TH                      |
|------------------|---|---|--|--|
| <b>Maïs</b>      | Pas de dormance, ni survie dans le sol  | Pas de repousses en France (levée possible en automne, mais pas de survie hivernale)  | Vent et insectes, allogame 100%<br>* 200 ou 300 m selon taille parcelle [0,2%]; ** > 35 m              | Aucune apparentée en Europe  |
| <b>Blé</b>       | Survie < 2 ans  | Levée des repousses en été-automne, mais sont détruites avant le semis de la culture suivante                               | Vent, autogame 95%<br>* 20 m [0,3%]; ** > 5 m  | Hybridation possible avec plusieurs égilopes, mais fertilité réduite                       |
| <b>Betterave</b> | Taux de survie annuel de 80%, dormance cyclique   | Repousses en fonction de la présence de montées à graine  | Vent, allogame 100%<br>* 300 m pour variétés diploïdes   | Hybridation spontanée avec betterave adventice et littorale, pas de réduction de fertilité |
| <b>Tournesol</b> | Survie possible   | Des repousses<br>Des populations férales en Espagne   | Insectes, allogame°<br>* 500 m [1%]  | Qq espèces ornementales ou potagères et populations de tournesols adventices introduites   |
| <b>Colza</b>     | Fortes pertes de récolte ( $10^3$ à $10^4$ /m <sup>2</sup> )<br>Pas de dormance 1 <sup>ère</sup> mais dormance 2 <sup>ème</sup> selon conditions, et survie <10 ans | Levée majoritaire en automne ; des repousses très abondantes en cultures d'hiver<br>Les populations férales sont fréquentes | Vent et insectes, allogame° 30%<br>* 100 m [0,3%]; ** 20-120m selon type de variété et taille parcelle | Nombreuses espèces proches ; hybridation ± facile, hybrides ± viables...                   |

\* : distance réglementaire d'isolement pour la production de semences certifiées [seuil d'impureté variétale toléré]; \*\* : distance d'isolement pour un seuil de 0,9% de mélange (résultats de modélisation).

° : hors variétés mâle-stériles

### 3.4.2.5. Transfert horizontal

Une grande partie des flux de gènes par croisement sexué concerne des adventices car elles sont présentes au sein même des champs et représentent un danger potentiel si elles venaient à hériter d'un gène de tolérance à un herbicide. Certaines de ces espèces participent aussi, selon les régions, à des communautés végétales naturelles : navette, choux et roquettes sauvages, betterave littorale, chicorée sauvage, égilope, etc. Elles peuvent produire des hybrides plus ou moins viables selon les cas. Mis à part la résistance à des dérivés de pulvérisation emportées par le vent, un gène de tolérance ne devrait pas modifier le comportement de ces apparentés sauvages. L'examen des effets pléiotropiques des gènes de tolérance (section 2.3.3.1.) montre que d'autres fonctions peuvent être affectées. Si l'extrapolation est possible depuis les cultures vers les plantes sauvages, on trouve le plus souvent des effets négatifs sur la croissance, ce qui plaiderait pour une disparition des hybrides et de leurs descendants. Dans le cas de la tolérance au glyphosate, des effets négatifs modérés ont été observés sur la photosynthèse, et le fonctionnement du gène de détoxification (GOX) pourrait aussi avoir un coût fonctionnel. Dans d'autres cas, des effets ponctuels sur l'accumulation ou le type de lipide ont été mis en évidence, ce qui peut modifier la capacité de dormance des graines, un caractère essentiel dans la survie des plantes. On trouve aussi des modifications des voies de synthèse des acides aminés, ce qui peut entraîner des cinétiques différentes de maturation ou de germination, autres traits importants du développement des plantes (cas des résistances aux inhibiteurs d'ALS). La variabilité du fond génétique dans lequel s'exprime le gène de tolérance complexifie l'évaluation des conséquences. Ainsi, on peut signaler que l'hybride entre colza et navette semble avoir un avantage sur la navette dans les populations des bords de rivière, indépendamment d'un gène particulier du colza.

### 3.4.2.6. Risque pour la biodiversité non cultivée

L'utilisation des VTH en agriculture s'inscrit implicitement dans la continuité d'une agriculture de type intensive et non pas dans une logique d'agriculture "écologiquement intensive" qui tirerait parti des services écologiques apportés par la biodiversité *sensu lato*. S'il est mis globalement en évidence un effet positif de l'agriculture biologique *versus* conventionnelle sur la biodiversité non cultivée, il est à l'heure actuelle difficile de tirer des conclusions générales sur l'impact de l'adoption des VTH sur la biodiversité non cultivée si on se place dans le cadre d'un modèle agricole actuellement dominé par l'agriculture conventionnelle. L'adoption des VTH et des herbicides associés est en effet souvent combinée à des pratiques agricoles telles que la simplification du travail du sol et le semis direct, qui ont leurs propres effets sur la biodiversité. Il en résulte que la mesure des impacts des VTH et de leurs herbicides associés sur la biodiversité non cultivée relève d'une analyse au cas par cas, mais aussi d'une analyse considérant les effets conjugués associés à la mise la culture de différentes VTH et de leurs différents herbicides associés.

La première constatation est l'effet contrasté sur l'abondance des adventices selon les cultures et les conduites du désherbage (par exemple maïs *versus* colza et betteraves dans les FSE). La simplification ou l'abandon du travail du sol, liés à des traitements en post-levée tardifs, vont laisser pousser plus d'adventices en début de cycle cultural, ce qui peut représenter plus d'abris et de ressources pour la faune prédatrice des adventices, donc un soutien à la biodiversité. De même, le semis direct suppose plus de résidus de culture en place, moins de perturbations, donc un milieu qui protège la faune (arthropodes, micromammifères) et fournit des ressources aux organismes du sol, notamment durant l'interculture. En revanche, à partir de l'application de l'herbicide total, on attend moins d'adventices qui se reproduisent, donc moins de ressources ultérieures et moins de diversité floristique pour nourrir les prédateurs. C'est ainsi qu'il a été proposé de laisser une bordure non désherbée tout autour de la parcelle mais on peut se demander si cela peut compenser le désert créé au milieu du champ. Par ailleurs, l'impact d'un herbicide sur une espèce n'est pas identique à celui exprimé sur une autre espèce, et ce qui est vrai pour une molécule pure peut différer pour un mélange avec les adjuvants : des effets de chaîne de réaction des molécules entre elles ont pu être mis en évidence (accumulation dans les chaînes trophiques, effet indirect sur les pollinisateurs) et on a des difficultés à prévoir les effets conjugués.

Des observatoires sont donc nécessaires pour permettre de faire des états des lieux, d'avoir une vision globale des questions de prédiction des systèmes biologiques et pour prévoir les évolutions au cours du temps en relation avec les pratiques agricoles. Des cibles non intentionnelles des herbicides pourraient être en effet touchées. Si dans certains cas, on constate un impact sur certaines espèces, dont certaines peuvent être patrimoniales, il manque souvent des informations sur l'impact sur les services écosystémiques et sur les

conséquences en termes de trajectoire évolutive des espèces, des communautés et des écosystèmes. Il y a donc une nécessité d'expérimentations analytiques pour isoler les différents facteurs, mesurer l'impact de ces facteurs (VTH, herbicide, non-travail du sol, couvert végétal...) sur différents processus et sur l'évolution de la biodiversité. Le résultat des analyses à court terme pourra alimenter des modèles multifactoriels qu'il faudra de toute manière valider. La prise en compte de l'échelle nous échappe totalement actuellement : par exemple, la généralisation des VTH dans une région peut conduire à l'homogénéisation des ressources offertes à la biodiversité non cultivée et créer des pressions de sélection sur des organismes rarement pris en compte dans les caractéristiques des champs (rapaces par exemple).

### 3.4.2.7. Conséquences sur la consommation d'énergie

L'abandon du travail du sol et des traitements de pré-semis entraîne la réduction du nombre de passages de tracteur dans le champ, et donc réduisent la consommation en fuel. Cependant, on a vu que l'usage mal géré des VTH a souvent conduit à des programmes de désherbage plus consommateurs en matières actives que pour des variétés conventionnelles afin de régler des problèmes de désherbage émergents. De même, les résidus des cultures précédentes dans des rotations courtes peuvent transmettre des pathogènes ou héberger des ravageurs qu'il faut traiter. Le bilan à moyen terme n'est donc pas simple à établir et les données précises manquent.

### 3.4.3. Remarques

La plupart des conclusions que nous avons pu faire sur les différents points examinés ne sont pas originales. En effet, parmi les impacts agronomiques associés aux variétés VTH on retrouve : des impacts associés à la culture de variétés GM (flux de gènes, repousses), et tous les impacts liés aux pratiques agricoles pour la gestion de la flore adventice (efficacité du désherbage et usage des herbicides, résistance aux herbicides, effets sur la biodiversité et l'environnement). Ainsi, nos conclusions sont assez largement redondantes avec celles d'expertises scientifiques antérieures : "Agriculture et biodiversité", "Ecophyto R&D", "Pesticides, agriculture et environnement". Ce qui est nouveau, c'est la synthèse d'aspects complémentaires touchant à des disciplines différentes rarement analysées conjointement, permettant de mettre en évidence des antagonismes entre effets (ex. effet nettoyant des herbicides totaux vs. augmentation de la flore en cas de simplification du travail du sol). Ce qui peut être à la fois original et trivial, c'est que l'introduction des VTH peut s'accompagner d'une multitude d'autres changements, pouvant avoir des effets de synergie ou d'antagonisme qu'il faut étudier au cas par cas, en identifiant les facteurs séparément pour pouvoir envisager toutes les combinaisons possibles de ces facteurs. Il n'est donc pas évident d'en isoler une tendance générale.

D'un point de vue scientifique (lecture des articles), la divergence entre les résultats est plus due au fait que les études ne concernent pas tout à fait la même chose ni à la même échelle, et qu'il existe de fortes interactions entre processus. Il est nécessaire d'être plus théorique, de comprendre les processus, pour établir des conclusions plus génériques. Par exemple, on n'a pas nécessairement en Europe tempérée les mêmes espèces qu'en Amérique du Nord, mais les conclusions basées sur des traits (ex. graminées *versus* dicotylédones) et des processus (ex. chaîne trophique) peuvent être extrapolées.

Nous remarquons aussi que l'exemple américain est riche en leçons sur l'attrait du court terme. A l'image de certains herbicides dont les doses ou les fréquences de traitement sont limitées, la durabilité des VTH imposerait une réglementation fixant les pratiques agricoles qui limitent le flux spatio-temporel de gènes, la fréquence d'utilisation d'un même mode d'action herbicide à l'échelle de la rotation et conduisent à une meilleure information des agriculteurs sur ce point (étiquetage des produits...).



## Références bibliographiques citées

### Section 3.1.1. Efficacité de la technologie

- Ammon H.U. (1996). Concepts of ecologically improved cropping systems with genetically-modified herbicide-resistant crops. *Second International Weed Control Congress*, Copenhagen, 499-504.
- Armel G.R., Richardson R.J., Wilson H.P., Hines T.E. (2008). Mesotrione and glufosinate in glufosinate-resistant corn. *Weed Technology* 22(4): 591-596.
- Askew S.D., Wilcut J.W. (1999). Cost and weed management with herbicide programs in glyphosate-resistant cotton (*Gossypium hirsutum*). *Weed Technology* 13(2): 308-313.
- Ball D.A., Young F.L., Ogg A.G., Jr. (1999). Selective control of jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) with imazamox in herbicide-resistant wheat. *Weed Technology* 13(1): 77-82.
- Baucom R.S., Mauricio R. (2010). Defence against the herbicide Round Up (R) predates its widespread use. *Evolutionary Ecology Research* 12(1): 131-141.
- Beckie H.J., Harker K.N., Hall L.M., Warwick S.I., Legere A., Sikkema P.H., Clayton G.W., Thomas A.G., Leeson J.Y., Seguin-Swartz G., Simard M.J. (2006). A decade of herbicide-resistant crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 86(4): 1243-1264.
- Benbrook C. (2009). Impacts of Genetically Engineered Crops on Pesticide Use: The First Thirteen Years. The Organic Center, <http://www.organic-center.org>.
- Bertin G. (2010). Ethametsulfuron-méthyl : une nouvelle molécule pour le désherbage du colza, *XXIème conférence du Columa*, Dijon, AFPP, ed.: 756-762.
- Beversdorf W.D., Erickson L.R., Grant I. (1987). Hybridization using cytoplasmic male sterility, cytoplasmic herbicide tolerance and herbicide tolerance from nuclear genes. U.S. patent 4, 658,085.
- Bradley P.R., Johnson W.G., Hart S.E., Buesinger M.L., Massey R.E. (2000). Economics of weed management in glufosinate-resistant corn (*Zea mays* L.). *Weed Technology* 14(3): 495-501.
- Brookes G., Barfoot P. (2009). GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996-2007. <http://www.pgeconomics.co.uk/pdf/2009globalimpactstudy.pdf>.
- Brookes G., Barfoot P. (2010). Global impact of biotech crops: environmental effects, 1996-2008. *AgBioForum* 13(1): 76-94.
- Brookes G., Barfoot P. (2011). GM crops: global socio-economic and environmental impact of biotech crops: environmental impacts, 1996-2009. <http://www.pgeconomics.co.uk/pdf/2011globalimpactstudy.pdf>.
- Burnside O.C. (1992). Rationale for developing herbicide-resistant crops. *Weed Technology* 6: 621-625.
- Colton B., Butler B., Milne B.R. (1997). Using triazine herbicides in canola, *Agnote - NSW Agriculture*, DPI/183, 4.
- Couteux A., Lejeune V. (2011). Index phytosanitaire 2011, 47 ed., ACTA, France, 900 p.
- Cross P., Edwards-Jones G. (2006). Variation in pesticide hazard from arable crop production in Great Britain from 1992 to 2002: pesticide risk indices and policy analysis. *Crop Protection* 25(10): 1101-1108.
- Darmency H. (2010). Consequences of the use of GMOs on pesticide use. *OCL - Oleagineux, Corps Gras, Lipides* 17(1): 1-5.
- Davis V.M., Marquardt P.T., Johnson W.G. (2008). Volunteer corn in northern Indiana soybean correlates to glyphosate-resistant corn adoption. *Crop Management*(July): CM-2008-0721-01-BR.
- Dillehay B.L., Curran W.S. (2010). Comparison of herbicide programs for weed control in glyphosate-resistant alfalfa. *Weed Technology* 24(2): 130-138.
- Duroueix F., Lecomte V., Leflon M., Lieven J. (2010). Assurer la durabilité des solutions à base d'inhibiteurs de l'ALS avec l'arrivée de nouveaux herbicides en cultures d'oléagineux, *XXIème conférence du Columa*, Dijon, AFPP, ed.: 52-64.
- Fernandez-Cornejo J., Nehring R.F., Newcomb Sinha E., Grube A., Vialou A. (2009). Assessing recent trends in pesticide use in U.S. Agriculture, 2009 Meetings of the AAEA, Milwaukee, Wisconsin, 2009/07/26-28, Agricultural and Applied Economics Association: 29 p.
- Ferrell J.A., Witt W.W. (2002). Comparison of glyphosate with other herbicides for weed control in corn (*Zea mays*): Efficacy and economics. *Weed Technology* 16(4): 701-706.
- Gauvrit C. (1996). Efficacité et sélectivité des herbicides, INRA Editions, Versailles, ix + 158 p.

- Gianessi L.P. (2005). Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science* 61(3): 241-245.
- Groote H.d., Wangare L., Kanampiu F., Odendo M., Diallo A., Karaya H., Friesen D. (2008). The potential of a herbicide resistant maize technology for Striga control in Africa. *Agricultural Systems* 97(1/2): 83-94.
- Harker K.N., Clayton G.W., Blackshaw R.E., O'Donovan J.T., Lupwayi N.Z., Johnson E.N., Gan Y., Zentner R.P., Lafond G.P., Irvine R.B. (2005). Glyphosate-resistant spring wheat production system effects on weed communities. *Weed Science* 53(4): 451-464.
- Harker K.N., Clayton G.W., O'Donovan J.T., Blackshaw R.E., Stevenson F.C. (2004). Herbicide timing and rate effects on weed management in three herbicide-resistant canola systems. *Weed Technology* 18(4): 1006-1012.
- Hawes C., Squire G.R., Hallett P.D., Watson C.A., Young M. (2010). Arable plant communities as indicators of farming practice. *Agriculture Ecosystems & Environment* 138(1-2): 17-26.
- Heap I. (2010). International survey of herbicide-resistant weeds. <http://www.weedscience.org/in.asp>.
- Hermann O. (2005). Le desherbage de la betterave doit-il toujours être si coûteux? *Betteravier* 39(413 Special issue): 12-14.
- James C.S. (2010). 2010 ISAAA report on global status of biotech/ GM crops. In "ISAAA Brief 42, [www.isaaa.org](http://www.isaaa.org)".
- Johnson W.G., Davis V.M., Kruger G.R., Weller S.C. (2009). Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations. *European Journal of Agronomy* 31(3): 162-172.
- Kishore G.M., Padgett S.R., Fraley R.T. (1992). History of herbicide-resistant crops, methods of development and current state of the art: emphasis on glyphosate tolerance. *Weed Technology* 6: 626-634.
- Kleiter G.A., Harris C., Stephenson G., Unsworth J. (2008). Comparison of herbicide regimes and the associated potential environmental effects of glyphosate-resistant crops versus what they replace in Europe. *Pest Management Science* 64(4): 479-488.
- Li Z. (2010). Discovery and application of herbicide resistant gene in foxtail millet. *Genomics and Applied Biology* 29(4): 768-774.
- Longchamp R., Faivre-Dupaigre R., Gautheret R. (1959). Remarques sur l'évolution des populations de plantes adventices. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences* T248(Part1): 1078-1081.
- Mamy L., Barriuso E., Gabrielle B. (2011). Impacts sur l'environnement des herbicides utilisés dans les cultures génétiquement modifiées. *Courrier de l'Environnement de l'INRA*(60): 15-24.
- Maxwell B.D., Mortimer A.M. (1994). Selection for herbicide resistance. In *Herbicide resistance in plants*, (Powles S.B., Holtum J.A.M., eds.), Lewis Publishers, Boca Raton: 1-25.
- McHuguen A., Holm F. (1991). Herbicide resistant transgenic flax field test: agronomic performance in normal and sulfonylurea-containing soils. *Euphytica* 55(1): 49-56.
- Miller D.K., Downer R.G., Stephenson D.O.I. (2010). Impact of mixing an aqueous capsule suspension formulation of pendimethalin and glyphosate on growth and yield of second-generation glyphosate-resistant cotton. *Journal of Cotton Science* 14(3): 181-185.
- Owen M.D.K. (2008). Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science* 64(4): 377-387.
- Powles S.B. (2008). Evolution in action: glyphosate-resistant weeds threaten world crops. *Outlooks on Pest Management* 19(6): 256-259.
- Pozniak C.J., Holm F.A., Hucl R.J. (2004). Field performance of imazamox-resistant spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science* 84(4): 1205-1211.
- Puricelli E., Tunesca D. (2005). Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences. *Crop Protection* 24(6): 533-542.
- Radi A., Goldwasser Y., Eizenberg H., Hershenhorn J., Golan S., Kleifeld Y. (2001). Broomrape (*Orobanche cumana*) control in sunflower (*Helianthus annuus*) with imazapic. *Weed Technology* 15(2): 306-309.
- Reddy K.N., Whiting K. (2000). Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant, and conventional soybean (*Glycine max*) systems. *Weed Technology* 14(1): 204-211.
- Richard-Molard M., Muchembled C., Gestat de Garambé T. (1996). Expérimentations aux champs de betteraves tolérantes à un herbicide non sélectif: premiers résultats et perspectives, *Xème Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes*, Dijon, AFPP, ed.: 231-238.
- Sankula S. (2006). Quantification of the impacts on US agriculture of biotechnology-derived crops planted in 2005. <http://www.ncfap.org>.
- Schutte B.J., Hager A.G., Davis A.S. (2010). Respray Requests on Custom-Applied, Glyphosate-Resistant Soybeans in Illinois: How Many and Why. *Weed Technology* 24(4): 590-598.

- Shaner D.L. (1996). Herbicide-resistant crops: a new tool in herbicide-resistant weed management. *Second International Weed Control Congress*, Copenhagen, 421-425.
- Shaner D.L. (2000). The impact of glyphosate-tolerant crops on the use of other herbicides and on resistance management. *Pest Management Science* 56(4): 320-326.
- Squire G.R., Hawes C., Begg G.S., Young M.W. (2009). Cumulative impact of GM herbicide-tolerant cropping on arable plants assessed through species-based and functional taxonomies. *Environmental Science and Pollution Research* 16(1): 85-94.
- Stanton R.A., Pratley J.E., Hudson D., Dill G.M. (2010). Herbicide tolerant canola systems and their impact on winter crop rotations. *Field Crops Research* 117(1): 161-166.
- Steele G.L., Chandler J.M., McCauley G.N. (2002). Control of red rice (*Oryza sativa*) in imidazolinone-tolerant rice (O-sativa). *Weed Technology* 16(3): 627-630.
- Tingle C.H., Chandler J.M. (2004). The effect of herbicides and crop rotation on weed control in glyphosate-resistant crops. *Weed Technology* 18(4): 940-946.
- Tranel P.J., Wright T.R. (2002). Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science* 50(6): 700-712.
- VanGessel M.J. (2001). Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science* 49(6): 703-705.
- Vidal R.A., Rainero H.P., Kalsing A., Trezzi M.M. (2010). Exploration of Herbicide Associations to Prevent Glyphosate Tolerant and Resistant Weeds. *Planta Daninha* 28(1): 159-165.
- Walsh M.J., Owen M.J., Powles S.B. (2007). Frequency and distribution of herbicide resistance in *Raphanus raphanistrum* populations randomly collected across the Western Australian wheatbelt. *Weed Research (Oxford)* 47(6): 542-550.
- Weed Science Society of America (1992). Symposium on the development of herbicide-resistant crop cultivars. *Weed Technology* 6(3): 611-668.
- Wilson R.G., Miller S.D., Westra P., Kniss A.R., Stahlman P.W., Wicks G.W., Kachman S.D. (2007). Glyphosate-induced weed shifts in glyphosate-resistant corn or a rotation of glyphosate-resistant corn, sugarbeet, and spring wheat. *Weed Technology* 21(4): 900-909.
- Young B.G., Hart S.E. (1997). Control of volunteer sethoxydim-resistant corn (*Zea mays*) in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology* 11(4): 649-655.

### **Section 3.1.2. Effets de la simplification du contrôle non-chimique des adventices sur la flore adventice**

- Affeldt R.P., Albrecht K.A., Boerboom C.M., Bures E.J. (2004). Integrating herbicide-resistant corn technology in a kura clover living mulch system. *Agronomy Journal* 96(1): 247-251.
- Andersen M.N., Sausse C., Lacroix B., Caul S., Messean A. (2007). Agricultural studies of GM maize and the field experimental infrastructure of ECOGEN. *Pedobiologia* 51(3): 175-184.
- Anderson R.L. (1999). Cultural strategies reduce weed densities in summer annual crops. *Weed Technology* 13(2): 314-319.
- Anderson R.L. (2000). A cultural system approach can eliminate herbicide need in semiarid proso millet (*Panicum miliaceum*). *Weed Technology* 14(3): 602-607.
- Anderson R.L. (2004). Impact of subsurface tillage on weed dynamics in the Central Great Plains. *Weed Technology* 18(1): 186-192.
- Anderson R.L. (2007). A changing perspective with weed management in semi-arid cropping systems. *Annals of Arid Zone* 46(3/4): 285-299.
- Andersson L., Milberg P., Noronha A. (1997). Germination response of weed seeds to light, light of short duration and darkness after stratification in soil. *Swedish Journal of Agricultural Research* 27(3): 113-120.
- Anken T., Weisskopf P., Zihlmann U., Forrer H., Jansa J., Perhacova K. (2004). Long-term tillage system effects under moist cool conditions in Switzerland. *Soil & Tillage Research* 78(2): 171-183.
- Asai M., Yogo Y. (2010). Effect of a diquat-paraquat herbicide mixture and straw cover on wild oat (*Avena fatua*) seedling emergence. *Journal of Weed Science and Technology* 55(3): 167-173.
- Askew S.D., Bailey W.A., Scott G.H., Wilcut J.W., Everman W.J. (2004). Economic assessment of weed management for transgenic and non-transgenic cotton (*Gossypium hirsutum*) in conventional and no tillage systems, Proceedings of the 26th Southern Conservation Tillage Conference for Sustainable Agriculture, Raleigh, North Carolina, USA, 8-9 June, 2004., North Carolina Agricultural Research Service, North Carolina State University: 246-255.

- Bai Y., Romo J.T., Young J.A. (1995). Influences of temperature, light and water stress on germination of fringed sage (*Artemisia frigida*). *Weed Sci.* 43: 219-225.
- Baker J., Preston C. (2008). Canola (*Brassica napus* L.) seedbank declines rapidly in farmer-managed fields in South Australia. *Australian Journal of Agricultural Research* 59(8): 780-784.
- Baker J.L. (1982). Effect of crop residue on soil erosion and herbicide fate, *Proceedings, North Central Weed Control Conference.*: 132-134.
- Banerjee S., Martin S.W., Roberts R.K., Larson J.A., Hogan R.J., Jr., Johnson J.L., Paxton K.W., Reeves J.M. (2009). Adoption of conservation-tillage practices and herbicide-resistant seed in cotton production. *AgBioForum* 12(3/4): 258-268.
- Baraibar B., Westerman P.R., Recasens J. (2009). Effects of tillage and irrigation in cereal fields on weed seed removal by seed predators. *Journal of Applied Ecology* 46(2): 380-387.
- Bàrberi P., Lo Cascio B. (2001). Long-term tillage and crop rotation effects on weed seedbank size and composition. *Weed Research* 41(4): 325-340.
- Barnes J.P., Putnam A.R. (1983). Rye residues contribute weed suppression in no-tillage cropping systems. *Journal of Chemical Ecology* 9(8): 1045-1057.
- Barralis G., Chadoeuf R., Lonchamp J.P. (1988). Longévité des semences de mauvaises herbes annuelles dans un sol cultivé. *Weed Research.* 28: 407-418.
- Baskin J.M., Baskin C.C. (1986). Seasonal changes in the germination responses of buried switchgrass (*Panicum capillare*) seeds. *Weed Science* 34: 22-24.
- Baskin J.M., Baskin C.C. (1990). The role of light and alternating temperatures on germination of *Polygonum aviculare* seeds exhumed on various dates. *Weed Research* 30: 397-402.
- Baumhardt R.L., Jones O.R. (2002). Residue management and tillage effects on soil-water storage and grain yield of dryland wheat and sorghum for a clay loam in Texas. *Soil & Tillage Research* 68(2): 71-82.
- Baumhardt R.L., Keeling J.W., Wendt C.W. (1993). TILLAGE AND RESIDUE EFFECTS ON INFILTRATION INTO SOILS CROPPED TO COTTON. *Agronomy Journal* 85(2): 379-383.
- Baumhardt R.L., Lascano R.J. (1996). Rain infiltration as affected by wheat residue amount and distribution in ridged tillage. *Soil Science Society of America Journal* 60(6): 1908-1913.
- Beale M.W. (1986). Fall panicum (*Panicum dichotomiflorum* Michx.) interference in corn (*Zea mays* L.). *Dissertation Abstracts International, B (Sciences and Engineering)* 46(7): 2129B.
- Beckie H.J., Leeson J.Y., Thomas A.G., Hall L.M., Brenzil C.A. (2008). Risk assessment of weed resistance in the Canadian prairies. *Weed Technology* 22(4): 741-746.
- Beckie H.J., Owen M.D.K. (2007). Herbicide-resistant crops as weeds in North America. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 2(044): 22 pp.
- Benvenuti S., Macchia M., Miele S. (2001). Light, temperature and burial depth effects on *Rumex obtusifolius* seed germination and emergence. *Weed Research* 41: 177-186.
- Bergkvist G. (2003). Influence of white clover traits on biomass and yield in winter wheat- or winter oilseed rape-clover intercrops. *Biological Agriculture & Horticulture* 21(2): 151-164.
- Blackshaw R.E., Beckie H.J., Molnar L.J., Entz T., Moyer J.R. (2005). Combining agronomic practices and herbicides improves weed management in wheat-canola rotations within zero-tillage production systems. *Weed Science* 53(4): 528-535.
- Blackshaw R.E., Lindwall C.W. (1995). MANAGEMENT-SYSTEMS FOR CONSERVATION FALLOW ON THE SOUTHERN CANADIAN PRAIRIES. *Canadian Journal of Soil Science* 75(1): 93-99.
- Bliss D., Smith H. (1985). Penetration of light into soil and its role in the control of seed germination. *Plant Cell Environ.* 8(7): 475-483.
- Boerboom C.M. (1999). Nonchemical options for delaying weed resistance to herbicides in midwest cropping systems. *Weed Technology* 13(3): 636-642.
- Boudry P., Morchen M., Saumitou-Laprade P., Vernet P., Dijk H.v. (1993). The origin and evolution of weed beets: consequences for the breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beets. *Theoretical and Applied Genetics* 87(4): 471-478.
- Boutsalis P., Powles S.B. (1998). Seedbank characteristics of herbicide-resistant and susceptible *Sisymbrium orientale*. *Weed Research (Oxford)* 38(5): 389-395.
- Bouwmeester H.J., Karssen C.M. (1993). The effect of environmental conditions on the annual dormancy pattern of seeds of *Spergula arvensis*. *Canadian journal of botany* 71(1): 64-73.

- Buhler D.D. (1997). Effects of tillage and light environment on emergence of 13 annual weeds. *Weed Technology* 11(3): 496-501.
- Buhler D.D., Stoltenberg D.E., Becker R.I., Gunsolus J.L. (1994). Perennial weed populations after 14 years of variable tillage and cropping practices. *Weed Science* 42(2): 205-209.
- Cannell R.Q., Hawes J.D. (1994). Trends in tillage practices in relation to sustainable crop production with special reference to temperate climates. *Soil and Tillage Research* 30(2-4): 245-282.
- Carof M., Tourdonnet S.d., Saulas P., Floch D.I., Roger-Estrade J. (2007). Undersowing wheat with different living mulches in a no-till system. I. Yield analysis. *Agronomy for Sustainable Development* 27(4): 347-356.
- Carter M.R., Ivany J.A. (2006). Weed seed bank composition under three long-term tillage regimes on a fine sandy loam in Atlantic Canada. *Soil & Tillage Research* 90(1-2): 29-38.
- Catizone P., Tedeschi M., Baldoni G. (1990). Influence of crop management on weed populations and wheat yield, Symposium on integrated weed management in cereals. Proceedings of an EWRS symposium, Helsinki, Finland, 4-6 June 1990., European Weed Research Society: 119-125.
- Cavan G., Cussans J., Moss S. (2001). Managing the risks of herbicide resistance in wild oat. *Weed Science* 49(2): 236-240.
- Cavan G., Cussans J., Moss S.R. (2000). Modelling different cultivation and herbicide strategies for their effect on herbicide resistance in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research (Oxford)* 40(6): 561-568.
- Cerdeira A.L., Duke S.O. (2006). The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: a review. *Journal of Environmental Quality* 35(5): 1633-1658.
- Chatelin M.H., Aubry C., Poussin J.C., Meynard J.M., Masse J., Verjux N., Gate P., Le Bris X. (2005). DéciBlé, a software package for wheat crop management simulation. *Agricultural Systems* 83(1): 77-99.
- Chauvel B., Guillemin J.P., Colbach N. (2009). Evolution of a herbicide-resistant population of *Alopecurus myosuroides* Huds. in a long-term cropping system experiment. *Crop Protection* 28(4): 343-349.
- Chauvel B., Guillemin J.P., Colbach N., Gasquez J. (2001). Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 20(2): 127-137.
- Christian D.G. (1993). Effect of reduced cultivation, ploughing and herbicides on the occurrence of volunteer cereal grains in winter wheat and barley. *Aspects of Applied Biology* 35: 83-88.
- Christoffoleti P.J., Lopez Ovejero R.F. (2002). Mechanisms of herbicide action and resistance of weeds, Anais do II Congresso Brasileiro de Soja e Mercosoja, 3-6 junho 2002, Foz do Iguacu, PR, Brazil., Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Soja: 331-345.
- Cirujeda A., Recasens J., Taberner A. (2003). Effect of ploughing and harrowing on a herbicide resistant corn poppy (*Papaver rhoeas*) population. *Biological Agriculture & Horticulture* 21(3): 231-246.
- Cirujeda A., Taberner A. (2009). Cultural control of herbicide-resistant *Lolium rigidum* Gaud. populations in winter cereal in Northeastern Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7(1): 146-154.
- Clausen J.C., Jokela W.E., Potter F.I., Williams J.W. (1996). Paired watershed comparison of tillage effects on runoff, sediment, and pesticide losses. *Journal of Environmental Quality* 25(5): 1000-1007.
- Clayton G.W., Harker K.N., O'Donovan J.T., Blackshaw R.E., Dosdall L., Stevenson F.C., Johnson E.N., Ferguson T. (2004a). Polymer seed coating of early- and late-fall-seeded herbicide-tolerant canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Canadian Journal of Plant Science* 84(4): 971-979.
- Clayton G.W., Harker K.N., O'Donovan J.T., Blackshaw R.E., Dosdall L.M., Stevenson F.C., Ferguson T. (2004b). Fall and spring seeding date effects on herbicide-tolerant canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Canadian Journal of Plant Science* 84(2): 419-430.
- Clements D.R., Benoit D.L., Murphy S.D., Swanton C.J. (1996). Tillage effects on weed seed return and seedbank composition. *Weed Science* 44(2): 314-322.
- Colbach N. (2009). How to model and simulate the effects of cropping systems on population dynamics and gene flow at the landscape level. Example of oilseed rape volunteers and their role for co-existence of GM and non-GM crops. *Environmental Sciences & Pollution Research* 16: 348-360.
- Colbach N., Chauvel B., Dürr C., Richard G. (2002a). Effect of environmental conditions on *Alopecurus myosuroides* germination. I. Effect of temperature and light. *Weed Research* 42: 210-221.
- Colbach N., Chauvel B., Gauvrit C., Munier-Jolain N.M. (2007). Construction and evaluation of ALOMYSYS modelling the effects of cropping systems on the blackgrass life-cycle: from seedling to seed production. *Ecological Modelling* 201(3/4): 283-300.

- Colbach N., Dürr C. (2003). Effects of seed production and storage conditions on blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) germination and shoot elongation with time. *Weed Science* 51: 708-717.
- Colbach N., Dürr C., Chauvel B., Richard G. (2002b). Effect of environmental conditions on *Alopecurus myosuroides* germination. II. Effect of moisture conditions and storage length. *Weed Research* 42: 222-230.
- Colbach N., Dürr C., Gruber S., Pekrun C. (2008). Modelling the seed bank evolution and emergence of oilseed rape volunteers for managing co-existence of GM and non-GM varieties. *European Journal of Agronomy* 28(1): 19-32.
- Colbach N., Dürr C., Roger-Estrade J., Chauvel B., Caneill J. (2006). ALOMYSYS: Modelling black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) germination and emergence, in interaction with seed characteristics, tillage and soil climate - I. Construction. *European Journal Of Agronomy* 24(2): 95--112.
- Colbach N., Kurstjens D.A.G., Munier-Jolain N.M., Dulout-Dalbiès A., Doré T. (2010a). Assessing non-chemical weeding strategies through a modelling approach applied to blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) dynamics. *European Journal of Agronomy* 32: 205-218.
- Colbach N., Roger-Estrade J., Chauvel B., Caneill J. (2000). Modelling vertical and lateral seed bank movements during mouldboard ploughing. *European Journal of Agronomy* 13: 111-124.
- Colbach N., Schneider A., Ballot R., Vivier C. (2010b). Diversifying cereal-based rotations to improve weed control. Evaluation with the ALOMYSYS model quantifying the effect of cropping systems on a grass weed. *OCL* 17: in press.
- Cook R.J. (2006). Toward cropping systems that enhance productivity and sustainability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(49): 18389-18394.
- Costa J., Fernandez J., Gonzalez J., Novillo C., Rodriguez J J., Valera A. (2001). Easier conservation agriculture with Roundup Ready varieties, *Actas Congreso 2001 Sociedad Espanola de Malherbologia*, Leon Spain, 20, 21 y 22 de noviembre de 2001., *Sociedad Espanola de Malherbologia (Spanish Weed Science Society)*: 305-309.
- Cousens R., Moss S.R. (1990). A model of the effects of cultivation on the vertical distribution of weed seeds within the soil. *Weed Research*. 30: 61-70.
- Dao T.H. (1987). Crop residues and management of annual grass weeds in continuous no-till wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Science* 35(3): 395-400.
- Davidson R.M. (1990). Management of herbicide resistant annual ryegrass, *Lolium rigidum*, in crops and pastures, *Proceedings of the 9th Australian Weeds Conference*.: 230-233.
- Davies D.B., Finney J.B. (2002). Reduced cultivations for cereals: research, development and advisory needs under changing economic circumstances. *HGCA Research Review*(48): 57 pp.
- DeGregorio R.E., Ashley R.A. (1985). Screening living mulches and cover crops for weed suppression in no-till sweetcorn. *Proceedings, 39th annual meeting of the Northeastern Weed Science Society*.: 80-84.
- DeGregorio R.E., Ashley R.A. (1986). Screening living mulches/clover crops for no-till snap beans. *Proceedings, 40th annual meeting of the Northeastern Weed Science Society*.: 87-91.
- Derksen D.A., Harker K.N., Blackshaw R.E. (1999). Herbicide tolerant crops and weed population dynamics in western Canada, 1999 Brighton conference: Weeds. Volume 2. *Proceedings of an international conference*, Brighton, UK, 15-18 November 1999.: 417-424.
- Desplanque B., Boudry P., Broomberg K., Saumitou-Laprade P., Cuguen J., Van Dijk H. (1999). Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L-(Chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 98(8): 1194-1201.
- Dickens R., Moore G.M. (1974). Effects of light, temperature, KNO<sub>3</sub>, and storage on germination of gogongrass. *Agronomy Journal*(2): 187-188.
- Douglas A., Peltzer S.C. (2004). Managing herbicide resistant annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) in no-till systems in Western Australia using occasional inversion ploughing, *Weed management: balancing people, planet, profit*. 14th Australian Weeds Conference, Wagga Wagga, New South Wales, Australia, 6-9 September 2004: papers and proceedings., *Weed Society of New South Wales*: 300-303.
- Drobny H.G., Salas M., Claude J.P. (2006). Management of metabolic resistant black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) populations in Germany - challenges and opportunities. *Journal of Plant Diseases and Protection*: 65-72.
- Duiker S.W., Hartwig N.L. (2004). Living mulches of legumes in imidazolinone-resistant corn. *Agronomy Journal* 96(4): 1021-1028.
- Edwards W.M., Triplett G.B., Van Doren D.M., Owens L.B., Redmond C.E., Dick W.A. (1993). Tillage studies with a corn-soybean rotation: hydrology and sediment loss. *Soil Science Society of America Journal* 57(4): 1051-1055.
- Enache A.J., Ilnick R.D. (1990). Weed control by subterranean clover (*Trifolium subterraneum*) used as a living mulch. *Weed Technology* 4(3): 534-538.

- English B.C., Chi Q., Roberts R.K., Larson J. (2005). The use of Bayes' theorem to explore the adoption of herbicide-tolerant cotton seed and no-tillage production practices, Proceedings of the 27th Southern Conservation Tillage Systems Conference, Florence, South Carolina, USA, 27-29 June, 2005., North Carolina Agricultural Research Service, North Carolina State University: 42-46.
- Fawcett R., Towery D. (2004). Conservation tillage and plant biotechnology: how new technologies can improve the environment by reducing the need to plow, Conservation tillage and plant biotechnology: how new technologies can improve the environment by reducing the need to plow, Conservation Technology Information Center, West Lafayette, 20.
- Fawcett R.S., Christensen B.R., Tierney D.P. (1994). THE IMPACT OF CONSERVATION TILLAGE ON PESTICIDE RUNOFF INTO SURFACE-WATER - A REVIEW AND ANALYSIS. *Journal of Soil and Water Conservation* 49(2): 126-135.
- Fernandez-Cornejo J., McBride W.D. (2002). Genetically engineered crops: U.S. adoption & impacts. *Agricultural Outlook*(294): 24-27.
- Ferreras L.A., Costa J.L., Garcia F.O., Pecorari C. (2000). Effect of no-tillage on some soil physical properties of a structural degraded Petrocalcic Paleudoll of the southern "Pampa" of Argentina. *Soil & Tillage Research* 54(1-2): 31-39.
- Forcella F., Benech-Arnold R.L., Sanchez R., Ghersa C.M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research* 67(2): 123-139.
- Franzluebbers A.J. (2002). Soil organic matter stratification ratio as an indicator of soil quality. *Soil & Tillage Research* 66: 95-106.
- Fried G., Norton L.R., Reboud X. (2008). Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 128(1-2): 68-76.
- Frisvold G.B., Boor A., Reeves J.M. (2009). Simultaneous diffusion of herbicide resistant cotton and conservation tillage. *AgBioForum* 12(3/4): 249-257.
- Froud-Williams R.J., Drennan D.S.H., Chancellor R.J. (1984). The influence of burial and dry-storage upon cyclic changes in dormancy, germination and response to light in seeds of various arable weeds. *New Phytologist* 96: 473-481.
- Furlani C.E.A., Gamero C.A., Levien R., Lopes A. (2003). Soil penetration resistance in conventional tillage, chiseling and no-till systems. *Engenharia Agricola* 23(3): 579-587.
- Fykse H., Lundekvam H., Romstad E. (2002). Environment and agriculture: the dichotomy of erosion and weed control. *Agricultural Effects on Ground and Surface Waters: Research at the Edge of Science and Society*(273): 29-33
- Gallagher R.S., Cardina J., Harrison S.K. (1995). Alternative management for no-till crop production, Clean water - clean environment - 21st century: team agriculture - working to protect water resources. Volume 3: practices, systems & adoption. Proceedings Kansas City, Missouri, USA, 5-8 March, 1995., American Society of Agricultural Engineers (ASAE): 105-107.
- Gardarin A. (2008). Modélisation des effets des systèmes de culture sur la levée des adventices à partir de relations fonctionnelles utilisant les traits des espèces. PhD Thesis, Université de Bourgogne, Dijon, France.
- Gardarin A., Dürr C., Colbach N. (2010a). Effects of seed depth and soil structure on the emergence of weeds with contrasted seed traits. *Weed Research* 50: 91-101.
- Gardarin A., Dürr C., Mannino M.R., Busset H., Colbach N. (2010b). Seed mortality in the soil is related to the seed coat thickness. *Seed Science Research* 20: 243-256.
- Gardner J.G., Nelson G.C. (2008). Herbicides, glyphosate resistance and acute mammalian toxicity: simulating an environmental effect of glyphosate-resistant weeds in the USA. *Pest Management Science* 64(4): 470-478.
- Givens W.A., Shaw D.R., Kruger G.R., Johnson W.G., Weller S.C., Young B.G., Wilson R.G., Owen M.D.K., Jordan D. (2009). Survey of tillage trends following the adoption of glyphosate-resistant crops. *Weed Technology* 23(1): 150-155.
- Graef F. (2009). Agro-environmental effects due to altered cultivation practices with genetically modified herbicide-tolerant oilseed rape and implications for monitoring. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29(1): 31-42.
- Gruber S., Bühler A., Möhring J., Claupein W. (2010). Sleepers in the soil—Vertical distribution by tillage and long-term survival of oilseed rape seeds compared with plastic pellets. *European Journal of Agronomy* 33(2): 81-88.
- Gruber S., Colbach N., Barbottin A., Pekrun C. (2008). Post-harvest gene escape and approaches for minimizing it. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 3(015): 17 pp.
- Gruber S., Pekrun C., Claupein W. (2004). Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage. *European Journal of Agronomy* 20(4): 351-361.
- Grundy A.C., Mead A., Burston S. (1999). Modelling the effect of cultivation on seed movement with application to the prediction of weed seedling emergence. *Journal of Applied Ecology* 36: 663-678.

- Gulden R.H., Sikkema P.H., Hamill A.S., Tardif F.J., Swanton C.J. (2010). Glyphosate-resistant cropping systems in Ontario: multivariate and nominal trait-based weed community structure. *Weed Science* 58(3): 278-288.
- Harker K.N., Blackshaw R.E., Clayton G.W., O'Donovan J.T., Johnson E.N., Gan Y., al. e. (2004). Defining agronomic implications of RoundUp Ready spring wheat production systems. Final Report., Agriculture and Agri-Food Canada; Lacombe and Beaverlodge Research Centre. [http://sci.agr.ca/lacombe/pub/rr65execsum\\_e.htm](http://sci.agr.ca/lacombe/pub/rr65execsum_e.htm)
- Harker K.N., Clayton G.W., Blackshaw R.E., O'Donovan J.T., Johnson E.N., Gan Y., Holm F.A., Sapsford K.L., Irvine R.B., Acker R.C.v. (2006). Persistence of glyphosate-resistant canola in Western Canadian cropping systems. *Agronomy Journal* 98(1): 107-119.
- Harker K.N., Clayton G.W., Blackshaw R.E., O'Donovan J.T., Lupwayi N.Z., Johnson E.N., Gan Y., Zentner R.P., Lafond G.P., Irvine R.B. (2005). Glyphosate-resistant spring wheat production system effects on weed communities. *Weed Science* 53(4): 451-464.
- Hinkle M.K. (1983). Problems with conservation tillage. *Journal of Soil and Water Conservation* 38(3): 201-206.
- Holland J.M. (2004). The environmental consequences of adopting conservation tillage in Europe: reviewing the evidence. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 103: 1-25.
- Hoppe J.H. (2002). Marshland struggles with black grass. *Getreide Magazin*(4): 202-205.
- Hornsey K.G., Arnold M.H. (1979). The origin of weed beet. *Annals of Applied Biology* 92: 279-285.
- Hughes K.A., Baker C.J. (1977). The effects of tillage and zero-tillage systems on soil aggregates in a silt loam. *Journal of Agricultural Engineering Research* 22(3): 291-301.
- Hulpoi N., Pintilie C., Sin G., Ionescu F., Nicolae C., Catargiu D., Nagy C., Pipie F., Timpeanu I. (1973). The influence of minimum cultivation on corn yields, soil characteristics and weed infestations under various soil conditions. *Analele Institutului de Cercetari pentru Cereale si Plant Tehnice, Fundulea, Seria B* 39: 159-171.
- Hussain I., Olson K.R., Siemens J.C. (1998). Long-term tillage effects on physical properties of eroded soil. *Soil Science* 163(12): 970-981.
- Ilnicki R.D., Enache A.J. (1992). Subterranean clover living mulch: an alternative method of weed control. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 40(1/4): 249-264.
- Jones O.R., Hauser V.L., Popham T.W. (1994). NO-TILLAGE EFFECTS ON INFILTRATION, RUNOFF, AND WATER CONSERVATION ON DRYLAND. *Transactions of the ASAE* 37(2): 473-479.
- Kirkland K.J., Johnson E.N. (2000). Alternative seeding dates (fall and April) affect Brassica napus canola yield and quality. *Canadian Journal of Plant Science* 80(4): 713-719.
- Kudsk P., Mathiassen S.K., Spliid N.H. (2007). Non-inversion tillage affects herbicide activity. *European Weed Research Society, 14th EWRS Symposium, Hamar, Norway, 17-21 June 2007*: 57.
- Kurstjens D.A.G. (2007). Precise tillage systems for enhanced non-chemical weed management. *Soil & Tillage Research* 97(2): 293-305.
- Kurstjens D.A.G., Kropff M.J. (2001). The impact of uprooting and soil-covering on the effectiveness of weed harrowing. *Weed Research* 41: 211-228.
- Kurstjens D.A.G., Perdok U.D. (2000). The selective soil covering mechanism of weed harrows on sandy soil. *Weed Research* 55: 193-206.
- Kurstjens D.A.G., Perdok U.D., Goense D. (2000). Selective uprooting by weed harrowing on sandy soils. *Weed Research* 40: 431-447.
- Lachnicht S.L., Hendrix P.F., Potter R.L., Coleman D.C., Crossley D.A., Jr. (2004). Winter decomposition of transgenic cotton residue in conventional-till and no-till systems. *Applied Soil Ecology* 27(2): 135-142.
- Lake G.G. (1991). Cropping systems using living mulches for no-till corn (*Zea mays*) production. *Dissertation Abstracts International. B, Sciences and Engineering* 52(2): 583B.
- Lampurlanes J., Cantero-Martinez C. (2003). Soil bulk density and penetration resistance under different tillage and crop management systems and their relationship with barley root growth. *Agronomy Journal* 95(3): 526-536.
- Légère A., Samson N. (2004). Tillage and weed management effects on weeds in barley-red clover cropping systems. *Weed Science* 52(5): 881-885.
- Levy R.J., Jr., Bond J.A., Webster E.P., Griffin J.L., Linscombe S.D. (2006). Effect of cultural practices on weed control and crop response in imidazolinone-tolerant rice. *Weed Technology* 20(1): 249-254.
- Liebman M., Drummond F.A., Corson S., Zhang J.X. (1996). Tillage and rotation crop effects on weed dynamics in potato production systems. *Agronomy Journal* 88(1): 18-26.



- Lonchamp J.P., Chadoeuf R., Barralis G. (1984). Évolution de la capacité de germination des semences de mauvaises herbes enfouies dans le sol. *Agronomie* 4: 671-682.
- Losada Cortinas E., Moreno-Gonzalez J. (1992). Control of yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.) in maize (*Zea mays* L.) crop with herbicide applications and crop rotations. *Investigacion Agraria, Produccion y Proteccion vegetales*. 7(1): 29-37.
- Lutman P.J.W., Cussans G.W., Wright K.J., Wilson B.J., Wright G.M., Lawson H.M. (2002). The persistence of seeds of 16 weed species over six years in two arable fields. *Weed Research* 42(3): 231-241.
- Malik R.K., Ashok Y., Banga R.S., Samar S. (2000). Zero-till wheat sowing and alternate herbicides against resistant *Phalaris minor* in rice-wheat cropping system. *Indian Journal of Weed Science* 32(3/4): 220-222.
- Martin R.J., Felton W.L. (1993). Effect of crop rotation, tillage practice, and herbicides on the population dynamics of wild oats in wheat. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 33(2): 159-165.
- May M.J. (2003). Economic consequences for UK farmers of growing GM herbicide tolerant sugar beet. *Annals of Applied Biology* 142(1): 41-48.
- Miller S.D., Nalewaja J.D. (1985). Weed spectrum change and control in reduced-till wheat. *North Dakota Farm Research* 43: 11-14.
- Mohler C.L. (1991). Effects of tillage and mulch on weed biomass and sweet corn yield. *Weed Technology* 5(3): 545-552.
- Morris N.L., Miller P.C.H., J.H.Orson, Froud-Williams R.J. (2010). The adoption of non-inversion tillage systems in the United Kingdom and the agronomic impact on soil, crops and the environment--A review. *Soil and Tillage Research* 108(1-2): 1-15.
- Moss S.R., Clarke J.H. (1994). Guidelines for the prevention and control of herbicide-resistant black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 13(3): 230-234.
- Moss S.R., Perryman S.A.M., Tatnell L.V. (2007). Managing herbicide-resistant blackgrass (*Alopecurus myosuroides*): theory and practice, "Fighting back." Proceedings of the symposium on grass weed resistance., 21, Weed Science Society of America: 300-309.
- Moss S.R., Tatnell L.V., Hull R., Clarke J.H., Wynn S., Marshall R. (2010). Integrated management of herbicide resistance. HGCA Project Report(466): xvii + 115 pp.
- Mulugeta D., Stoltenberg D.E. (1997). Weed and seedbank management with integrated methods as influenced by tillage. *Weed Science* 45(5): 706--715.
- Murphy C., Lemerle D., Medd R., Cullis B. (1999). Manipulation of wild radish emergence to accelerate seedbank decline: preliminary findings, 12th Australian Weeds Conference, Papers and Proceedings, Hobart, Tasmania, Australia, 12-16 September 1999: Weed management into the 21st century: do we know where we're going?, University of Tasmania: 256-260.
- Murphy C.E., Lemerle D. (2006). Continuous cropping systems and weed selection. *Euphytica* 148(1-2): 61-73.
- Murphy S.D., Clements D.R., Belaoussoff S., Kevan P.G., Swanton C.J. (2006). Promotion of weed species diversity and reduction of weed seedbanks with conservation tillage and crop rotation. *Weed Science* 54(1): 69-77.
- Nafziger E.D. (2004). Soybean production in the midwestern USA: technologies for sustainable and stable yields, Proceedings VII World Soybean Research Conference, IV International Soybean Processing and Utilization Conference, III Congresso Brasileiro de Soja (Brazilian Soybean Congress), Foz do Iguassu, PR, Brazil, 29 February-5 March, 2004., Brazilian Agricultural Research Corporation, National Soybean Research Center: 523-530.
- Nalewaja J.D. (2001). Weeds and conservation agriculture, Conservation agriculture, a worldwide challenge. First World Congress on conservation agriculture, Madrid, Spain, 1-5 October, 2001. Volume 1: keynote contributions., Xul: 191-200.
- Nalewaja J.D. (2003). Weeds and conservation agriculture, Conservation agriculture: environment, farmers experiences, innovations, socio-economy, policy, (Garcia-Torres L. et al., eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht Netherlands, 201-210.
- Neve P., Diggle A.J., Smith F.P., Powles S.B. (2003). Simulating evolution of glyphosate resistance in *Lolium rigidum* II: Past, present and future glyphosate use in Australian cropping. *Weed Research (Oxford)* 43(6): 418-427.
- Norsworthy J.K. (2004). Small-grain cover crop interaction with glyphosate-resistant corn (*Zea mays*). *Weed Technology* 18(1): 52-59.
- Norsworthy J.K. (2008). Effect of tillage intensity and herbicide programs on changes in weed species density and composition in the southeastern coastal plains of the United States. *Crop Protection* 27(2): 151-160.
- Norsworthy J.K., Frederick J.R. (2005). Integrated weed management strategies for maize (*Zea mays*) production on the southeastern coastal plains of North America. *Crop Protection* 24(2): 119-126.

- Norsworthy J.K., Oliveira M.J. (2007). Tillage and soybean canopy effects on common cocklebur (*Xanthium strumarium*) emergence. *Weed Science* 55(5): 474-480.
- Orson J.H., Livingston D.B.F. (1987). Field trials on the efficacy of herbicides on resistant black-grass (*Alopecurus myosuroides*) in different cultivation regimes, Proceedings 1987 British Crop Protection Conference, Weeds.: 887-899.
- Owen M.D.K. (2005). Maize and soybeans - Controllable volunteerism without ferality?, *Crop Fertility and Volunteerism*, (Gressel J., ed.), Crc Press-Taylor & Francis Group, Boca Raton, 149-165.
- Owen M.D.K. (2008). Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science* 64(4): 377-387.
- Owen M.D.K., Zelaya I.A. (2005). Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science* 61(3): 301-311.
- Papadopoulos A., Mooney S.J., Bird N.R.A. (2006). Quantification of the effects of contrasting crops in the development of soil structure: an organic conversion. *Soil Use and Management* 22(2): 172-179.
- Parochetti J.V., Bandeen J.D., Ryan G.F., Schnappinger M.G. (1979). Economic importance and control of triazine resistant weeds, Abstracts of 1979 Meeting of the Weed Science Society of America.: 110-111.
- Peigné J., Ball B.C., Roger-Estrade J., David C. (2007). Is conservation tillage suitable for organic farming? A review. *Soil Use and Management* 23(2): 129-144.
- Pekrun C., Claupein W. (2004). The effect of stubble tillage and primary tillage on population-dynamics of Canada thistle (*Cirsium arvense*) in organic farming. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz (Journal of Plant Diseases and Protection)*: 483-490.
- Peltzer S.C., Matson P. (2006). Windrow management for annual ryegrass control: bury, burn or bomb?, 15th Australian Weeds Conference, Papers and Proceedings, Adelaide, South Australia, 24-28 September 2006: Managing weeds in a changing climate., Weed Management Society of South Australia: 335-338.
- Petersen J., Koch S., Hurlé K. (2002). Development of maize and sugar beet mulchsystems using herbicide resistant varieties. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*: 561-571.
- Petersen J., Rover A. (2005). Comparison of sugar beet cropping systems with dead and living mulch using a glyphosate-resistant hybrid. *Journal of Agronomy and Crop Science* 191(1): 55-63.
- Planes J., Briceno R., Recasens J. (1999). Does the cereal sowing date influence in the management of herbicide-resistant *Lolium rigidum* populations?, SEMh Congreso 1999: Sociedad Espanola de Malherbologia, Actas, Logrono, Spain, 23-25 Noviembre 1999., Departamento Hortofruticultura, Botanica i Jardineria: 387-393.
- Popay A.I., Cox T.I., Ingle A., Kerr R. (1994). Effects of soil disturbance on weed seedling emergence and its long-term decline. *Weed Research* 34(6): 403-412.
- Powles S.B., Matthews J.M. (1996). Integrated weed management for the control of herbicide resistant annual ryegrass (*Lolium rigidum*), Proceedings of the second international weed control congress, Copenhagen, Denmark, 25-28 June 1996: Volumes 1-4., Department of Weed Control and Pesticide Ecology: 407-414.
- Primot S., Valantin-Morison M., Makowski D. (2006). Predicting the risk of weed infestation in winter oilseed rape crops. *Weed Research* 46(1): 22-33.
- Puricelli E., Tuesca D. (2005a). Effect of tillage system on the weed community in wheat and fallows in sequences with glyphosate resistant crops. *AgriScientia* 22(1/2): 69-78.
- Puricelli E., Tuesca D. (2005b). Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences. *Crop Protection* 24(6): 533-542.
- Rainbolt C.R., Thill D.C., Young F.L. (2004). Control of volunteer herbicide-resistant wheat and canola. *Weed Technology* 18(3): 711-718.
- Recasens J., Planes J., Bosque J.L., Briceno R., Taberner A. (2001). Management strategies for herbicide-resistant *Lolium rigidum* Gaud. populations, Actas Congreso 2001 Sociedad Espanola de Malherbologia, Leon Spain, 20, 21 y 22 de noviembre de 2001., Sociedad Espanola de Malherbologia (Spanish Weed Science Society): 117-122.
- Reddy K.N. (2001). Weed management in transgenic soybean resistant to glyphosate under conventional tillage and no-tillage systems. *Journal of New Seeds* 3(1): 27-40.
- Reddy K.N. (2003). Impact of rye cover crop and herbicides on weeds, yield, and net return in narrow-row transgenic and conventional soybean (*Glycine max*). *Weed Technology* 17(1): 28-35.
- Regnier E., Stoller E.W. (1981). A living mulch for weed control in soybeans, Proceedings North Central Weed Control Conference, 1981: 24-25.

- Richard-Molard M., Muchembled C., Gestat de Garambé T. (1996). Expérimentations aux champs de betteraves tolérantes à un herbicide non sélectif : premiers résultats et perspectives, Xème Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes, Dijon, France, Septembre 1996: 231-238.
- Richard G., Boizard H., Roger-Estrade J., Boiffin J., Guerif J. (1999). Field study of soil compaction due to traffic in northern France: pore space and morphological analysis of the compacted zones. *Soil & Tillage Research* 51(1-2): 151-160.
- Ritter R.L., Harris T.C., Varano W.J. (1985). Influence of herbicides and tillage on the control of triazine-resistant smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*) in corn (*Zea mays*) and soybeans (*Glycine max*). *Weed Science* 33(3): 400-404.
- Roger-Estrade J., Colbach N., Leterme P., Richard G., Caneill J. (2001). Modelling vertical and lateral weed seed movements during mouldboard ploughing with a skim-coulter. *Soil & Tillage Research* 63: 35-49.
- Roger-Estrade J., Richard G., Manichon H. (2000). A compartmental model to simulate temporal changes in soil structure under two cropping systems with annual mouldboard ploughing in a silt loam. *Soil Tillage Research* 54: 41-53.
- Roller A., Beismann H., Albrecht H. (2002). Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape - first observations under practically relevant conditions in South Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*: 255-260.
- Roller A., Beismann H., Albrecht H. (2003). The influence of soil cultivation on the seed bank of GM-herbicide tolerant and conventional oilseed rape, Seedbanks: Determination, dynamics and management. Papers from a meeting of the Association of Applied Biologists, Reading, UK, 17-18 September, 2003., Association of Applied Biologists: 131-135.
- Romaneckas K., Romaneckiene R., Pilipavicius V. (2009). Non-chemical weed control in sugar beet crop under intensive and conservation soil tillage: I. Crop weediness, Fostering on healthy food systems through organic agriculture, Tartu, Estonia, 25-27 August 2009., 7, Estonian University of Life Sciences, Jogeva Plant Breeding Institute, Estonian Research Institute of Agriculture: 457-464.
- Sainju U.M., Singh B.P. (1997). Winter cover crops for sustainable agricultural systems: Influence on soil properties, water quality, and crop yields. *HortScience* 32(1): 21-28.
- Samarajeewa K.B.D.P., Horiuchi T., Oba S. (2005). Weed population dynamics in wheat as affected by *Astragalus sinicus* L. (Chinese milk vetch) under reduced tillage. *Crop Protection* 24: 864-869.
- Schier A. (2006). Field study on the occurrence of ground beetles and spiders in genetically modified, herbicide tolerant corn in conventional and conservation tillage systems. *Journal of Plant Diseases and Protection*: 101-113.
- Schneider W., Walter H., Koch W., Kemmer A. (1984). Möglichkeiten und Probleme der Integration acker-baulicher Maßnahmen zur Unkrautbekämpfung im realen Betrieb - Beispiel aus dem Unterland, Baden-Württemberg. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Sonderheft X*: 241-257.
- Scopel A.L., Ballare C.L., Sanchez R.A. (1991). Induction of extreme light sensitivity in buried weed seeds and its role in the perception of soil cultivations. *Plant Cell Environ.* 14: 501-508.
- Sester M., Colbach N., Darmency H. (2005). Definition of cropping systems that limit transgenic weed beet spread. The modelling approach, Genetic modification in sugar beet, (Pidgeon J. et al., eds.), International Institute for Beet Research, Brussels Belgium, 61-72.
- Sester M., Dürr C., Darmency H., Colbach N. (2007). Modelling the effects of cropping systems on the seed bank dynamics and the emergence of weed beet. *Ecological Modelling* 204(1-2): 47-58.
- Sester M., Tricault Y., Darmency H., Colbach N. (2008). GeneSys-Beet: a model of the effects of cropping systems on gene flow between sugar beet and weed beet. *Field Crops Research* 107(3): 245-256.
- Shukla M.K., Lal R., Ebinger M. (2003). Tillage effects on physical and hydrological properties of a Typic Argiaquoll in Central Ohio. *Soil Science* 168(11): 802-811.
- Singer J.W., Kohler K.A., Moore K.J., Meek D.W. (2009). Living mulch forage yield and botanical composition in a corn-soybean-forage rotation. *Agronomy Journal* 101(5): 1249-1257.
- Sommer C., Zach M. (1992). MANAGING TRAFFIC-INDUCED SOIL COMPACTION BY USING CONSERVATION TILLAGE. *Soil & Tillage Research* 24(4): 319-336.
- Sosnoskie L.M., Herms C.P., Cardina J., Webster T.M. (2009). Seedbank and emerged weed communities following adoption of glyphosate-resistant crops in a long-term tillage and rotation study. *Weed Science* 57(3): 261-270.
- Squire G.R., Burn D., Crawford J.W. (1997). A model for the impact of herbicide tolerance on the performance of oilseed rape as a volunteer weed. *Annals of Applied Biology* 131(2): 315-338.
- Steiner J.L. (1994). Crop residue effects on water conservation, *Managing agricultural residues.*, (Unger P.W., ed.), 41-76.
- Stevenson F.C., Légère A., Simard R.R., Angers D.A., Pageau D., Lafond J. (1997). Weed species diversity in spring barley varies with crop rotation and tillage, but not with nutrient source. *Weed Science* 45(6): 798-806.

- Taylorson R.B. (1972). Phytochrome controlled changes in dormancy and germination of buried weed seeds. *Weed Science* 20(5): 417-422.
- Teasdale J.R. (2007). Strategies for soil conservation in no-tillage and organic farming systems. *Journal of Soil and Water Conservation (Ankeny)* 62(6): 144A-147A.
- Teasdale J.R., Beste C.E., Potts W.E. (1991). Response of weeds to tillage and cover crop residue. *Weed Science*. 39: 195-199.
- Teasdale J.R., Coffman C.B., Mangum R.W. (2007). Potential long-term benefits of no-tillage and organic cropping systems for grain production and soil improvement. *Agronomy Journal* 99(5): 1297-1305.
- Teasdale J.R., Mohler C.L. (1993). Light transmittance, soil-temperature, and soil-moisture under residue of hairy vetch and rye. *Agronomy Journal* 85(3): 673-680.
- Terpstra R. (1986). Behavior of weed seed in soil clods. *Weed Science* 34: 889-895.
- Tharp B.E., Kells J.J. (2001). Delayed burndown in no-tillage glyphosate-resistant corn (*Zea mays*) planted into soybean (*Glycine max*) residue and a wheat (*Triticum aestivum*) cover crop. *Weed Technology* 15(3): 467-473.
- Thompson K., Band S.R., Hodgson J.G. (1993). Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology* 7(2): 236-241.
- Thompson K., Grime J.P. (1983). A comparative study of germination responses to diurnally-fluctuating temperatures. *Journal of applied Ecology* 20: 141-156.
- Thompson K., Grime J.P., Mason G. (1977). Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature. *Nature* 267: 147-149.
- Torra J., Cirujeda A., Planes J., Aibar J., Taberner A., Recasens J. (2003). Seed bank persistence and effect of soil tillage on herbicide resistance of *Papaver rhoeas* and *Lolium rigidum* populations, Actas IX Congreso 2003 Sociedad Espanola de Malherbologia, Barcelona, Spain, 4-6 de noviembre de 2003., Sociedad Espanola de Malherbologia (Spanish Weed Science Society): 74-78.
- Torresen K.S., Skuterud R. (2002). Plant protection in spring cereal production with reduced tillage. IV. Changes in the weed flora and weed seedbank. *Crop Protection* 21(3): 179-193.
- Torresen K.S., Skuterud R., Tandsæther H.J., Hagemo M.B. (2003). Long-term experiments with reduced tillage in spring cereals. I. Effects on weed flora, weed seedbank and grain yield. *Crop Protection* 22(1): 185-200.
- Tricault Y., Darmency H., Colbach N. (2009). Identifying key components of weed beet management using sensitivity analyses of the GeneSys-Beet model in GM sugar beet. *Weed Research (Oxford)* 49(6): 581-591.
- Trigo E.J., Cap E.J. (2003). The impact of the introduction of transgenic crops in Argentinean agriculture. *AgBioForum* 6(3): 87-94.
- Ujj A., Bencsik K., Gyuricza C., Singh M.K. (2005). Soil penetration resistance influenced by different methods of primary tillage and catch crop, Proceedings of the IV ALPS-ADRIA Scientific Workshop, Portoroz, Slovenia, February 28-March 5, 2005., 33, Cereal Research Non-Profit Company: 141-144.
- Vidal R.A., Kalsing A., Goulart I., Lamego F.P., Christoffoleti P.J. (2007). Impact of temperature, light and seed depth on emergence and germination of *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* resistant to glyphosate. *Planta Daninha* 25(2): 309-315.
- Vrabel T.E., Minotti P.L., Sweet R.D. (1983). Regulating competition from white clover in a sweet corn living mulch system, Abstracts, 1983 Meeting of the Weed Science Society of America.: 4.
- Vrabel T.E., Minotti P.L., Sweet R.D. (1982) Suppression of legume sods in sweet corn living mulch systems, Proceedings Northeastern Weed Science Society.: 108-109.
- Vulllioud P. (1981). Problems of changes in weed population in crop rotations including sugar-beet, Proceedings International Institute for Sugar-beet Research 44th Winter Congress, Brussels, 1981.: 281-289.
- Wauchope R.D. (1978). Pesticide content of surface-water draining from agricultural fields. Review. *Journal of Environmental Quality* 7(4): 459-472.
- White J.G., Scott T.W. (1991). Effects of perennial forage-legume living mulches on no-till winter wheat and rye. *Field Crops Research* 28: 135-148.

### Section 3.2.1 Expansion spontanée de la VTH

- Al-Ahmad H., Dwyer J., Moloney M., Gressel J. (2006). Mitigation of establishment of *Brassica napus* transgenes in volunteers using a tandem construct containing a selectively unfit gene. *Plant Biotechnology Journal* 4(1): 7-21.

- Anderson R.L., Nielsen D.C. (1996). Emergence pattern of five weeds in the central great plains. *Weed Technology* 10: 744-749.
- Anderson R.L., Soper G. (2003). Review of volunteer wheat (*Triticum aestivum*) seedling emergence and seed longevity in soil. *Weed Technology* 17: 620-626.
- Aono M., Wakiyama S., Nagatsu M., Nakajima N., Tamaoki M., Kubo A., Saji H. (2006). Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan. *Environmental Biosafety Research* 5(2): 77-87.
- Arnaud J.F., Viard F., Delescluse M., Cuguen J. (2003). Evidence for gene flow via seed dispersal from crop to wild relatives in *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae): consequences for the release of genetically modified crop species with weedy lineages. *Proceedings of the Royal Society London, B* 270: 1565-1571.
- Arrigo N., Guadagnuolo R., Lappe S., Pasche S., Parisod C., Felber F. (2011). Gene flow between wheat and wild relatives: empirical evidence from *Aegilops geniculata*, *Ae. neglecta* and *Ae. triuncialis*. *Evolutionary Applications* 4(5): 685-695.
- Ayal S., Levy A.A. (2005). Wheat Domestication and Dedomestication - What Are the Odds? In *Crop Fertility and Volunteerism.*, (Gressel J., ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida: 167-174.
- Baker J., Preston C. (2008). Canola (*Brassica napus* L.) seedbank declines rapidly in farmer-managed fields in South Australia. *Australian Journal of Agricultural Research* 59(8): 780-784.
- Bartsch D., Ellstrand N.C. (1999). Genetic evidence for the origin of Californian wild beets (genus *Beta*). *Theoretical and Applied Genetics* 99: 1120-1130.
- Beckie H.J., Hall L.M., Tardif F.J., Bcpc B. (2001). Impact and management of herbicide-resistant weeds in Canada, Bcpc Conference - Weeds 2001, Vols 1 and 2, British Crop Protection Council, Farnham, 747-754.
- Beckie H.J., Harker K.N., Hall L.M., Warwick S.I., Legere A., Sikkema P.H., Clayton G.W., Thomas A.G., Leeson J.Y., Seguin-Swartz G., Simard M.J. (2006). A decade of herbicide-resistant crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 86(4): 1243-1264.
- Beckie H.J., Seguin-Swartz G., Harikumar N., Warwick S.I., Johnson E. (2004). Multiple herbicide-resistant canola can be controlled by alternative herbicides. *Weed Science* 52(1): 152-157.
- Beckie H.J., Warwick S.I., Nair H., Seguin-Swartz G. (2003). Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). *Ecological Applications* 13(5): 1276-1294.
- Bervillé A., Breton C., Cunliffe K., Darmency H., Good A.G., Gressel J., Hall L.M., McPherson M.A., Médail F., Pinatel C., Vaughan D.A., Warwick S.I. (2005). Issues of Fertility or Potential for Fertility in Oats, Olives, the Vigna Group, Ryegrass Species, Safflower, and Sugarcane. In *Crop Fertility and Volunteerism.*, (Gressel J., ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida: 231-256.
- Bigler F., Waldburger M., Frei G. (1995). Vier Maisanbauverfahren: Krankheiten und Schädlinge. *Agrarforschung* 2: 380-382.
- Blackshaw R.E., Harker K.N., Clayton G.W., O'Donovan J.T. (2006). Broadleaf herbicide effects on clethodim and quizalofop-P efficacy on volunteer wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Technology* 20(1): 221-226.
- Bond J.A., Walker T.W. (2009). Control of volunteer glyphosate-resistant soybean in rice. *Weed Technology* 23(2): 225-230.
- Boudry P., Morchen M., Saumitou-Laprade P., Vernet P., Dijk H.v. (1993). The origin and evolution of weed beets: consequences for the breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beets. *Theoretical and Applied Genetics* 87(4): 471-478.
- Bres-Patry C., Lorieux M., Clement G., Bangratz M., Ghesquiere A. (2001). Heredity and genetic mapping of domestication-related traits in a temperate japonica weedy rice. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 118-126.
- Brown B. J., Mitchell R. J., Graham S. A. (2002). Competition for pollination between an invasive species (purple loosestrife) and a native congener. *Ecology* 83: 2328-2336.
- Callaway R. M., Newingham B., Zabinski C. A., Mahall B. E. (2001). Compensatory growth and competitive ability of an invasive weed are enhanced by soil fungi and native neighbours. *Ecology Letters* 4: 429-433.
- Callaway R. M., Mahall B. E., Wicks C., Pankey J., Zabinsky C. (2003). Soil fungi and the effects of an invasive forb on grasses: neighbor identity matters. *Ecology* 84: 129-135.
- Callaway R. M., Thelen G. C., Rodriguez A., Holben W. E. (2004). Soil biota and exotic plant invasion. *Nature* 427: 731-733.
- Chittka L., Schurkens S. (2001). Successful invasion of a floral market. *Nature* 411: 653.
- Christian D.G. (1993). Effect of reduced cultivation, ploughing and herbicides on the occurrence of volunteer cereal grains in winter wheat and barley. *Aspects of Applied Biology* 35: 83-88.
- Claessen D., Gilligan C.A., van den Bosch F. (2005). Which traits promote persistence of feral GM crops? Part 2: implications of metapopulation structure. *Oikos* 110(1): 30-42.

- Clark J.M. (1985). Harvesting losses of spring wheat in windrower/combine and direct combine harvesting systems. *Agronomy Journal* 77: 13–7.
- Clements D.R., DiTommaso A., Jordan N., Booth B.D., Cardina J., Doohan D., Mohler C.L., Murphy S.D., Swanton C.J. (2004). Adaptability of plants invading North American cropland. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104: 379-398.
- Colbach N. (2009). How to model and simulate the effects of cropping systems on population dynamics and gene flow at the landscape level. Example of oilseed rape volunteers and their role for co-existence of GM and non-GM crops. *Environmental Sciences & Pollution Research* 16: 348–360.
- Colbach N., Clermont-Dauphin C., Meynard J.M. (2001). GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 83(3): 255-270.
- Colbach N., Darmency H., Tricault Y. (2010). Identifying key life-traits for the dynamics and gene flow in a weedy crop relative: sensitivity analysis of the GeneSys simulation model for weed beet (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*). *Ecological Modelling* 221(2): 225-237.
- Colbach N., Dürr C., Gruber S., Pekrun C. (2008). Modelling the seed bank evolution and emergence of oilseed rape volunteers for managing co-existence of GM and non-GM varieties. *European Journal of Agronomy* 28(1): 19-32.
- Colbach N., Fargue A., Sausse C., Angevin F. (2005). Evaluation and use of a spatio-temporal model of cropping system effects on gene escape from transgenic oilseed rape varieties: example of the GeneSys model applied to three co-existing herbicide tolerance transgenes. *European Journal of Agronomy* 22(4): 417-440.
- De Corby K.A., Van Acker R.C., Brule-Babel A.L., Friesen L.F. (2007). Emergence timing and recruitment of volunteer spring wheat. *Weed Science* 55(1): 60-69.
- De Wet J.M.J., Harlan J.R. (1975). Weeds and domesticates: Evolution in the man-made habitat. *Economic Botany* 29: 99-107.
- Deen W., Hamill A., Shropshire C., Soltani N., Sikkema P.H. (2006). Control of volunteer glyphosate-resistant corn (*Zea mays*) in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). *Weed Technology* 20(1): 261-266.
- Desplanque B., Boudry P., Broomberg K., Saumitou Laprade P., Cuguen J., Van Dijk H. (1999). Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L-(Chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 98(8): 1194-1201.
- Desprez M. (1980). Observations et remarques sur la montée à graine chez la betterave sucrière. *Académie d'agriculture de France. Extrait du procès verbal de la séance du 9 janvier*: 44-53.
- Devaux C., Lavigne C., Falentin-Guyomarc'h H., Vautrin S., Lecomte J., Klein E.K. (2005). High diversity of oilseed rape pollen clouds over an agro-ecosystem indicates long-distance dispersal. *Molecular Ecology* 14(8): 2269-2280.
- Ellstrand N.C., Prentice H.C., Hancock J.F. (1999). Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30: 539-563.
- Fargue A., Colbach N., Meynard J.M. (2005). Introduction of genotypic effects into GENESYS-RAPE: the example of height and male sterility. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 108: 318-328.
- Fargue A., Meynard J.M., Colbach N., Vallée P., Grandeau G., Renard M. (2004). Contamination of rapeseed harvest by volunteers of other varieties: a study of intergenotypic competition. *European Journal of Agronomy* 21: 193-207.
- Friesen L.F., Nelson A.G., Acker R.C.v. (2003). Evidence of contamination of pedigreed canola (*Brassica napus*) seedlots in western Canada with genetically engineered herbicide resistance traits. *Agronomy Journal* 95(5): 1342-1347.
- 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
- Garnier A., Lecomte J. (2006). Using a spatial and stage-structured invasion model to assess the spread of feral populations of transgenic oilseed rape. *Ecological Modelling* 194(1-3): 141-149.
- Garnier A., Pivard S., Lecomte J. (2008). Measuring and modelling anthropogenic secondary seed dispersal along roadverges for feral oilseed rape. *Basic and Applied Ecology* 9(5): 533-541.
- Gressel J. (2005). Introduction- The challenges of Fertility. In *Crop Fertility and Volunteerism.*, (Gressel J., ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida: 1-30.
- Gruber S., Claupein W. (2007). Fecundity of volunteer oilseed rape and estimation of potential gene dispersal by a practice-related model. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 119: 401-408.
- Gruber S., Claupein W. (2008). Emergence and establishment of volunteer oilseed rape in spring and winter crops. *Journal of Plant Diseases and Protection*: 193-198.

- Gruber S., Colbach N., Barbottin A., Pekrun C. (2008). Post-harvest gene escape and approaches for minimizing it. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 3(015): 17 pp.
- Gruber S., Lutman P., Squire G., Roller A., Albrecht H., Lecomte J. (2007). Using the SIGMEA data base to provide an overview of the persistence of seeds of oilseed rape in the context of the coexistence of GM and conventional crops, 3rd International Conference on Co-existence between GM and non-GM based agricultural supply chains, Seville, Spain, 20-22 November 2007, Stein A., Rodríguez-Cerezo E., eds.: 261-262.
- Gruber S., Pekrun C., Claupein W. (2004). Seed persistence of oilseed rape (*Brassica napus*): variation in transgenic and conventionally bred cultivars. *Journal of Agricultural Science* 142: 29-40.
- Gruber S., Pekrun C., Claupein W. (2005). Life cycle and potential gene flow of volunteer oilseed rape in different tillage systems. *Weed Research* 45: 83-93.
- Gulden R.H., Shirliffe S.J., Thomas A.G. (2003). Secondary seed dormancy prolongs persistence of volunteer canola in western Canada. *Weed Science* 51: 904-913.
- Gulden R.H., Thomas A.G., Shirliffe S.J. (2004). Relative contribution of genotype, seed size and environment to secondary seed dormancy potential in Canadian spring oilseed rape (*Brassica napus*). *Weed Research* 44: 97-106.
- Hails R. (2000). Genetically modified plants - the debate continues. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 14-18.
- Hails R.S. (2002). Assessing the risks associated with new agricultural practices. *Nature* 418: 685-688.
- Hancock J.F., Grumet R., Hokanson S.C. (1996). The opportunity for escape of engineered genes from transgenic crops. *HortScience* 31(7): 1080-1085.
- Harker K.N., Blackshaw R.E., Clayton G.W., O'Donovan J.T., Johnson E.N., Gan Y., al. e. (2004). Defining agronomic implications of RoundUp Ready spring wheat production systems. Final Report., Agriculture and Agri-Food Canada; Lacombe and Beaverlodge Research Centre. [http://sci.agr.ca/lacombe/pub/rr65execsum\\_e.htm](http://sci.agr.ca/lacombe/pub/rr65execsum_e.htm)
- Harker K.N., Clayton G.W., Blackshaw R.E., O'Donovan J.T., Johnson E.N., Gan Y., Holm F.A., Sapsford K.L., Irvine R.B., Acker R.C.v. (2005). Glyphosate-resistant wheat persistence in western Canadian cropping systems. *Weed Science* 53(6): 846-859.
- Harker K.N., Clayton G.W., Blackshaw R.E., O'Donovan J.T., Johnson E.N., Gan Y., Holm F.A., Sapsford K.L., Irvine R.B., Acker R.C.v. (2006). Persistence of glyphosate-resistant canola in Western Canadian cropping systems. *Agronomy Journal* 98(1): 107-119.
- Hobson R.N., Bruce D.M. (2002). Seed loss when cutting a standing crop of oilseed rape with two types of combine harvester header. *Biosystems Engineering* 81: 281-286.
- Hüsken A., Amman K., Messeguer J., Papa R., Robson P.I., Schiemann J., al. e. (2007). A major European synthesis of data on pollen and seed mediated gene flow in maize in the SIGMEA project, 3rd International Conference on Co-existence between GM and non-GM Based Agricultural Supply Chains, Sevilla, Spain, 20-22 November, (Stein A., Rodríguez-Cerezo E., eds.): 53-56.
- Knispel A.L., McLachlan S.M. (2010). Landscape-scale distribution and persistence of genetically modified oilseed rape (*Brassica napus*) in Manitoba, Canada. *Environmental Science and Pollution Research* 17(1): 13-25.
- Knispel A.L., McLachlan M., Van Acker R.C., Friesen L.F. (2008). Gene flow and multiple herbicide resistance in escaped canola populations. *Weed Science* 56: 72-80.
- Leeson J.Y., Thomas A.G., Hall L.M., Brenzil C.A., Andrews T., Brown K.R., Van Acker R.C. (2005). Prairie weed surveys of cereal, oilseed and pulse crops from the 1970s to the 2000s, *Weed Survey Series 2005, 05-1*, Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon Research Centre.
- Legere A., Simard M.J., Thomas A.G., Pageau D., Lajeunesse J., Warwick S.I., Derksen D.A., Bcpc B. (2001). Presence and persistence of volunteer canola in Canadian cropping systems, *Bcpc Conference - Weeds 2001, Vols 1 and 2*, British Crop Protection Council, Farnham, 143-148.
- Legere A., Simard M.J., Johnson E., Stevenson F.C., Beckie H., Blackshaw R.E. (2006). Control of volunteer canola with herbicides: effects of plant growth stage and cold acclimation. *Weed Technology* 20(2): 485-493.
- Liu F., Shi H., Xu X., Kang W., Li Z. (2011). Flow injection chemiluminescence determination of paraquat using luminol and Ag(III) complex. *Asian Journal of Chemistry* 23(2): 795-798.
- Longden P.C. (1993). Weed beet: a review. *Aspects of Applied Biology, Volunteer Crops as Weeds* 35: 185-194.
- Lunn G.D., Kettlewell P.S., Major B.J., Scott R.K. (2002). Variation in dormancy duration of the U.K. wheat cultivar Hornet due to environmental conditions during grain development. *Euphytica* 2002 126: 89-97.
- Lutman P.J.W., Freeman S.E., Pekrun C. (2003). The long-term persistence of seeds of oilseed rape (*Brassica napus*) in arable fields. *Journal of Agricultural Science* 141: 231-240.

- Marshall E.J.P. (2002). Introducing field margin ecology in Europe. *Agriculture Ecosystems and Environment* 89: 1-4.
- Marshall E.J.P., Moonen A.C. (2002). Field margins in northern Europe: their functions and interactions with agriculture. *Agriculture Ecosystems and Environment* 89: 5-21.
- Maurice D. (2004). Emerging weed issues – here to stay?, *FarmTech 2004*, Edmonton, AB, Canada, 28-30 January: 77–86.
- Melé E., Peñas G., Palauelmàs M., Serra J., Salvia J., Pla M., al. e. (2007). Effect of volunteers on maize gene flow, 3rd International Conference on Co-existence between GM and non-GM based agricultural supply chains, Sevilla, Spain, (Stein A., Rodríguez-Cerezo E., eds.): 249-250.
- Messéan A., Sausse C., Gasquez J., Darmency H. (2007). Occurrence of genetically modified oilseed rape seeds in the harvest of subsequent conventional oilseed rape over time. *European Journal of Agronomy* 27(1): 115-122.
- Momoh E.J.J., Zhou W.J., Kristiansson B. (2002). Variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape genotypes under conditions of stress. *Weed Research* 42: 446-455.
- Nishizawa T., Nakajima N., Aono M., Tamaoki M., Kubo A., Saji H. (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environmental Biosafety Research* 8(1): 33-44.
- Owen M.D.K. (2005). Maize and soybeans - Controllable volunteerism without fertility?, *Crop Fertility and Volunteerism*, (Gressel J., ed.), Crc Press-Taylor & Francis Group, Boca Raton, 149-165.
- Owen M.D.K., Zelaya I.A. (2005). Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science* 61(3): 301-311.
- Panetsos C.A., Baker H.G. (1967). The origin of variation in "wild" *Raphanus sativus* (Cruciferae) in California. *Genetica* 38: 243-274.
- Pekrun C., Claupein W. (2002). Zu den Ausfallverlusten von Raps sowie der Verteilung von Rapssamen und -stroh nach der Ernte, *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften*, 45. Jahrestagung, Berlin, Germany, 26–28 September 14, Maidl F.X., Diepenbrock W., eds.: 191–192.
- Pekrun C., Lane P.W., Lutman P.J.W. (2005). Modelling seedbank dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Agricultural Systems* 84: 1-20.
- Pekrun C., Lutman P.J.W. (1998). The influence of post-harvest cultivation on the persistence of volunteer oilseed rape. *Weed seed banks: determination, dynamics and manipulation. Aspects of Applied Biology* 51: 113-118.
- Pekrun C., Potter T.C., Lutman P.J.W. (1997). Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape, 1997 Brighton Crop Protection Conference – Weeds, Brighton, UK, 17-20 November 1997: 243-248.
- Pessel F.D., Lecomte J., Emeriau V., Krouti M., Messéan A., Gouyon P.H. (2001). Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 841–6.
- Pimentel D., Hunter M.S., LaGro J.A., Efroymson R.A., Landers J.C., Mervis F.T., McCarthy C.A., Boyd A.E. (1989). Benefits and risks of genetic engineering in agriculture. *BioScience* 39(9): 606-614.
- Pimentel D., Zuniga R., Morrison D. (2005). Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* 52: 273– 288.
- Chancellor R.J., Froud-Williams R.J. (1984). A second survey of cereal weeds in central southern England. *Weed Research* 24: 29-36.
- Pivard S., Adamczyk K., Lecomte J., Lavigne C., Bouvier A., Deville A., Gouyon P.H., Huet S. (2008a). Where do the feral oilseed rape populations come from? A large-scale study of their possible origin in a farmland area. *Journal of Applied Ecology* 45(2): 476-485.
- Pivard S., Demšar D., Lecomte J., Debeljak M., Džeroski S. (2008b). Characterizing the presence of oilseed rape feral populations on field margins using machine learning. *Ecological Modelling* 212(1-2): 147-154
- Price J.S., Hobson R.N., Neale M.A., Bruce D.M. (1996). Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. *J agric Engng Res* 65: 183-191.
- Rainbolt C.R., Thill D.C., Young F.L. (2004). Control of volunteer herbicide-resistant wheat and canola. *Weed Technology* 18(3): 711-718.
- Roller A., Beismann H., Albrecht H. (2002). Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape - first observations under practically relevant conditions in South Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*: 255-260.
- Rubin B., Moss S.R., Caseley J.C. (1997). Polymorphism in blackgrass (*Alopecurus myosuroides*) populations in response to herbicides. *Proceedings of the 10th EWRS (European Weed Research Society) Symposium*, Poznan, Poland, 22-26 June 1997: 16.



- Sattin M., Berto D., Tabacchi M., Zanin G. (1999). Resistance to ALS inhibitors in rice in north-western Italy. Proceedings of the 11th EWRS (European Weed Research Society) Symposium, Basel, Switzerland, 28 June - 1 July 1999: 157.
- Sausse C., Wagner D., Lucas J.L., Estragnat A., Mangenot O., Garric B., Reau R., Devaux C., Champolivier J., Messéan A. (2007). Estimation des pertes à la récolte du colza d'hiver (*Brassica napus*) dans des conditions variées. *OCL* 13: 431-438.
- Schafer M.G., Ross A.A., Londo J.P., Burdick C.A., Lee E.H., Travers S.E., Water P.K.v.d., Sagers C.L. (2011). The establishment of genetically engineered Canola populations in the U.S. *Plos One*(October): e25736
- Schlink S. (1998). 10 years survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XVI*: 169-172.
- Schooler S.S., Cook T., Prichard G., Yeates A.G. (2010). Disturbance-mediated competition: the interacting roles of inundation regime and mechanical and herbicidal control in determining native and invasive plant abundance. *Biological Invasions* 12(9): 3289-3298.
- Seefeldt S.S., Young F.L., Zemetra R.S., Jones S.S. (1999). The production of herbicide-resistant jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) \* wheat (*Triticum aestivum*) hybrids in the field by natural hybridization and management strategies to reduce their occurrence, Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops. Proceedings of a symposium held at Keele, UK on 12-14 April 1999., Lutman P.J.W., ed., British Crop Protection Council: 159-164.
- Senior I.J., Moyes C., Dale P.J. (2002). Herbicide sensitivity of transgenic multiple herbicide-tolerant oilseed rape. *Pest Management Science* 58(4): 405-412.
- Sester M., Delanoy M., Colbach N., Darmency H. (2004). Crop and density effects on weed beet growth and reproduction. *Weed Research (Oxford)* 44(1): 50-59.
- Sester M., Dürr C., Darmency H., Colbach N. (2006). Evolution of weed beet (*Beta vulgaris* L.) seed bank: Quantification of seed survival, dormancy, germination and pre-emergence growth. *European Journal of Agronomy* 24(1): 19-25.
- Simard M.J., Legere A., Pageau D., Lajeunesse J., Warwick S. (2002). The frequency and persistence of volunteer rape (*Brassica napus*) in Quebec cropping systems. *Weed Technology* 16(2): 433-439.
- Snow A.A., Uthus K.L., Culley T.M. (2001). Fitness of hybrids between weedy and cultivated radish : implications for weed evolution. *Ecological Applications* 11(3): 934 - 943.
- Soltani N., Shropshire C., Sikkema P.H. (2006). Control of volunteer glyphosate-tolerant maize (*Zea mays*) in glyphosate-tolerant soybean (*Glycine max*). *Crop Protection* 25(2): 178-181.
- Squire, G.R., Breckling, B., Dietz Pfeilstetter, A., Jorgensen, R.B., Lecomte, J. Pivard, S. Reuter, H. & Young, M. W. 2010. Status of feral oilseed rape in Europe : its minor role as a GM impurity and its potential as a reservoir of transgene persistence, *Environn. Sci. Pollut. R.* Volume 18, Number 1, 111-115
- Squire G.R., Burn D., Crawford J.W. (1997). A model for the impact of herbicide tolerance on the performance of oilseed rape as a volunteer weed. *Annals of Applied Biology* 131(2): 315-338.
- Stewart C., Halfhill M., Warwick S. (2003). Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics* 4: 806-817.
- Streit B., Rieger S.B., Stamp P., Richner W. (2003). Weed populations in winter wheat as affected by crop sequence, intensity of tillage and time of herbicide application in a cool and humid climate. *Weed Research* 43: 20-32.
- Sweet J.B., Simpson E.C., Law J.R., Horstman A., Lutman P.J.W., Berry K.J., Payne R.W., May M.J., Champion G.T., Walker K.C., Wightman P.S., Lainsbury M.A. (2005). Bright: botanical and rotational implications of genetically modified herbicide tolerance. *Aspects of Applied Biology*(74): 207-210.
- Tal A., Zarka S., Rubin B. (1997). Characterization of *Phalaris minor* resistance to fenoxaprop-P. Proceedings of the 10th EWRS (European Weed Research Society) Symposium, Poznan, Poland, 22-26 June 1997: 31.
- Tian Y.S., Xiong A.S., Xu J., Zhao W., Gao F., Fu X.Y., Xu H., Zheng J.L., Peng R.H., Yao Q.H. (2010). Isolation from *Ochrobactrum anthropi* of a Novel Class II 5-Enopyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase with High Tolerance to Glyphosate. *Applied and Environmental Microbiology* 76(17): 6001-6005.
- Tothova T., Sobekova A., Holovska K., Legath J., Pristas P., Javorsky P. (2010). Natural glufosinate resistance of soil microorganisms and GMO safety. *Central European Journal of Biology* 5(5): 656-663.
- Travlos I.S., Chachalis D. (2010). Glyphosate-Resistant Hairy Fleabane (*Conyza bonariensis*) Is Reported in Greece. *Weed Technology* 24(4): 569-573.
- Tricault Y., Darmency H., Colbach N. (2009). Identifying key components of weed beet management using sensitivity analyses of the GeneSys-Beet model in GM sugar beet. *Weed Research (Oxford)* 49(6): 581-591.
- Tricault Y., Fealy R., Colbach N., Mullins E. (2011). Towards an optimal management regime to facilitate the coexistence of GM herbicide tolerant and non-GM oilseed rape. *European Journal of Agronomy* 34(1): 26-34.

- van de Wiel C.C.M., Lotz L.A.P. (2006). Outcrossing and coexistence of genetically modified with (genetically) unmodified crops: a case study of the situation in the Netherlands. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences* 54(1): 17-35.
- Vancetovic J., Drinic S.M., Babic M., Ignjatovic-Micic D., Andelkovic V. (2010). MAIZE GENE BANK COLLECTIONS AS POTENTIALLY VALUABLE BREEDING MATERIAL. *Genetika-Belgrade* 42(1): 9-21.
- Wang C.L., Yang H.L. (2011). Conserved Residues in the Subunit Interface of tau Glutathione S-transferase Affect Catalytic and Structural Functions. *Journal of Integrative Plant Biology* 53(1): 35-43.
- Wang J., Gu C., Huang P., Zhu S., Wang C., Zhang D., Tu D., Lu Z. (2010a). Bentazon susceptible lethality and thermo-sensitive genic male sterility in heredity and breeding of rice. *Guizhou Agricultural Sciences*(10): 4-7.
- Wang T., Picard J.C., Tian X., Darmency H. (2010b). A herbicide-resistant ACCase 1781 *Setaria* mutant shows higher fitness than wild type. *Heredity* 105(4): 394-400.
- Whitaker J.R., York A.C., Joran D.L., Culpepper S. (2010). Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) Control in Soybean with Glyphosate and Conventional Herbicide Systems. *Weed Technology* 24(4): 403-410.
- White A.D., Lyon D.J., Mallory-Smith C., Medlin C.R., Yenish J.P. (2006). Feral rye (*Secale cereale*) in agricultural production systems. *Weed Technology* 20(3): 815-823.
- Wicks G.A., Felton W.L., Murison R.D., Martin R.J. (2000). Changes in fallow weed species in continuous wheat in northern New South Wales, 1981-90. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40(6): 831-842.
- York A.C., Stewart A.M., Vidrine P.R., Culpepper A.S. (2004). Control of volunteer glyphosate-resistant cotton in glyphosate-resistant soybean. *Weed Technology* 18(3): 532-539.
- Young B.G., Hart S.E. (1997). Control of volunteer sethoxydim-resistant corn (*Zea mays*) in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology* 11(4): 649-655.

### Section 3.2.2. Flux et transferts de gènes

- Abe J., Yoshikawa H., Tsuda C. (1986). Reproductive barriers in sugar beet and its wild relatives of the section *Vulgares*, the genus *Beta*. *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University* 63(1): 40-48.
- Al-Ahmad H., Gressel J. (2006). Mitigation using a tandem construct containing a selectively unfit gene precludes establishment of *Brassica napus* transgenes in hybrids and backcrosses with weedy *Brassica rapa*. *Plant Biotechnology Journal* 4(1): 23-33.
- Alibert B., Sellier H., Souvire A. (2005). A combined method to study gene flow from cultivated sugar beet to ruderal beets in the glasshouse and open field. *European Journal of Agronomy* 23(2): 195-208.
- Allainguillaume J., Alexander M., Bullock J.M., Saunders M., Allender C.J., King G., Ford C.S., Wilkinson M.J. (2006). Fitness of hybrids between rapeseed (*Brassica napus*) and wild *Brassica rapa* in natural habitats. *Molecular Ecology* 15(4): 1175-1184.
- Allainguillaume J., Harwood T., Ford C.S., Cuccato G., Norris C., Allender C.J., Welters R., King G.J., Wilkinson M.J. (2009). Rapeseed cytoplasm gives advantage in wild relatives and complicates genetically modified crop biocontainment. *New Phytologist* 183(4): 1201-1211.
- Al-Mouemar A., Darmency H. (2004). Lack of stable inheritance of introgressed transgene from oilseed rape in wild radish. *Environmental Biosafety Research* 3(4): 209-214.
- Ammitzboll H., Jorgensen R.B. (2006). Hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and different populations and species of *Raphanus*. *Environmental Biosafety Research* 5(1): 3-13.
- Andersson M.S., Vicente M.C.d. (2009). Gene flow between crops and their wild relatives, Gene flow between crops and their wild relatives, (Andersson M.S., Vicente M.C.d., eds.), Johns Hopkins University Press, Baltimore, vi + 564.
- APHIS (2007). Report of LibertyLink Rice Incidents, USDA: 8 p. <http://www.aphis.usda.gov/newsroom/content/2007/10/content/printable/RiceReport10-2007.pdf>
- Arias D.M., Rieseberg L.H. (1994). Gene flow between cultivated and wild sunflowers. *Theoretical and Applied Genetics* 89(6): 655-660.
- Baranger A., Chevre A.M., Eber F., Renard M. (1995). Effect of oilseed rape genotype on the spontaneous hybridization rate with a weedy species: an assessment of transgene dispersal. *Theoretical and Applied Genetics* 91(6/7): 956-963.
- Bartsch D., Ellstrand N.C. (1999). Genetic evidence for the origin of Californian wild beets (genus *Beta*). *Theoretical and Applied Genetics* 99(7/8): 1120-1130.
- Bateman A. J. (1947). Contamination in seed crops II: wind pollination. *Heredity*. I: 235-246.
- Beckie H.J., Hall L.M. (2008). Simple to complex: Modelling crop pollen-mediated gene flow. *Plant Science* 175: 615-628.

- Beckie H.J., Warwick S.I., Nair H., Seguin-Swartz G. (2003). Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). *Ecological Applications* 13(5): 1276-1294.
- Begg G.S., Cullen D.W., Iannetta P.P.M., Squire G.R. (2007). Sources of uncertainty in the quantification of genetically modified oilseed rape contamination in seed lots. *Transgenic Research* 16(1): 51-63.
- Begg G.S., Elliott M.J., Cullen D.W., Iannetta P.P.M., Squire G.R. (2008). Heterogeneity in the distribution of genetically modified and conventional oilseed rape within fields and seed lots. *Transgenic Research* 17(5): 805-816.
- Bervillé A., Muller M.H., Poinso B., Serieys H. (2005). Fertility - risks of gene flow between sunflower and other *Helianthus* species, *Crop Fertility and Volunteerism*, (Gressel J., ed.), CRC Press, Boca-Raton, 209-230.
- Bing D.J., Downey R.K., Rakow G.F.W. (1996). Hybridizations among *Brassica napus*, *B. rapa* and *B. juncea* and their two weedy relatives *B. nigra* and *Sinapis arvensis* under open pollination conditions in the field. *Plant Breeding* 115(6): 470-473.
- Boudry P., Morchen M., Saumitou-Laprade P., Vernet P., Dijk H.v. (1993). The origin and evolution of weed beets: consequences for the breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beets. *Theoretical and Applied Genetics* 87(4): 471-478.
- Brunet, Y., Dupont, S., De Luca, M., Pinty, J.-P., Escobar, J., Delage, S., Tulet, P., Lac, C., Foueillassar, X. (2009). Mesoscale dispersal of pollen and implications for gene flow. Fourth international conference on coexistence between genetically modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains, Melbourne (Aus), p.10.
- Burke J.M., Gardner K.A., Rieseberg L.H. (2002). The potential for gene flow between cultivated and wild sunflower (*Helianthus annuus*) in the United States. *American Journal of Botany* 89(9): 1550-1552.
- Chadoeuf R., Darmency H., Maillet J., Renard M. (1998). Survival of buried seeds of interspecific hybrids between oilseed rape, hoary mustard and wild radish. *Field Crops Research* 58(3): 197-204.
- Chevre A.M., Adamczyk K., Eber F., Huteau V., Coriton O., Letanneur J.C., Laredo C., Jenczewski E., Monod H. (2007). Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. I. Evolution of chromosome structure. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 114(2): 209-221.
- Chevre A.M., Eber F., Baranger A., Hureau G., Barret P., Picault H., Renard M. (1998). Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oilseed rape-wild radish F 1 interspecific hybrids: an assessment of transgene dispersal. *Theoretical and Applied Genetics* 97(1/2): 90-98.
- Chevre A.M., Eber F., Darmency H., Fleury A., Picault H., Letanneur J.C., Renard M. (2000). Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theoretical and Applied Genetics* 100(8): 1233-1239.
- Chevre A.M., Eber F., Jenczewski E., Darmency H., Renard M. (2003). Gene flow from oilseed rape to weedy species. *Acta Agricultura Scandinavica. Section B, Soil and Plant Science(Supplementum 1)*: 22-25.
- Chifflet R., Klein E.K., Lavigne C., Le Féon V., Ricroch A.E., Lecomte J., Vaissière B.E. (2011). Spatial scale of insect-mediated pollen dispersal in oilseed rape in an open agricultural landscape. *Journal of Applied Ecology* 48(3): 689-696.
- Colbach N. (2009). How to model and simulate the effects of cropping systems on population dynamics and gene flow at the landscape level. Example of oilseed rape volunteers and their role for co-existence of GM and non-GM crops. *Environmental Sciences & Pollution Research* 16: 348-360.
- Colbach N., Angevin F. & Messéan A. (2006) Effect of the quality of sown rape seed lots and of the genotype of GM varieties on harvest adventitious presence in the case of co-existing GM, non-GM and organic crops. In: *New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture* (A. Messéan, F. Angevin, M. Gómez-Barbero, K. Menrad & E. Rodríguez-Cerezo, eds.) Joint Research Center of the European Commission, Sevilla, Spain
- Colbach N., Clermont-Dauphin C., Meynard J.M. (2001). GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 83(3): 255-270.
- Colbach N., Devaux C. & Angevin F. (2009a) Comparative study of the efficiency of buffer zones and harvest discarding on gene flow containment in oilseed rape. A modelling approach. *European Journal of Agronomy* 30:187-198.
- Colbach N., Fargue A., Sausse C., Angevin F. (2005). Evaluation and use of a spatio-temporal model of cropping system effects on gene escape from transgenic oilseed rape varieties: example of the GeneSys model applied to three co-existing herbicide tolerance transgenes. *European Journal of Agronomy* 22(4): 417-440.
- Colbach N., Monod H. & Lavigne C. (2009b) A simulation study of the medium-term effects of field patterns on cross-pollination rates in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Ecological Modelling* 221(1):662-672.
- Czarnak-Klos M., Rodriguez-Cerezo E. (2010). Best practice document for of genetically modified crop with conventional and organic farming: 1. Maize crop production. JCR Technical Report Series, EUR 24509 En, 70 p. <http://www.jrc.ec.europa.eu>.

- D'Andrea L., Felber F., Guadagnuolo R. (2008). Hybridization rates between lettuce (*Lactuca sativa*) and its wild relative (*L. serriola*) under field conditions. *Environmental Biosafety Research* 7(2): 61-71.
- Daniell H. (2002). Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nature Biotechnology* 20(6): 581-586.
- Daniels R., Boffey C., Mogg R., Bond J., Clarke R. (2005). The potential for dispersal of herbicide tolerance genes from genetically-modified, herbicide-tolerant oilseed rape crops to wild relatives., Report to the Department for the Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA) No. EPG 1/5/151.
- Darmency H. (2011). Coexistence issues of GM sugar beet. In *GM and non-GM food supply chains: co-existence and traceability*, (Bertheau Y., ed.), Wiley Blackwell
- Darmency H., Fleury A. (2000). Mating system in *Hirschfeldia incana* and hybridization to oilseed rape. *Weed Research (Oxford)* 40(2): 231-238.
- Darmency H., Klein E.K., De Garanbe T.G., Gouyon P.H., Richard-Molard M., Muchembled C. (2009). Pollen dispersal in sugar beet production fields. *Theoretical and Applied Genetics* 118(6): 1083-1092.
- Darmency H., Lefol E., Fleury A. (1998). Spontaneous hybridizations between oilseed rape and wild radish. *Molecular Ecology* 7(11): 1467-1473.
- Darmency H., Sausse C., Cordeau S., Gasquez J., Messean A. Seeds of volunteers in the harvest: the case of genetically modified oilseed rape, (2007) 20eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 11-12 decembre, 2007., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): 205-212.
- Darmency H., Vigouroux Y., Garambe T.G.d., Richard-Molard M., Muchembled C. (2007). Transgene escape in sugar beet production fields: data from six years farm scale monitoring. *Environmental Biosafety Research* 6(3): 197-206.
- David J.L., Benavente E., Bres-Patry C., Dusautoir J.C., Echaide M. (2004). Are neopolyploids a likely route for a transgene walk to the wild? The *Aegilops ovata* \* *Triticum turgidum durum* case. *Biological Journal of the Linnean Society* 82(4): 503-510.
- Desplanque B., Boudry P., Broomberg K., Saumitou-Laprade P., Cuguen J., Van Dijk H. (1999). Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L-(Chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 98(8): 1194-1201.
- Devaux C., Klein E.K., Lavigne C., Sausse C., Messéan A. (2008). Environmental and landscape effects on cross-pollination rates observed at long-distance among French oilseed rape (*Brassica napus*) commercial fields. *Journal of Applied Ecology* 45(3): 803-812.
- Devaux C., Lavigne C., Austerlitz F., Klein E.K. (2007). Modelling and estimating pollen movement in oilseed rape (*Brassica napus*) at the landscape scale using genetic markers. *Molecular Ecology* 16(3): 487-499.
- Devaux C., Lavigne C., Falentin-Guyomarc'h H., Vautrin S., Lecomte J., Klein E.K. (2005). High diversity of oilseed rape pollen clouds over an agro-ecosystem indicates long-distance dispersal. *Molecular Ecology* 14(8): 2269-2280.
- Devos Y., Demont M., Dillen K., Reheul D., Kaiser M., Sanvido O. (2009). Coexistence of genetically modified (GM) and non-GM crops in the European Union. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29(1): 11-30.
- Eber F., Chevre A.M., Baranger A., Vallee P., Tanguy X., Renard M. (1994). Spontaneous hybridization between a male-sterile oilseed rape and two weeds. *Theoretical and Applied Genetics* 88(3-4): 362-368.
- Eijlander R., Stiekema W.J. (1994). Biological containment of potato (*Solanum tuberosum*): outcrossing to the related wild species black nightshade (*Solanum nigrum*) and bittersweet (*Solanum dulcamara*). *Sexual Plant Reproduction* 7(1): 29-40.
- Ellstrand N.C., Devlin B., Marshall D.L. (1989). Gene flow by pollen into small populations: data from experimental and natural stands of wild radish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86(22): 9044-9047.
- Ellstrand N.C., Hoffman C.A. (1990). Hybridization as an avenue of escape for engineered genes. *BioScience* 40(6): 438-442.
- Fargue A., Colbach N., Meynard J.M. (2005). Introduction of genotypic effects into GENESYS-RAPE: the example of height and male sterility. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 108: 318-328.
- Fargue A., Colbach N., Pierre J., Picault H., Renard M. & Meynard J. M. (2006) Predictive study of the advantages of cleistogamy in rapeseed. *Euphytica* 151:1-13
- FitzJohn R.G., Armstrong T.T., Newstrom-Lloyd L.E., Wilton A.D., Cochrane M. (2007). Hybridisation within Brassica and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. *Euphytica* 158(1-2): 209-230.
- Ford C.S., Allainguillaume J., Grilli-Chantler P., Cuccato G., Allender C.J., Wilkinson M.J. (2006). Spontaneous gene flow from rapeseed (*Brassica napus*) to wild Brassica oleracea. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 273(1605): 3111-3115.

- Frello S., Hansen K.R., Jensen J., Jrgensen R.B. (1995). Inheritance of rapeseed (*Brassica napus*)-specific RAPD markers and a transgene in the cross *B. juncea* \* (*B. juncea* \* *B. napus*). *Theoretical and Applied Genetics* 91(2): 236-241.
- Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. (1996). Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica* 91(1): 59-87.
- Friesen L.F., Nelson A.G., Acker R.C.v. (2003). Evidence of contamination of pedigreed canola (*Brassica napus*) seedlots in western Canada with genetically engineered herbicide resistance traits. *Agronomy Journal* 95(5): 1342-1347.
- Gaines T., Preston C., Byrne P., Henry W.B., Westra P. (2007a). Adventitious presence of herbicide resistant wheat in certified and farm-saved seed lots. *Crop Science* 47(2): 751-756.
- Gaines T.A., Byrne P.F., Westra P., Nissen S.J., Henry W.B., Shaner D.L., Chapman P.L. (2007b). An empirically derived model of field-scale gene flow in winter wheat. *Crop Science* 47(6): 2308-2316.
- Gandhi H.T., Mallory-Smith C.A., Watson C.J.W., Vales M.I., Zemetra R.S., Riera-Lizarazu O. (2006). Hybridization between wheat and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) under field conditions. *Weed Science* 54(6): 1073-1079.
- GNIS (2011). <http://www.gnis.fr/index/action/page/id/24/title/L-environnement-reglementaire-des-semences>
- Gruber S., Claupein W. (2008). Emergence and establishment of volunteer oilseed rape in spring and winter crops. *Journal of Plant Diseases and Protection*: 193-198.
- Gruber S., Colbach N., Barbottin A., Pekrun C. (2008). Post-harvest gene escape and approaches for minimizing it. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 3(015): 17 pp.
- Gruber S., Pekrun C., Claupein W. (2004). Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage. *European Journal of Agronomy* 20(4): 351-361.
- Guadagnuolo R., Savova-Bianchi D., Felber F. (2001a). Gene flow from wheat (*Triticum aestivum* L.) to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host.), as revealed by RAPD and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 103(1): 1-8.
- Guadagnuolo R., Savova-Bianchi D., Keller-Senften J., Felber F. (2001b). Search for evidence of introgression of wheat (*Triticum aestivum* L.) traits into sea barley (*Hordeum marinum* s.str. Huds.) and bearded wheatgrass (*Elymus caninus* L.) in central and northern Europe, using isozymes, RAPD and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 103(2/3): 191-196.
- Gueritain G., Bazot S., Darmency H. (2003a). Emergence and growth of hybrids between *Brassica napus* and *Raphanus raphanistrum*. *New Phytologist* 158(3): 561-567.
- Gueritain G., Bonavent J.F., Darmency H. (2003b). Variation of prezygotic barriers in the interspecific hybridization between oilseed rape and wild radish. *Euphytica* 130(3): 349-353.
- Gueritain G., Darmency H. (2001). Polymorphism for interspecific hybridisation within a population of wild radish (*Raphanus raphanistrum*) pollinated by oilseed rape (*Brassica napus*). *Sexual Plant Reproduction* 14(3): 169-172.
- Gueritain G., Sester M., Eber F., Chevre A.M., Darmency H. (2002). Fitness of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus* var. *oleifera*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Molecular Ecology* 11(8): 1419-1426.
- Gustafson D.I., Brants I.O., Horak M.J., Remund K.M., Rosenbaum E.W., Soteres J.K. (2006). Empirical modeling of genetically modified maize grain production practices to achieve European Union labeling thresholds. *Crop Science* 46: 2133-2140.
- Gutierrez A., Carrera A., Basualdo J., Rodriguez R., Cantamutto M., Poverene M. (2010). Gene flow between cultivated sunflower and *Helianthus petiolaris* (Asteraceae). *Euphytica* 172(1): 67-76.
- Haider N., Allainguillaume J., Wilkinson M.J. (2009). Spontaneous capture of oilseed rape (*Brassica napus*) chloroplasts by wild *B. rapa*: implications for the use of chloroplast transformation for biocontainment. *Current Genetics* 55(2): 139-150.
- Halfhill M.D., Zhu B., Warwick S.I., Raymer P.L., Millwood R.J., Weissinger A.K., Stewart C.N., Jr. (2004). Hybridization and backcrossing between transgenic oilseed rape and two related weed species under field conditions. *Environmental Biosafety Research* 3(2): 73-81.
- Hall L., Topinka K., Huffman J., Davis L., Good A. (2000). Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science* 48: 688-694
- Hansen L.B., Siegmund H.R., Jrgensen R.B. (2001). Introgression between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and its weedy relative *B. rapa* L. in a natural population. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48(6): 621-627.
- Hauser T.P., Damgaard C., Jrgensen R.B. (2003). Frequency-dependent fitness of hybrids between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. rapa* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 90(4): 571-578.
- Heyn F.W. (1977). Analysis of unreduced gametes in the Brassicaceae by crosses between species and ploidy levels. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung* 78: 13-30.

- Hüsken A., Amman K., Messeguer J., Papa R., Robson P.I., Schiemann J., al. e. (2007). A major European synthesis of data on pollen and seed mediated gene flow in maize in the SIGMEA project, 3rd International Conference on Co-existence between GM and non-GM Based Agricultural Supply Chains, Sevilla, Spain, 20-22 November, (Stein A., Rodríguez-Cerezo E., eds.): 53-56.
- ITB (2009). Culture de la betterave sucrière : choix des variétés. [www.itbfr.org](http://www.itbfr.org).
- Jemison J.M., Vayda M.E. (2001). Cross pollination from genetically engineered corn: wind transport and seed source. *AgBioForum* 4: 87-92.
- Jenczewski E., Prosperi J.M., Ronfort J. (1999). Evidence for gene flow between wild and cultivated *Medicago sativa* (Leguminosae) based on allozyme markers and quantitative traits. *American Journal of Botany* 86(5): 677-687.
- Johannessen M.M., Damgaard C., Andersen B.A., Jorgensen R.B. (2006). Competition affects the production of first backcross offspring on F-1-hybrids, *Brassica napus* x B-Rapa. *Euphytica* 150(1-2): 17-25.
- Kane N.C., King M.G., Barker M.S., Raduski A., Karenberg S., Yatabe Y., Knapp S.J., Rieseberg L.H. (2009). Comparative genomic and population genetic analysis indicate highly porous genomes and high levels of gene flow between divergent *Helianthus* species. *Evolution* 63 (8):2061-2075.
- Kiaer L.P., Felber F., Flavell A., Guadagnuolo R., Guiatti D., Hauser T.P., Olivieri A.M., Scotti I., Syed N., Vischi M., Wiel C.v.d., Jorgensen R.B. (2009). Spontaneous gene flow and population structure in wild and cultivated chicory, *Cichorium intybus* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56(3): 405-419.
- Kim C.G., Yi H., Park S., Yeon J.E., Kim D.Y., Kim D.I., al. e. (2006). Monitoring the occurrence of genetically modified soybean and maize around cultivated fields and at a grain receiving port in Korea. *Journal of Plant Biology* 49: 218-23.
- Klein E.K., Lavigne C., Foueillassar X., Gouyon P.H., Laredo C. (2003). Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecological monographs* 73: 131-150.
- Klein E.K., Lavigne C., Picault H., Renard M., Gouyon P.H. (2006). Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology* 43(1): 141-151.
- Knispel A.L., McLachlan M., Van Acker R.C., Friesen L.F. (2008). Gene flow and multiple herbicide resistance in escaped canola populations. *Weed Science* 56: 72-80
- Landbo L., Andersen B., Jorgensen R.B. (1996). Natural hybridisation between oilseed rape and a wild relative: hybrids among seeds from weedy *B. campestris*. *Hereditas* 125: 89-91.
- Langhof M., Hommel B., Husken A., Njontie C., Schiemann J., Wehling P., Wilhelm R., Ruhl G. (2010). Coexistence in Maize: Isolation Distance in Dependence on Conventional Maize Field Depth and Separate Edge Harvest. *Crop Science* 50(4): 1496-1508.
- Lavigne C., Klein E.K., Couvet D. (2002). Using seed purity data to estimate an average pollen mediated gene flow from crops to wild relatives. *Theoretical and Applied Genetics* 104(1): 139-145.
- Le Bail M., Lecroart B., Gauffreteau A., Angevin F., Messean A. (2010). Effect of the structural variables of landscapes on the risks of spatial dissemination between GM and non-GM maize. *European Journal of Agronomy* 33(1): 12-23.
- Leflon M., Eber F., Letanneur J.C., Chelysheva L., Coriton O., Huteau V., Ryder C.D., Barker G., Jenczewski E., Chevre A.M. (2006). Pairing and recombination at meiosis of *Brassica rapa* (AA) \* *Brassica napus* (AACC) hybrids. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 113(8): 1467-1480.
- Leflon M., Husken A., Njontie C., Kightley S., Pendergrast D., Pierre J., Renard M., Pinochet X. (2010). Stability of the cleistogamous trait during the flowering period of oilseed rape. *Plant Breeding* 129(1): 13-18.
- Lefol E., Danielou V., Darmency H. (1996a). Predicting hybridization between transgenic oilseed rape and wild mustard. *Field Crops Research* 45(1-3): 153-161.
- Lefol E., Danielou V., Darmency H., Boucher F., Maillet J., Renard M. (1995). Gene dispersal from transgenic crops. I. Growth of interspecific hybrids between oilseed rape and the wild hoary mustard. *Journal of Applied Ecology* 32(4): 803-808.
- Lefol E., Fleury A., Darmency H. (1996b). Gene dispersal from transgenic crops. II. Hybridization between oilseed rape and the wild hoary mustard. *Sexual Plant Reproduction* 9(4): 189-196.
- Lefol E., Seguin-Swartz G., Downey R.K. (1997). Sexual hybridisation in crosses of cultivated *Brassica* species with the crucifers *Erucastrum gallicum* and *Raphanus raphanistrum*: potential for gene introgression. *Euphytica* 95(2): 127-139.
- Letschert J.P.W., Frese L. (1993). Analysis of morphological variation in wild beet (*Beta vulgaris* L.) from Sicily. *Genetic Resources and Crop Evolution* 40(1): 15-24.
- Lin C.Y., Fang J., Xu X.L., Zhao T., Cheng J.A., Tu J.M., Ye G.Y., Shen Z.C. (2008). A Built-In Strategy for Containment of Transgenic Plants: Creation of Selectively Terminable Transgenic Rice. *PLoS ONE* 3(3).

- Liu Y.B., Wei W., Ma K.P., Darmency H. (2010). Backcrosses to *Brassica napus* of hybrids between *B. juncea* and *B. napus* as a source of herbicide-resistant volunteer-like feral populations. *Plant Science* 179(5): 459-465.
- Londo J.P., Bautista N.S., Sagers C.L., Lee E.H., Watrud L.S. (2010). Glyphosate drift promotes changes in fitness and transgene gene flow in canola (*Brassica napus*) and hybrids. *Annals of Botany* 106(6): 957-965.
- Loureiro I., Concepcion Escorial M., Garcia-Baudin J.M., Chueca M.C. (2007a). Hybridization between wheat (*Triticum aestivum*) and the wild species *Aegilops geniculata* and *A. biuncialis* under experimental field conditions. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 120(2/4): 384-390.
- Loureiro I., Escorial M.C., Garcia-Baudin J.M., Chueca M.C. (2006). Evidence of natural hybridization between *Aegilops geniculata* and wheat under field conditions in Central Spain. *Environmental Biosafety Research* 5(2): 105-109.
- Loureiro I., Escorial M.C., Gonzalez-Andujar J.L., Garcia-Baudin J.M., Chueca M.C. (2007b). Wheat pollen dispersal under semiarid field conditions: potential outcrossing with *Triticum aestivum* and *Triticum turgidum*. *Euphytica* 156(1/2): 25-37.
- Lu C.M., Kato M., Kakhara F. (2002). Destiny of a transgene escape from *Brassica napus* into *Brassica rapa*. *Theoretical and Applied Genetics* 105(1): 78-84.
- Madsen K.H. (1994). Weed management and impact on ecology of growing glyphosate tolerant sugarbeets (*Beta vulgaris* L.). PhD thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark.
- Magnussen L.S., Hauser T.P. (2007). Hybrids between cultivated and wild carrots in natural populations in Denmark. *Heredity* 99(2): 185-192.
- Marshall M.W., Al-Khatib K., Loughin T. (2001). Gene flow, growth, and competitiveness of imazethapyr-resistant common sunflower. *Weed Science* 49(1): 14-21.
- Matus-Cadiz M.A., Hucl P., Dupuis B. (2007). Pollen-mediated gene flow in wheat at the commercial scale. *Crop Science* 47(2): 573-581.
- McPartlan H.C., Dale P.J. (1994). An assessment of gene transfer by pollen from field-grown transgenic potatoes to non-transgenic potatoes and related species. *Transgenic Research* 3(4): 216-225.
- Mercer K.L., Wyse D.L., Shaw R.G. (2006). Effects of competition on the fitness of wild and crop-wild hybrids sunflower from a diversity of wild populations and crop lines. *Evolution* 60 (10):2044-2055.
- Messéan A., Angevin F., Gómez-Barbero M., Menrad K., Rodríguez-Cerezo E. (2006). New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture, JCR Technical Report Series, EUR 22102 En, 112 p. <http://ftp.jrc.es/eur22102en.pdf>.
- Messéan A., Sausse C., Gasquez J., Darmency H. (2007). Occurrence of genetically modified oilseed rape seeds in the harvest of subsequent conventional oilseed rape over time. *European Journal of Agronomy* 27(1): 115-122.
- Messeguer J., Marfa V., Catala M.M., Guiderdoni E., Mele E. (2004). A field study of pollen-mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. *Molecular Breeding* 13(1): 103-112.
- Messeguer J., Peñas G., Ballester J., Bas M., Serra J., Salvia J., Palauelmàs M., Melé E. (2006). Pollen-mediated gene flow in maize in real situations of coexistence. *Plant Biotechnology Journal* 4: 633-645.
- Metz P.L.J., Jacobsen E., Nap J.P., Pereira A., Stiekema W.J. (1997). The impact on biosafety of the phosphinothricin-tolerance transgene in inter-specific B-rapa x B-napus hybrids and their successive backcrosses. *Theoretical and Applied Genetics* 95(3): 442-450.
- Morrison L.A., Cremieux L.C., Mallory-Smith C.A. (2002). Infestations of jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) and its hybrids with wheat in Oregon wheat fields. *Weed Science* 50(6): 737-747.
- Moyes C.L., Lilley J.M., Casais C.A., Cole S.G., Haeger P.D., Dale P.J. (2002). Barriers to gene flow from oilseed rape (*Brassica napus*) into populations of *Sinapis arvensis*. *Molecular Ecology* 11(1): 103-112.
- Muller M.H., Delieux F., Fernandez-Martinez J.M., Garric B., Lecomte V., Anglade G., Leflon M., Motard C., Segura R. (2009). Occurrence, distribution and distinctive morphological traits of weedy *Helianthus annuus* L. populations in Spain and France. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56(6): 869-877.
- Muller M.H., Latreille M., Tollon C. (2011). The origin and evolution of a recent agricultural weed: population genetic diversity of weedy populations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in Spain and France. *Evolutionary Applications* 4(3): 499-514
- Nicolas S.D., Leflon M., Monod H., Eber F., Coriton O., Huteau V., Chevre A.M., Jenczewski E. (2009). Genetic regulation of meiotic cross-overs between related genomes in *Brassica napus* haploids and hybrids. *Plant Cell* 21(2): 373-385.
- Palauelmàs M., Penas G., Mele E., Serra J., Salvia J., Pla M., Nadal A., Messeguer J. (2009) Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Research* 18 (4): 583-594.

- Perez-Jones A., Martins B.A.B., Mallory-Smith C.A. (2010). Hybridization in a commercial production field between imidazolinone-resistant winter wheat and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) results in pollen-mediated gene flow of *Imi1*. *Weed Science* 58(4): 395-401.
- Pertl M., Hauser T.P., Damgaard C., Jrgensen R.B. (2002). Male fitness of oilseed rape (*Brassica napus*), weedy *B. rapa* and their F1 hybrids when pollinating *B. rapa* seeds. *Heredity* 89(3): 212-218.
- Pessel F.D., Lecomte J., Emeriau V., Krouti M., Messéan A., Gouyon P.H. (2001). Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 841-6.
- Pierre J. (2001). The role of honeybees (*Apis mellifera*) and other insect pollinators in gene flow between oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). In *Proceedings of the Eight International Pollination Symposium: Integrator of Crops and Native Plant Systems*, (Benedek P., Richards K.W., eds.), *Acta Horticulturae*, International Society Horticultural Science, Leuven 1: 47-51.
- Pierre J., Renard M. (2010). Review of 30 years of research conducted in France on pollination of oilseed rape. *OCL - Oleagineux, Corps Gras, Lipides* 17(3): 121-126.
- Reuter H., Menzel G., Pehlke H., Breckling B. (2008). Hazard mitigation or mitigation hazard? Would genetically modified dwarfed oilseed rape (*Brassica napus*) increase feral survival? *Environmental Science and Pollution Research* 15(7): 529-535.
- Rieger M.A., Lamond M., Preston C., Powles S.B., Roush R.T. (2002). Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science (Washington)* 296(5577): 2386-2388.
- Rieger M.A., Potter T.D., Preston C., Powles S.B. (2001). Hybridisation between *Brassica napus* L. and *Raphanus raphanistrum* L. under agronomic field conditions. *Theoretical and Applied Genetics* 103(4): 555-560.
- Ringdahl E.A., McVetty P.B.E., Sernyk J.L. (1987). Intergeneric hybridization of *Diploaxis* spp. with *Brassica napus*: a source of new CMS systems? *Canadian Journal of Plant Science* 67(1): 239-243.
- Rong J., Song Z.P., de Jong T.J., Zhang X.S., Sun S.G., Xu X., Xia H., Liu B., Lu B.R. (2010). Modelling pollen-mediated gene flow in rice: risk assessment and management of transgene escape. *Plant Biotechnology Journal* 8(4): 452-464.
- Rose C.W., Millwood R.J., Moon H.S., Rao M.R., Halfhill M.D., Raymer P.L., Warwick S.I., Al-Ahmad H., Gressel J., Stewart C.N., Jr. (2009). Genetic load and transgenic mitigating genes in transgenic *Brassica rapa* (field mustard) \* *Brassica napus* (oilseed rape) hybrid populations. *BMC Biotechnology* 9(93): (31 October 2009).
- Sandhu S., Blount A.R., Quesenberry K.H., Altpeter F. (2010). Apomixis and ploidy barrier suppress pollen-mediated gene flow in field grown transgenic turf and forage grass (*Paspalum notatum* Flugg.). *Theoretical and Applied Genetics* 121(5): 919-929.
- Sanvido O., Widmer F., Winzeler M., Streit B., Szerencsits E., Bigler F. (2008). Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize. *Transgenic Research* 17: 317-355.
- Scascitelli M., Whitney K.D., Randel R.A., King M., Buerkle C.A., Rieseberg L.H. (2010). Genome scan hybridizing sunflowers from Texas (*Helianthus annuus* and *H. debilis*) reveals asymmetric patterns of introgression and small islands of genomic differentiation. *Molecular Ecology* 19:521-541.
- Scheffler J.A., Dale P.J. (1994). Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. *Transgenic Research* 3(5): 263-278.
- Sester M., Tricault Y., Darmency H., Colbach N. (2008). GeneSys-Beet: a model of the effects of cropping systems on gene flow between sugar beet and weed beet. *Field Crops Research* 107(3): 245-256.
- Shi Y., Wang T., Li Y., Darmency H. (2008). Impact of transgene inheritance on the mitigation of gene flow between crops and their wild relatives: the example of foxtail millet. *Genetics* 180(2): 969-975.
- Shivrain V.K., Burgos N.R., Gealy D.R., Sales M.A., Smith K.L. (2009). Gene flow from weedy red rice (*Oryza sativa* L.) to cultivated rice and fitness of hybrids. *Pest Management Science* 65(10): 1124-1129.
- Simard M.J., Legere A., Warwick S.I. (2006). Transgenic *Brassica napus* fields and *Brassica rapa* weeds in Quebec: sympatry and weed-crop in situ hybridization. *Canadian Journal of Botany* 84(12): 1842-1851.
- Singh D.P., Jermakow A.M., Swain S.M. (2007). Preliminary development of a genetic strategy to prevent transgene escape by blocking effective pollen flow from transgenic plants. *Functional Plant Biology* 34(12): 1055-1060.
- Snow A.A., Andersen B., Jrgensen R.B. (1999). Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Molecular Ecology* 8(4): 605-615.
- Snow A.S., Palma P.M., Riesenber L.H., Wszelaki A., Seiler G.S. (1998). Fecundity, Phenology, and seed dormancy of F1 wild-crop hybrids in sunflower (*Helianthus annuus* Asteraceae). *American Journal of botany* 85 (6):794-801.
- Song X., Wang Z., Zuo J., Huangfu C., Qiang S. (2010). Potential gene flow of two herbicide-tolerant transgenes from oilseed rape to wild *B. juncea* var. *gracilis*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 120(8): 1501-1510.



- Sorensen B.S., Kiaer L.P., Jorgensen R.B., Hauser T.P. (2007). The temporal development in a hybridizing population of wild and cultivated chicory (*Cichorium intybus* L.). *Molecular Ecology* 16(16): 3292-3298.
- Takayama S., Isogai A. (2003). Molecular mechanism of self-recognition in Brassica self-incompatibility. *Journal of Experimental Botany* 54: 149-156.
- Till-Bottraud I., Reboud X., Brabant P., Lefranc M., Rherissi B., Vedel F., Darmency H. (1992). Outcrossing and hybridization in wild and cultivated foxtail millets: consequences for the release of transgenic crops. *Theoretical and Applied Genetics* 83(8): 940-946.
- Tomiuk J., Hauser T.P., Bagger-Jorgensen R. (2000). A- or C-chromosomes, does it matter for the transfer of transgenes from Brassica napus. *Theoretical and Applied Genetics* 100(5): 750-754.
- Treu, R., Emberlin, J., (2000). Pollen dispersal in the crops Maize (*Zea mays*), Oilseed rape (*Brassica napus* ssp *oleifera*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugar beet (*Beta vulgaris* ssp *vulgaris*) and wheat (*Triticum aestivum*), Evidence from publications. A report for the Soil Association from the National Pollen research unit, 54 p
- Tricault Y., Darmency H., Colbach N. (2009). Identifying key components of weed beet management using sensitivity analyses of the GeneSys-Beet model in GM sugar beet. *Weed Research (Oxford)* 49(6): 581-591.
- U N. (1935). Genome-analysis in Brassica with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Japanese Journal of Botany*. 7: 389-452.
- Ureta M.S., Carrera A.D., Cantamutto M.A., Proverene M. (2008). Gene flow among wild and cultivated sunflower, *Helianthus annuus* in Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 123:343-349.
- Van Acker R.C., Szumgalski A.R., Friesen L.F. (2007). The potential benefits, risks and costs of genetic use restriction technologies. *Canadian Journal of Plant Science* 87(4): 753-762.
- Vaughan D.A., Sanchez P.L., Ushiki J., Kaga A., Tomooka N. (2005). Asian rice and weedy rice: evolutionary perspectives, Crop Fertility and Volunteerism, (Gressel J., ed.), CRC Press, Boca-Raton, 257-277.
- Viard F., Arnaud J.F., Delescluse M., Cuguen J. (2004). Tracing back seed and pollen flow within the crop-wild *Beta vulgaris* complex: genetic distinctiveness vs. hot spots of hybridization over a regional scale. *Molecular Ecology* 13(6): 1357-1364.
- Viaud V., Monod H., Lavigne C., Angevin F., Adamczyk K. (2008). Spatial sensitivity of maize gene-flow to landscape pattern: a simulation approach. *Landscape Ecology* 23: 1067-1079.
- Vidotto F., Ferrero A. (2005). Modeling population dynamics to overcome feral rice in rice, Crop Fertility and Volunteerism, (Gressel J., ed.), CRC Press, Boca-Raton, 355-370.
- von der Lippe M., Kowarik I. (2007). Crop seed spillage along roads: a factor of uncertainty in the containment of GMO. *Ecography* 30(4): 483-490.
- Waines J.G., Hegde S.G. (2003). Intraspecific gene flow in bread wheat as affected by reproductive biology and pollination ecology of wheat flowers. *Crop Science* 43(2): 451-463.
- Wang T., Li Y., Shi Y., Reboud X., Darmency H., Gressel J. (2004). Low frequency transmission of a plastid-encoded trait in *Setaria italica*. *Theoretical and Applied Genetics* 108(2): 315-320.
- Warwick S.I., Legere A., Simard M.J., James T. (2008). Do escaped transgenes persist in nature? The case of an herbicide resistance transgene in a weedy Brassica rapa population. *Molecular Ecology* 17(5): 1387-1395.
- Warwick S.I., Sauder C.A. (2005). Phylogeny of tribe Brassiceae (Brassicaceae) based on chloroplast restriction site polymorphisms and nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trnL intron sequences. *Canadian Journal of Botany* 83(5): 467-483.
- Warwick S.I., Simard M.J., Legere A., Beckie H.J., Braun L., Zhu B., Mason P., Seguin-Swartz G., Stewart C.N. (2003). Hybridization between transgenic Brassica napus L. and its wild relatives: Brassica rapa L., Raphanus raphanistrum L., Sinapis arvensis L., and Erucastrum gallicum (Willd.) O.E. Schulz. *Theoretical and Applied Genetics* 107(3): 528-539.
- Weekes R., Allnutt T., Boffey C., Morgan S., Bilton M., Daniels R., Henry C. (2007). A study of crop-to-crop gene flow using farm scale sites of fodder maize (*Zea mays* L.) in the UK. *Transgenic Research* 16(2): 203-211.
- Wei W., Darmency H. (2008). Gene flow hampered by low seed size of hybrids between oilseed rape and five wild relatives. *Seed Science Research* 18(2): 115-123.
- Whitton J., Wolf D.E., Arias D.M., Snow A.A., Rieseberg L.H. (1997). The persistence of cultivar alleles in wild populations of sunflowers five generations after hybridization. *Theoretical and Applied Genetics* 95(1/2): 33-40.
- Wray M.W. (1993) A survey of admixture in wheat and barley grain in 1988 to 1990: 195-206.
- Yoshimura Y., Beckie H.J., Matsuo K. (2006). Transgenic oilseed rape along transportation routes and port of Vancouver in western Canada. *Environmental Biosafety Research* 5(2): 67-75.

Zemetra R.S., Hansen J., Mallory-Smith C.A. (1998). Potential for gene transfer between wheat (*Triticum aestivum*) and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*). *Weed Science* 46(3): 313-317.

### Section 3.2.3 Apparition de résistances spontanées

Agreste, Les Dossiers n°8, juillet 2010, <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>

Australian Glyphosate Sustainability Working Group (2011). Australian Glyphosate Resistance Register: 9 p. <http://www.glyphosateresistance.org.au/GRARG%20Register.pdf>

Bailly G., Archer S., Wright D., Flamant L., Kaundun S.S. (2010). Utilité des racinaires dans la gestion des résistances aux graminicides : une étude de cas, 21eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 Decembre, 2010., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): unpaginated.

Beckie H.J. (2006). Herbicide-resistant weeds: management tactics and practices. *Weed Technology* 20(3): 793-814.

Beckie H.J., Reboud X. (2009). Selecting for weed resistance: herbicide rotation and mixture. *Weed Technology* 23(3): 363-370.

Bertin G. (2010). Ethametsulfuron-methyl: une nouvelle molécule pour le désherbage du colza, 21eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 Decembre, 2010., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): unpaginated.

Bibard V., Nicolier S. (2007). Comparaison des différentes stratégies de désherbage du maïs. AFPP - Vingtième Conférence du COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaise Herbes. Dijon, 11-12 décembre 2007.

Bradshaw L.D., Padgett S.R., Kimball S.L., Wells B.H. (1997). Perspectives on glyphosate resistance. *Weed Technology* 11(1): 189-198.

Brewer C.E., Oliver L.R. (2009). Confirmation and Resistance Mechanisms in Glyphosate-Resistant Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) in Arkansas. *Weed Science* 57: 567-573.

Burnet M.W.M., Hart Q., Holtum J.A.M., Powles S.B. (1994). Resistance to nine herbicide classes in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* 42(3): 369-377.

Busi R., Yu Q., Barrett-Lennard R., Powles S. (2008). Long distance pollen-mediated flow of herbicide resistance genes in *Lolium rigidum*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 117(8): 1281-1290.

Cassagne J.P. (2009). La protection phytosanitaire du blé tendre: davantage de traitements pour les cultures à haut rendement. *Agreste Primeur* 226: n.p.

Chauvel B., Guillemin J.P., Colbach N., Gasquez J. (2001). Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 20(2): 127-137.

Chikowo R., Faloya V., Petit S., Munier-Jolain N.M. (2009). Integrated Weed Management systems allow reduced reliance on herbicides and long-term weed control. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 132: 237-242.

Cocker K.M., Northcroft D.S., Coleman J.O.D., Moss S.R. (2001). Resistance to ACCase-inhibiting herbicides and isotroturon in UK populations of *Lolium multiflorum*: mechanisms of resistance and implications for control. *Pest Management Science* 57(7): 587-597.

Colbach N, Kurstjens DAG, Munier-Jolain NM, Dalbiès A, Doré T (2010) Assessing non-chemical weeding strategies through mechanistic modelling of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) dynamics. *European Journal of Agronomy* 32: 205-218.

Coop de France Déshydratation, CDER de Chalons en Champagne, Chambre d'Agriculture de la Marne (2010). La luzerne en Champagne-Ardennes : enquête culturelle 2009: 24 p. [http://culture-luzerne.org/pdf/1011\\_enquete\\_pour\\_envoi\\_vers\\_legere\\_.pdf](http://culture-luzerne.org/pdf/1011_enquete_pour_envoi_vers_legere_.pdf)

Dauer J.T., Luschei E.C., Mortensen D.A. (2009). Effects of landscape composition on spread of an herbicide-resistant weed. *Landscape Ecology* 24(6): 735-747.

Dauer J.T., Mortensen D.A., Vangessel M.J. (2007). Temporal and spatial dynamics of long-distance *Conyza canadensis* seed dispersal. *Journal of Applied Ecology* 44(1): 105-114.

De La Rocque B. (2005). Le cas Duo system en cultures de maïs. *Phytoma* 587: 52-54.

Delattre M., Vaccari V. (2010). Résistance des bromes aux ALS en Haute-Marne: tests en pots, 21eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 Decembre, 2010., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): unpaginated.

Delye C. (2005). Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. *Weed Science* 53(5): 728-746.

- Delye C., Boucansaud K. (2008). A molecular assay for the proactive detection of target site-based resistance to herbicides inhibiting acetolactate synthase in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research (Oxford)* 48(2): 97-101.
- Delye C., Boucansaud K., Pernin F., Bertin G. Coquelicot : les inhibiteurs de l'ALS dans le rouge ? . *Phytoma* Sous presse.
- Delye C., Clement J., Pernin F., Chauvel B., Le Corre V. (2010a). Quand la biologie moléculaire se mêle d'agronomie : à quelle échelle spatiale raisonner la gestion des adventices ?, 21eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 Decembre, 2010., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): unpaginated.
- Delye C., Clement J.A.J., Pernin F., Chauvel B., Le Corre V. (2010b). High gene flow promotes the genetic homogeneity of arable weed populations at the landscape level. *Basic and Applied Ecology* 11(6): 504-512.
- Delye C., Menchari Y., Guillemin J.P., Matejcek A., Michel S., Camilleri C., Chauvel B. (2007). Status of black grass (*Alopecurus myosuroides*) resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in France. *Weed Research (Oxford)* 47(2): 95-105.
- Delye C., Pernin F., Scarabel L. (2011). Evolution and diversity of the mechanisms endowing resistance to herbicides inhibiting acetolactate-synthase (ALS) in corn poppy (*Papaver rhoeas* L.). *Plant Science* 180(2): 333-342.
- Dewar A.M. (2009). Weed control in glyphosate-tolerant maize in Europe. *Pest Management Science* 65(10): 1047-1058.
- Diggle A.J., Neve P.B., Smith F.P. (2003). Herbicides used in combination can reduce the probability of herbicide resistance in finite weed populations. *Weed Research (Oxford)* 43(5): 371-382.
- Duke S.O. (2005). Taking stock of herbicide-resistant crops ten years after introduction. *Pest Management Science* 61(3): 211-218.
- Duroueix F., Lecomte V., Leflon M., Lieven J. (2010). Assurer la durabilité des solutions à base d'inhibiteurs de l'ALS avec l'arrivée de nouveaux herbicides en culture d'oléagineux, 21eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 Decembre, 2010., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): unpaginated.
- Egan J.F., Maxwell B.D., Mortensen D.A., Ryan M.R., Smith R.G. (2011). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)-resistant crops and the potential for evolution of 2,4-D-resistant weeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(11): E37-E37.
- Favier T., Gauvrit C. (2007) First resistance case to glyphosate in France, 20eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 11-12 decembre, 2007., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): 233-237.
- Fried G., Norton L.R., Reboud X. (2008). Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture Ecosystems & Environment* 128(1-2): 68-76.
- Gasquez J., Barralis G., Aigle N. (1982). Distribution and spread of chloroplast-based triazine resistance in annual weeds in France. *Agronomie* 2(2): 119-123.
- Gasquez J., Bay G. (2007). *Digitaria sanguinalis*: une nouvelle espece resistente aux inhibiteurs de l'ACCCase en France, 20eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 11-12 decembre, 2007, 141-148.
- Gasquez J, Fried G Délos M Gauvrit C Reboud X (2008) Vers un usage raisonné des herbicides : analyse des pratiques en blé d'hiver de 2004 à 2006. *Innovations Agronomiques* 3 : 145-156.
- Gasquez J., Matejcek A., Palavioux K. (2010). Sélection de la résistance aux sulfonylurées dans une population de ray-grass résistante aux fops par détoxication, 21eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 Decembre, 2010., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): unpaginated.
- Gauvrit C. (2007). Resistance to glyphosate: current status and mechanisms, 20eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 11-12 decembre, 2007., Association Nationale pour la Protection des Plantes (ANPP): 149-158.
- Green J.M. (2007). Review of glyphosate and ALS-inhibiting herbicide crop resistance and resistant weed management. *Weed Technology* 21(2): 547-558.
- Green J.M. (2009). Evolution of glyphosate-resistant crop technology. *Weed Science* 57(1): 108-117.
- Green J.M., Hazel C.B., Forney D.R., Pugh L.M. (2008). New multiple-herbicide crop resistance and formulation technology to augment the utility of glyphosate. *Pest Management Science* 64(4): 332-339.
- Green J.M., Owen M.D.K. (2010). Herbicide-Resistant Crops: Utilities and Limitations for Herbicide-Resistant Weed Management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Article ASAP, DOI: 10.1021/jf101286h.

- Gressel J., Segel L.A. (1990). Modelling the effectiveness of herbicide rotations and mixtures as strategies to delay or preclude resistance. *Weed Technology* 4 : 186-198.
- ITB (2011). Gérer et maîtriser les adventices en culture de betteraves, La technique betteravière, n° 943: 4 p.
- Jacquemin B., Gasquez J., Reboud X. (2009). Modelling binary mixtures of herbicides in populations resistant to one of the components: evaluation for resistance. *Pest Management Science* 65(2): 113-121.
- Jalaludin A., Ngim J., Bakar B.H.J., Alias Z. (2010). Preliminary findings of potentially resistant goosegrass (*Eleusine indica*) to glufosinate-ammonium in Malaysia. *Weed Biology and Management* 10(4): 256-260.
- Jasieniuk M., BruleBabel A.L., Morrison I.N. (1996). The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Science* 44(1): 176-193.
- Lecocq B. (2010). Inhibiteurs d'ALS. A utiliser avec modération! . *Cultivar*: 54-56.
- Lieven J, Duroueix F (2010) Evaluation des techniques de désherbage combiné ou mixte du colza et du tournesol. Vingt et unième conférence du COLUMA : journées internationale sur la lutte contre les mauvaises herbes. Dijon, France, 8 et 9 décembre 2010.
- Loureiro I., Rodríguez-García E., Escorial C., García-Baudín J.M., González-Andújar J.L., Chueca M.C. (2010). Distribution and frequency of resistance to four herbicide modes of action in *Lolium rigidum* Gaud. accessions randomly collected in winter cereal fields in Spain. *Crop Protection* 29(11): 1248-1256.
- Mallory-Smith C. (1998). Bromoxynil-resistant common groundsel (*Senecio vulgaris*). *Weed Technology* 12(2): 322-324.
- Marshall R., Moss S.R.(2007). Resistance to acetolactate synthase (ALS) inhibiting herbicides in UK populations of *Alpecurus myosuroides* (black-grass), European Weed Research Society, 14th EWRS Symposium, Hamar, Norway, 17-21 June 2007., European Weed Research Society: 143.
- Moss S.R., Tatnell L.V., Hull R., Clarke J.H., Wynn S., Marshall R. (2010). Integrated management of herbicide resistance. HGCA Project Report(466): xvii + 115 pp.
- Neve P. (2007). Challenges for herbicide resistance evolution and management: 50 years after Harper. *Weed Research (Oxford)* 47(5): 365-369.
- Neve P. (2008). Simulation modelling to understand the evolution and management of glyphosate resistance in weeds. *Pest Management Science* 64(4): 392-401.
- Neve P., Diggle A.J., Smith F.P., Powles S.B. (2003). Simulating evolution of glyphosate resistance in *Lolium rigidum* II: Past, present and future glyphosate use in Australian cropping. *Weed Research (Oxford)* 43(6): 418-427.
- Neve P., Norsworthy J.K., Smith K.L., Zelaya I.A. (2011). Modelling evolution and management of glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Weed Research* 51(2): 99-112.
- Neve P., Powles S. (2005). Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 110(6): 1154-1166.
- Neve P., Vila-Aiub M., Roux F. (2009). Evolutionary-thinking in agricultural weed management. *New Phytologist* 184(4): 783-793.
- Owen M.D.K. (2008). Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science* 64(4): 377-387.
- Owen M.D.K., Zelaya I.A. (2005). Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science* 61(3): 301-311.
- Owen M.J., Walsh M.J., Llewellyn R.S., Powles S.B. (2007). Widespread occurrence of multiple herbicide resistance in Western Australian annual ryegrass (*Lolium rigidum*) populations. *Australian Journal of Agricultural Research* 58(7): 711-718.
- Petit C., Duhieu B., Boucansaud K., Delye C. (2010). Complex genetic control of non-target-site-based resistance to herbicides inhibiting acetyl-coenzyme A carboxylase and acetolactate-synthase in *Alopecurus myosuroides* Huds. *Plant Science* 178(6): 501-509.
- Powles S.B. (2008). Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science* 64(4): 360-365.
- Powles S.B., Preston C., Bryan I.B., Jutsum A.R. (1996). Herbicide Resistance: Impact and Management. *In Advances in Agronomy*, (Donald L.S., ed.), Volume 58, Academic Press: 57-93.
- Powles S.B., Yu Q. (2010). Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 317-347.
- Pratley J., Urwin N., Stanton R., Baines P., Broster J., Cullis K., Schafer D., Bohn J., Krueger R. (1999). Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*. I. Bioevaluation. *Weed Science* 47(4): 405-411.
- Preston C. (2004). Herbicide resistance in weeds endowed by enhanced detoxification: complications for management. *Weed Science* 52(3): 448-453.

- Preston C., Powles S.B. (2002). Evolution of herbicide resistance in weeds: initial frequency of target site-based resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Lolium rigidum*. *Heredity* 88(1): 8-13.
- Roux F., Paris M., Reboud X. (2008). Delaying weed adaptation to herbicide by environmental heterogeneity: a simulation approach. *Pest Management Science* 64(1): 16-29.
- Sandermann H. (2006). Plant biotechnology: ecological case studies on herbicide resistance. *Trends in Plant Science* 11(7): 324-328.
- Scarabel L., Carraro N., Sattin M., Varotto S. (2004). Molecular basis and genetic characterisation of evolved resistance to ALS-inhibitors in *Papaver rhoeas*. *Plant Science* 166(3): 703-709.
- Scarabel L., Varotto S., Sattin M. (2007). A European biotype of *Amaranthus retroflexus* cross-resistant to ALS inhibitors and response to alternative herbicides. *Weed Research (Oxford)* 47(6): 527-533.
- Seng C.T., Van Lun L., San C.T., Bin Sahid I. (2010). Initial report of glufosinate and paraquat multiple resistance that evolved in a biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) in Malaysia. *Weed Biology and Management* 10(4): 229-233.
- Senior I.J., Bavage A.D. (2003). Comparison of genetically modified and conventionally derived herbicide tolerance in oilseed rape: a case study. *Euphytica* 132(2): 217-226.
- Stanton R.A., Pratley J.E., Hudson D., Dill G.M. (2010). Herbicide tolerant canola systems and their impact on winter crop rotations. *Field Crops Research* 117(1): 161-166.
- Tan S.Y., Evans R.R., Dahmer M.L., Singh B.K., Shaner D.L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science* 61(3): 246-257.
- Tranel P.J., Lee R.M., Bell M.S., Singh S., Walter J.R., Bradley K.W. (2006). What we know (and don't know) about glyphosate resistance in waterhemp. *In North Central Weed Science Society Proceedings*, 61: 100.
- Tranel P.J., Wright T.R. (2002). Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science* 50(6): 700-712.
- Vacher C., Bonin L., Citron G. (2009). Managing herbicide - resistance grass weed (rye-grass and blackgrass) in winter cereals, XIIIeme Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-10 Septembre 2009., Association Francaise de Protection des Plantes (AFPP): 321-330.
- VanGessel M.J. (2001). Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science* 49(6): 703-705.
- Vila-Aiub M.M., Neve P., Powles S.B. (2009). Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist* 184(4): 751-767.
- Vila-Aiub M.M., Vidal R.A., Balbi M.C., Gundel P.E., Trucco F., Ghersa C.M. (2008). Glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems: an overview. *Pest Management Science* 64(4): 366-371.
- Walsh M.J., Owen M.J., Powles S.B. (2007). Frequency and distribution of herbicide resistance in *Raphanus raphanistrum* populations randomly collected across the Western Australian wheatbelt. *Weed Research (Oxford)* 47(6): 542-550.
- Westhoven A.M., Davis V.M., Gibson K.D., Weller S.C., Johnson W.G. (2008). Field presence of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*), common lambsquarters (*Chenopodium album*), and giant ragweed (*Ambrosia trifida*) biotypes with elevated tolerance to glyphosate. *Weed Technology* 22: 544-548.
- Yuan J.S., Tranel P.J., Stewart C.N., Jr. (2007). Non-target-site herbicide resistance: a family business. *Trends in Plant Science* 12(1): 6-13.
- Zheng D.M., Patzoldt W.L., Tranel P.J. (2005). Association of the W574L ALS substitution with resistance to cloransulam and imazamox in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*). *Weed Science* 53(4): 424-430.

#### Sites internet cites

<http://www.cetiom.fr>

<http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>

<http://www.weedscience.org>

<http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>

### Section 3.3.1. Toxicité des VTH et des herbicides associés pour la biodiversité

Aebischer N.J. (1991). Twenty years of monitoring invertebrates and weeds in cereal fields in Sussex. In *The ecology of temperate cereal fields*, (Firbank L.G. et al., eds.), Blackwell Scientific Publications, Oxford: 305-331.

- Ahemad M., Khan M.S. (2011). Toxicological effects of selective herbicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Klebsiella* sp. strain PS19. *Curr. Microbiol.* 62:532-538.
- Ahmad I., Malloch D. (1995) Interaction of soil microflora with the bioherbicide phosphinothricin. *Agriculture, Ecosystems, Environment* 54:165-174.
- Allievi L., Gigliotti C. (2001). Response of the bacteria and fungi of two soils to the sulfonylurea herbicide cinosulfuron. *J. Environ. Sci. Health (part B)* 36:161-175.
- Andow D.A., Zwahlen C. (2006). Assessing environmental risks of transgenic plants. *Ecology Letters* 9(2): 196-214.
- Barriuso E., Houot S. (1996) Rapid mineralization of the s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management, *Soil Biol. Biochem.* 28:1341-1348.
- Baxter J, Cummings S.P. (2006) The application of the herbicide bromoxynil to a model soil-derived bacterial community: impact on degradation and community structure. *Lett. Appl. Microbiol.* 43:659-665.
- Baxter J., Cummings S.P. (2008) The degradation of the herbicide bromoxynil and its impact on bacterial diversity in a top soil. *J. Appl. Microbiol.* 104:1605-1616.
- Beckie H.J., Harker K.N., Hall L.M., Warwick S.I., Legere A., Sikkema P.H., Clayton G.W., Thomas A.G., Leeson J.Y., Seguin-Swartz G., Simard M.J. (2006). A decade of herbicide-resistant crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 86(4): 1243-1264.
- Bengtsson J., Ahnström J., Weibull A.-C. (2005). The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *Journal of Applied Ecology* 42(2): 261-269.
- Benton T.G., Vickery J.A., Wilson J.D. (2003). Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology & Evolution* 18(4): 182-188.
- Boatman N.D., Brickle N.W., Hart J.D., T.P. M., Morris A.J., A.W.A. M., K.A. M., P.A. R. (2004). Evidence for the indirect effects of pesticides on farmland birds. *Ibis* 146: 131-143.
- Bohan D.A., Boffey C.W.H., Brooks D.R., Clark S.J., Dewar A.M., Firbank L.G., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., May M.J., Osborne J.L., Perry J.N., Rothery P., Roy D.B., Scott R.J., Squire G.R., Woiwod I.P., Champion G.T. (2005). Effects on weed and invertebrate abundance and diversity of herbicide management in genetically modified herbicide-tolerant winter-sown oilseed rape. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 272(1562): 463-474.
- Bonnet J.L., Bonnemoy F., Dusser M., Bohatier J. (2008) Toxicity assessment of the herbicides sulcotrione and mesotrione toward two reference environmental microorganisms: *Tetrahymena pyriformis* and *Vibrio fischeri*. *Arch. Environ. contamination toxicol.* 55:576-583.
- Botsford J.L. (1997) Determining the toxicity of herbicides using a novel method. In : WRRRI technical completion report n°301. New Mexico water resources research institute. Las Cruces, NM, USA.
- Braschi I., Pusino A., Gessa C., Bollag J.M. (2000) Degradation of primisulfuron by a combination of chemical and microbiological processes. *J. Agric. Food Chem.* 48:2565-2571.
- Brittain C.A., Vighi M., Bommarco R., Settele J., S.G. P. (2010). Impacts of a pesticide on pollinator species richness at different spatial scales. *Basic and Applied Ecology* 11: 106-115.
- Brooks D.R., Bohan D.A., Champion G.T., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., Clark S.J., Dewar A.M., Firbank L.G., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Woiwod I.P., Birchall C., Skellern M.P., Walker J.H., Baker P., Bell D., Browne E.L., Dewar A.J.G., Fairfax C.M., Garner B.H., Haylock L.A., Horne S.L., Hulmes S.E., Mason N.S. (2003). Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. I. Soil-surface-active invertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 358(1439): 1847-1862.
- Brust G.E. (1990). Direct and indirect effects of four herbicides on the activity of carabid beetles (coleoptera: Carabidae). *Pesticide Science* 30(3): 309-320.
- Buée M, De Boer W., Martin F., van Overbeek L., Jurkevitch E. (2010) The rhizosphere zoo: an overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea and fungi, and some of their structuring factors, pp. 189-212, In: *Rhizosphere: achievements and challenges* (Dessaux Y, Hinsinger P., Lemanceau P, eds.), Springer, Dordrecht (NL).
- Butler S.J., Vickery J.A., Norris K. (2007). Farmland biodiversity and the footprint of agriculture. *Science (Washington)* 315(5810): 381-384.
- Cerdeira A.L., Duke S.O. (2006). The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: a review. *Journal of Environmental Quality* 35(5): 1633-1658.
- CFIA (1995). Détermination du risque environnemental du canola tolérant au glufosinate-ammonium d'AgrEvo Canada Inc. Agence canadienne d'inspection des aliments.

- Chaline N., Decourtye A., Marsault D., Lechner M., Champolivier J., Van Waetermeulen X., Viollet D., Pham-Delegue M.H. (2001). Impact of novel herbicide-resistant transgenic oilseed rape on honey bee colonies in semi-field conditions. In *Hazards of Pesticides to Bees*, (Belzunces L.P. et al., eds.), Colloques De L Inra, Inst Natl Recherche Agronomique, Paris: 187-193.
- Chalvet-Monfray K., Belzunces L.P., Colin M.E., Fleche C., Sabatier P. (1995). Modelling synergistic effects of two toxic agents in the honeybee. *Journal of Biological Systems* 3(1): 253-263.
- Chalvet-Monfray K., Belzunces L.P., Colin M.E., Fleche C., Sabatier P. (1996). Synergy between deltamethrin and prochloraz in bees: Modeling approach. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15(4): 525-534.
- Chang Y.J., Hussain A.K., Stephen J.R., Mullen M.D., White D.C., Peacock A. (2001) Impact of herbicides on the abundance and structure of indigenous beta-subgroup ammonia-oxidizer communities in soil microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 20:2462-2468.
- Chauvel B., Guillemain J.P., Colbach N. (2009). Evolution of a herbicide-resistant population of *Alopecurus myosuroides* Huds. in a long-term cropping system experiment. *Crop Protection* 28(4): 343-349.
- Chevassus-au-Louis B., Griffon M. (2008). La nouvelle modernité : une agriculture productive à haute valeur écologique. In *Economie et stratégies agricoles*, Edition Club Déméter, Paris 7-48.
- Colin M.E., Belzunces L.P. (1992). Evidence of synergy between prochloraz and deltamethrin in *Apis mellifera* L.: a convenient biological approach. *Pesticide Science* 36(2): 115-119.
- Cunningham H.M., Chaney K., Bradbury R.B., Wilcox A. (2004). Non-inversion tillage and farmland birds: a review with special reference to the UK and Europe. *Ibis* 146: 192-202.
- Dag A., Zipori I., Pleser Y. (2006). Using bumblebees to improve almond pollination by the honeybee. *Journal of Apicultural Research* 45(4): 215-216.
- Debeljak M., Squire G.R., Demsar D., Young M.W., Dzeroski S. (2008). Relations between the oilseed rape volunteer seedbank, and soil factors, weed functional groups and geographical location in the UK. *Ecological Modelling* 212(1-2): 138-146.
- Descalzo R.C., Punja Z.K., Lévesque C.A., Rahe J.E. (1998) Glyphosate treatment of bean seedlings causes short-term increases in *Pythium* populations and damping off potential in soils. *Appl. Soil Ecol.* 8:25-33.
- Devictor V., Julliard R., Couvet D., Lee A., Jiguet F. (2007). Functional homogenization effect of urbanization on bird communities. *Conservation Biology* 21: 741-751.
- Dewar A.M., May M.J., Woivod I.P., Haylock L.A., Champion G.T., Garner B.H., Sands R.J.N., Qi A.M., Pidgeon J.D. (2003). A novel approach to the use of genetically modified herbicide tolerant crops for environmental benefit. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 270(1513): 335-340.
- Donald D.B., Green R.E., Heath M.F. (2001). Agricultural intensification and the collapse of Europe's farmland bird populations. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 268: 25-29.
- Downing H.F., Delorenzo M.E., Fulton M.H., Scott G.I., Madden C.J., Kucklick J.R. (2004) Effects of the agricultural pesticides atrazine, chlorothalonil, and endosulfan on south florida microbial assemblages. *Ecotoxicol* 13:245-260.
- European Commission (2002a). Review report for the active substance glyphosate, European Commission, 6511/VI/99-final: 56 p.
- European Commission (2002b). Review report for the active substance imazamox, European Commission, SANCO/4325/2000-Final: 24 p.
- European Commission (2004). Review report for the active substance bromoxynil, European Commission, SANCO/4347/2000-final: 104 p.
- European Food Safety Authority. (2004). Scientific report on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tribenuron. *EFSA Journal*: Article 15r.
- European Food Safety Authority. (2005). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glufosinate. *EFSA Journal*: Article 27.
- European Food Safety Authority. (2008). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance chlorsulfuron. *EFSA Journal* 7(3): Article 201r.
- Ewers R.M., Didham R.K. (2006). Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biological Reviews* 81: 117-142.
- Filippi-Codaccioni O., Devictor V., Bas Y., Clobert J., Julliard R. (2010). Specialist response to proportion of arable land and pesticide input in agricultural landscapes. *Biological Conservation* 143: 883-890.

- Firbank L.G. (2005). Striking a new balance between agricultural production and biodiversity. *Annals of Applied Biology* 146(2): 163-175.
- Foley J.A., DeFries R., Asner G.P., Barford C., Bonan G., Carpenter S.R., Chapin F.S., Coe M.T., Daily G.C., Gibbs H.K., Helkowski J.H., Holloway T., Howard E.A., Kucharik C.J., Monfreda C., Patz J.A., Prentice I.C., Ramankutty N., Snyder P.K. (2005). Global Consequences of Land Use. *Science* 309(5734): 570-574.
- Forlani G., Mantelli M., Branzoni M., Nielsen E., Favilli F. (1995) Differential sensitivity of plant-associated bacteria to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Plant Soil* 176: 243-253.
- Frampton G.K., Dorne J. (2007). The effects on terrestrial invertebrates of reducing pesticide inputs in arable crop edges: a meta-analysis. *Journal of Applied Ecology* 44: 362-373.
- Freckleton R.P., Stephens P.A., Sutherland W.J., Watkinson A.R. (2004). Amelioration of biodiversity impacts of genetically modified crops: predicting transient versus long-term effects. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 271(1536): 325-331.
- Free J.B. (1993). *Insect pollination of crops*, Ed. 2, Academic Press, London UK, xii + 684.
- Gabriel D., Sait S.M., Hodgson J.A., Schmutz U., Kunin W.E., Benton T.G. (2010). Scale matters: the impact of organic farming on biodiversity at different spatial scales. *Ecology Letters* 13(7): 858-869.
- Gallai N., Salles J.M., Settele J., Vaissiere B.E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68(3): 810-821.
- Geiger F., Bengtsson J., Berendse F., Weisser W.W., Emmerson M., Morales M.B., Ceryngier P., Liira J., Tschamtker T., Winqvist C., Eggers S., Bommarco R., Part T., Bretagnolle V., Plantegenest M., Clement L.W., Dennis C., Palmer C., Onate J.J., Guerrero I., Hawro V., Aavik T., Thies C., Flohre A., Hanke S., Fischer C., Goedhart P.W., Inchausti P. (2010). Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology* 11: 97-105.
- Govantes F., García-González V., Porrúa O., Platero A.I., Jiménez-Fernández A., Santero E. (2010) Regulation of the atrazine-degradative genes in *Pseudomonas* sp. strain ADP. *FEMS Microbiol. Lett.* 310:1-8.
- Gray A. (2004). Genetically modified crops: broader environmental issues. *Journal of Commercial Biotechnology* 10(3): 234-240.
- Green R.E., Cornell S.J., Scharlemann J.P.W., Balmford A. (2005). Farming and the Fate of Wild Nature. *Science* 307(5709): 550-555.
- Greenleaf S.S., Kremen C. (2006). Wild bees enhance honey bees' pollination of hybrid sunflower. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(37): 13890-13895.
- Gressel J. (2009). Evolving understanding of the evolution of herbicide resistance. *Pest Management Science* 65(11): 1164-1173.
- Groom M.J., Meffe G.K., Carroll C.R. (2006). *Principles of conservation biology*, 3rd edition ed., Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Hails R.S. (2002). Assessing the risks associated with new agricultural practices. *Nature* 418(6898): 685-688.
- Hails R.S. (2005). Assessing the impact of genetically modified crops on agricultural biodiversity. *Minerva Biotecnologica* 17(1): 13-20.
- Hall J.C., van Deynze T.D., Struger J., Chan C.H. (1993) Enzyme immunoassay based survey of precipitation and surface water for the presence of atrazine, metolachlor and 2,4-D. *J. Environ. Sci. Health (Part B)* 28:577-598.
- Hart J.D., Milsom T.P., Fisher G., Wilkins V., Moreby S.J., Murray A.W.A., Robertson P.A. (2006). The relationship between yellowhammer breeding performance, arthropod abundance and insecticide applications on arable farmland. *Journal of Applied Ecology* 43(1): 81-91.
- Haughton A.J., Champion G.T., Hawes C., Heard M.S., Brooks D.R., Bohan D.A., Clark S.J., Dewar A.M., Firbank L.G., Osborne J.L., Perry J.N., Rothery P., Roy D.B., Scott R.J., Woiwod I.P., Birchall C., Skellern M.P., Walker J.H., Baker P., Browne E.L., Dewar A.J.G., Garner B.H., Haylock L.A., Horne S.L., Mason N.S., Sands R.J.N. (2003). Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. II. Within-field epigeal and aerial arthropods. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 358(1439): 1863-1877.
- Hawes C., Haughton A.J., Osborne J.L., Roy D.B., Clark S.J., Perry J.N., Rothery P., Bohan D.A., Brooks D.R., Champion G.T., Dewar A.M., Heard M.S., Woiwod I.P., Daniels R.E., Young M.W., Parish A.M., Scott R.J., Firbank L.G., Squire G.R. (2003). Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 358(1439): 1899-1913.



- Hayes T.B., Case P., Chui S., Chung D., Haeffele C., Haston K., Lee M., Mai V.P., Marjuoa Y., Parker J., Tsui M. (2006). Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environmental Health Perspectives* 114: 40-50.
- He Y.H., Shen D.S., Fang C.R., He R., Zhu Y.M. (2006) Effects of metsulfuron-methyl on the microbial population and enzyme activities in wheat rhizosphere soil. *J. Environ. Sci. Health (part B)* 41:269-284.
- Heard M.S., Clark S.J., Rothery P., Perry J.N., Bohan D.A., Brooks D.R., Champion G.T., Dewar A.M., Hawes C., Haughton A.J., May M.J., Scott R.J., Stuart R.S., Squire G.R., Firbank L.G. (2006). Effects of successive seasons of genetically modified herbicide-tolerant maize cropping on weeds and invertebrates. *Annals of Applied Biology* 149(3): 249-254.
- Heard M.S., Hawes C., Champion G.T., Clark S.J., Firbank L.G., Haughton A.J., Parish A.M., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Skellern M.P., Squire G.R., Hill M.O. (2003). Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. I. Effects on abundance and diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 358(1439): 1819-1832.
- Heard M.S., Rothery P., Perry J.N., Firbank L.G. (2005). Predicting longer-term changes in weed populations under GMHT crop management. *Weed Research (Oxford)* 45(5): 331-338.
- Hodges C.F. (1994) Vegetative growth and sporulation of *Bipolaris sorokiniana* on sequentially older infected leaves of *Poa pratensis* exposed to postemergence herbicides. *Mycopathologia* 128: 105-109.
- Hole D.G., Perkins A.J., Wilson J.D., Alexander I.H., Grice P.V., Evans A.D. (2005). Does organic farming benefit biodiversity? *Biological Conservation* 122(1): 113-130.
- Holland J.M. (2004). The environmental consequences of adopting conservation tillage in Europe : reviewing the evidence. *Agriculture Ecosystems & Environment* 103: 1-25.
- Hu J., Dai X., Li S. (2005) Effects of atrazine and its degrader *Exiguobacterium* sp. BTAH1 on soil microbial community. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 16:1518-1522.
- Huang Z.Y., Hanley A.V., Pett W.L., Langenberger M., Duan J.J. (2004). Field and semifield evaluation of impacts of transgenic canola pollen on survival and development of worker honey bees. *Journal of Economic Entomology* 97(5): 1517-1523.
- Keum Y.S., Lee H.R., Kim J.H. (2010). Effects of Pesticides on the Bacterial Production of Pyrrolnitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(9): 5531-5537.
- Kladivko E.J. (2001). Tillage systems and soil ecology. *Soil & Tillage Research* 61: 61-76.
- Kleijn D., Snoeiijing I.J. (1997). Field boundary vegetation and the effects of agrochemical drift: botanical change caused by low levels of herbicide and fertilizer. *Journal of Applied Ecology* 34: 1413-1425.
- Klein A.M., Vaissiere B.E., Cane J.H., Steffan-Dewenter I., Cunningham S.A., Kremen C., Tscharntke T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 274(1608): 303-313.
- Kremen C., Williams N.M., Thorp R.W. (2002). Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(26): 16812-16816.
- Kremer R.J., Mean N.E. (2009). Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. *Eur. J. Agronomy* 31:153-161.
- Kremer R.J., Means N.E. and Kim S.J. (2005) Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 85:1165-1174.
- Kremer R.J., Yamada T., De Carmargo e Castro P.R., Wood B.W. (2009). Glyphosate interactions with physiology, nutrition, and diseases of plants: threat to agricultural sustainability?, mineral nutrition and disease problems in modern agriculture: threats to sustainability?, *European Journal of Agronomy*, 31(3), 111-176.
- Kriete G., Broer I. (1996). Influence of the herbicide phosphinothricin on growth and nodulation capacity of *Rhizobium meliloti*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46:580-586
- Krogh P.H., Griffiths B., Demsar D., Bohanec M., Debeljak M., Andersen M.N., Sausse C., Birch A.N.E., Caul S., Holmstrup M., Heckmann L.-H., Cortet J. (2007). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. *Pedobiologia* 51(3): 219-227.
- LaRossa R.A., Van Dyk T.K., Smulski D.R. (1987) Toxic accumulation of alpha-ketobutyrate caused by inhibition of the branched-chain amino acid biosynthetic enzyme acetolactate synthase in *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.* 169:1372-1378.
- Linder C., Taha I., Seiler G., Snow A., Riesberg L. (1998). Long-term introgression of crop genes into wild sunflower populations. *Theoretical and applied Genetics* 96: 339-347.

- Lipok J., Studnik H., Gruyaert S. (2010) The toxicity of Roundup® 360 SL formulation and its main constituents: glyphosate and isopropylamine towards non-target water photoautotrophs. *Ecotoxicol Environ. Saf.* 73:1681-1688.
- Malone L.A., Burgess E.P.J. (2009). Impact of genetically modified crops on pollinators, *Environmental impact of genetically modified crops*, (Ferry N., Gatehouse A.M.R., eds.), Cabi, Wallingford UK, 199-224.
- Marshall E.J.P. (2001). Biodiversity, herbicides and non-target plants. In *Pesticide Behaviour in Soils and Water*, (Walker A., ed.), British Crop Protection Council Symposium Proceedings, British Crop Protection Council, Farnham: 419-426.
- Martin-Laurent F., Barrès B., Wagschal I., Piutti S., Devers M., Soulas G., Philippot L. (2006). Impact of the maize rhizosphere on the genetic structure, the diversity and the atrazine-degrading gene composition of cultivable atrazine-degrading communities *Plant and Soil* 282: 99-115.
- Martin-Laurent F., Cornet L., Ranjard L., Lopez-Gutierrez J.C., Philippot L., Schwartz C., Chaussod R., Catroux G., Soulas G. (2004). Estimation of atrazine-degrading genetic potential and activity in three French agricultural soils, *FEMS Microbiol. Ecol.* 48:425-435.
- Martinez-Toledo M.V., Salmeron V., Gonzalez-Lopez J. (1990) Effect of phenoxy and benzoic acid herbicides on nitrogenase activity and growth of *Azospirillum brasilense*. *Soil Biol. Biochem.* 22:879-881.
- McGregor S.E. (1976). Insect pollination of cultivated crop plants, *Agriculture Handbook*, United States Department of Agriculture, 496, 411pp.
- Mekwatanakarn P., Sivasithamparam K. (1987) Effect of certain herbicides on growth and pathogenicity of take-all fungus on wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biol. Fertility Soils* 5:31-35.
- Moffett J.O., Morton H.L., Macdonald R.H. (1972). Toxicity of some herbicidal sprays to honey bees. *J Econ Entomol* 65(1): 32-6.
- Morandin L.A., Winston M.L. (2005). Wild bee abundance and seed production in conventional, organic, and genetically modified canola. *Ecological Applications* 15(3): 871-881.
- Moreby S.J., Southway S.E. (1999). Influence of autumn applied herbicides on summer and autumn food available to birds in winter wheat fields in southern England. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 72(3): 285-297.
- Morris A.J., Wilson J.D., Whittingham M.J., Bradbury R.B. (2005). Indirect effects of pesticides on breeding yellowhammer (*Emberiza citrinella*). *Agriculture, Ecosystems & Environment* 106(1): 1-16.
- Morton H.L., Moffett J.O. (1972). Ovicidal and larvicidal effects of certain herbicides on honey bees. *Environmental Entomology* 1(5): 611-614.
- Morton H.L., Moffett J.O., MacDonald R.H. (1972). Toxicity of herbicides to newly emerged honey bees. *Environmental Entomology* 1(1): 102-104.
- Morton H.L., Moffett J.O., Martin R.D. (1974). Influences of water treated artificially with herbicides on honey bee colonies. *Environmental Entomology* 3(5): 808-812.
- Mosleh Y.Y., Paris-Palacios S., Couderchet M., Vernet G. (2003). Effects of the herbicide isotoproturon on survival, growth rate, and protein content of mature earthworms (*Lumbricus terrestris* L.) and its fate in the soil. *Applied Soil Ecology* 23(1): 69-77.
- Murphy C.E., Lemerle D. (2006). Continuous cropping systems and weed selection. *Euphytica* 148(1/2): 61-73.
- Muthukaruppan G., Janardhanan S., Vijayalakshmi G. (2005). Sublethal Toxicity of the Herbicide Butachlor on the Earthworm *Perionyx sansibaricus* and its Histological Changes (5 pp). *Journal of Soils and Sediments* 5(2): 82-86.
- Muthukaruppan G., Paramasamy G. (2010). Effect of Butachlor Herbicide on Earthworm *Eisenia fetida*-Its Histological Perspicuity. *Applied and Environmental Soil Science*(2010): Article ID 850758, 4 pages, 2010.
- Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G. (2003) Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Science* 54:655-670.
- Neher D.A., Barbercheck M.E. (1999). Diversity and function of soil mesofauna. In *Biodiversity in agroecosystems*, (Collins W.W., Qualset C.O., eds.), CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington D.C.: 27-48.
- Neve P., Vila-Aiub M., Roux F. (2009). Evolutionary-thinking in agricultural weed management. *New Phytologist* 184(4): 783-793.
- Nielsen M.K., Holtze M.S., Svensmark B., Juhler R.K. (2007) Demonstrating formation of potentially persistent transformation products from the herbicides bromoxynil and ioxynil using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Pest Manag. Sci.* 63:141-149.
- Olmstead A.L., Wooten D.B. (1987). Bee pollination and productivity growth: the case of alfalfa. *American Journal of Agricultural Economics* 69(1): 56-63.

- Ormerod S.J., Marshall E.J.P., Kerby G., Rushton S.P. (2003). Meeting the ecological challenges of agricultural change: editors' introduction. *Journal of Applied Ecology* 40(6): 939-946.
- Pampulha M.E., Oliveira A. (2006) Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms. *Curr. Microbiol.* 53:238-243.
- Pankey J.H., Griffin J.L., Leonard B.R., Miller D.K., Downer R.G., Costello R.W. (2004). Glyphosate-insecticide combination effects on weed and insect control in cotton. *Weed Technology* 18(3): 698-703.
- Perry J.N., C.J.F. t.B., Dixon P.M., Duan J.J., Haisl R.S., Huesken A., Lavielle A., Marvier M., Scardi M., Schmidt K., Tothmeresz B., Schaarschmidt F., van der Voet H. (2009). Statistical aspects of environmental risk assessment of GM plants for effects on non-target organisms. *Environmental Biosafety Research* 8: 65-78.
- Perry J.N., Firbank L.G., Champion G.T., Clark S.J., Heard M.S., May M.J., Hawes C., Squire G.R., Rothery P., Wolwod I.P., Pidgeon J.D. (2004). Ban on triazine herbicides likely to reduce but not negate relative benefits of GMHT maize cropping. *Nature* 428(6980): 313-316.
- Perry J.N., Rothery P., Clark S.J., Heard M.S., Hawes C. (2003). Design, analysis and statistical power of the Farm-Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Journal of Applied Ecology* 40(1): 17-31.
- Pesce S., Batisson I., Bardot C., Fajon C., Portelli C., Montuelle B., Bohatier J. (2009) Response of spring and summer riverine microbial communities following glyphosate exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72:1905-1912.
- Pham-Delegue M.H., Jouanin L., Sandoz J.C. (2002). Direct and indirect effects of genetically modified plants on the honey bee, Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals, (Devillers J., Pham-Delegue M.H., eds.), Taylor & Francis, London UK, 312-326.
- Pierre J. (2000). The role of honeybees (*Apis mellifera*) and other insect pollinators in gene flow between oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). Proc. of the 8th International Pollination Symposium, 4-7 July 2000, Mosonmagyaróvár, Hungary. *Acta Hort.*
- Pierre J., Marsault D., Genecque E., Renard M., Champolivier J., Pham-Delegue M.H. (2003). Effects of herbicide-tolerant transgenic oilseed rape genotypes on honey bees and other pollinating insects under field conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 108(3): 159-168.
- Pierre J., Pham-Delegue M.H. (2000). How to study the impact of genetically modified rape on bees? OCL - Oleagineux, Corps Gras, Lipides 7(4): 341-344.
- Pilling E.D., Bromleychallenor K.A.C., Walker C.H., Jepson P.C. (1995). Mechanism of synergism between the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and the imidazole fungicide prochloraz, in the honeybee (*Apis-mellifera* L). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 51(1): 1-11.
- Pimentel D., Acquay H., Biltonen M., Rice P., Silva M., Nelson J., Lipner V., Giordano S., Horowitz A., D'Amore M. (1992). Assessment of environmental and economic impacts of pesticide use, The pesticide question: environment, economics and ethics., (Pimentel D., Lehman H., eds.), Chapman & Hall, New York, 47-84.
- Puricelli E., Tuesca D. (2005). Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences. *Crop Protection* 24(6): 533-542.
- Ramos J.L., Duque E., Ramos-Gonzalez M. (1991). Survival in soils of an herbicide-resistant *Pseudomonas putida* strain bearing a recombinant TOL plasmid. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 260-266.
- Reddy K.N., Zablotowicz R.M. (2003) Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. *Weed Sci.* 51: 496-502.
- Relyea R.A. (2009). A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia*(159): 363-376.
- Rendina A.R., Felts J.M. (1988) Cyclohexanedione herbicides are selective and potent Inhibitors of acetyl-CoA carboxylase from grasses. *Plant Physiol.* 86:983-986.
- Robinson W.S., Nowogrodzki R., Morse R.A. (1989). The value of honey bees as pollinators of united-states crops. 2. *American Bee Journal* 129(7): 477-487.
- Roslycky E.B. (1986). Microbial response to sethoxydim and its degradation in soil. *Canadian Journal of Soil Science* 66(3): 411-419.
- Roy D.B., Bohan D.A., Haughton A.J., Hill M.O., Osborne J.L., Clark S.J., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Brooks D.R., Champion G.T., Hawes C., Heard M.S., Firbank L.G. (2003). Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subject to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 358(1439): 1879-1898.
- Schier A. (2006). Field study on the occurrence of ground beetles and spiders in genetically modified, herbicide tolerant corn in conventional and conservation tillage systems. *Journal of Plant Diseases and Protection*: 101-113.

- Schmalenberger A., Tebbe C.C. (2002). Bacterial community composition in the rhizosphere of a transgenic, herbicide-resistant maize (*Zea mays*) and comparison to its non-transgenic cultivar Bosphore. *FEMS Microbiol. Ecol.* 40:29-37.
- Schulz A., Otten C., Koeniger N. (1999). Testing the influence of glufosinate-tolerant rape on the development of honeybee brood, 46. Seminar of the Association of Institutes for Bee research, Marburg, Germany, 23-25 march 1998, 1998/03/23-25(30), *Apidologie*: 420-421.
- Schutte G. (2003). Herbicide resistance: promises and prospects of biodiversity for European agriculture. *Agriculture and Human Values* 20(3): 217-230.
- Seffernick J.L., Wackett L.P. (2001) Rapid evolution of bacterial catabolic enzymes: a case study with atrazine chlorohydrolase. *Biochemistry* 40:12747-12753.
- Seghers D., Verthé K., Reheul D., Bulcke R., Siciliano S.D., Verstraete W., Top E.M. (2003) Effect of long-term herbicide applications on the bacterial community structure and function in an agricultural soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 46:139-146.
- Shaffer M.L. (1981). Minimum population size for species conservation. *Bioscience* 31: 131-134.
- Siriwardena G.M., Baillie S.R., Buckland S.T., Fewster R.M., Marchant J.H., Wilson J.D. (1998). Trends in the abundance of farmland birds: a quantitative comparison of smoothed Common Birds Census indices. *Journal of Applied Ecology* 35: 24-43.
- Smiley R.W., Ogg Jr. A.G., Cook R.J. (1992) Influence of glyphosate on *Rhizoctonia* root rot, growth, and yield of barley, *Plant Dis.* 76:937-942
- Smiley R.W., Wilkins D.E. (1992) Impact of sulfonylurea herbicides on *Rhizoctonia* root rot, growth and yield of winter wheat. *Plant Disease* 76:399-404.
- Solomon K.R., Baker D.B., Richards R.P., Dixon K.R., Klaine S.J., La Point T.W., Kendall R.J., Weisskoff C.P., Giddings J.M., Giesy J.P., Hall L.W., Williams W.M. (1996) Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:31-76.
- Sørensen J, Nicolaisen MH, Ron E., Simonet P. (2010) Molecular tools in rhizosphere microbiology – from single-cell to whole-community analysis, pp. 483-512 In: *Rhizosphere: achievements and challenges* (Dessaux Y, Hinsinger P., Lemanceau P., eds.), Springer, Dordrecht (NL).
- Springett J.A., Gray R.A.J. (1992). Effect of repeated low doses of biocides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* in laboratory culture. *Soil Biology and Biochemistry* 24(12): 1739-1744.
- Squire G.R., Brooks D.R., Bohan D.A., Champion G.T., Daniels R.E., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., Hill M.O., May M.J., Osborne J.L., Perry J.N., Roy D.B., Woiwod I.P., Firbank L.G. (2003). On the rationale and interpretation of the farm scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Serie B* 358:1779-1799.
- Stachowski-Haberkorn S., Becker B., Marie D., Haberkorn H., Coroller L., de la Broise D. (2008) Impact of Roundup on the marine microbial community, as shown by an in situ microcosm experiment. *Aquat. Toxicol.* 89:232-241.
- Stoate C., Baldi A., Beja P., Boatman N.D., Herzon I., van Doorn A., de Snoo G.R., Rakosy L., Ramwell C. (2009). Ecological impacts of early 21st century agricultural change in Europe - A review. *Journal of Environmental Management* 91(1): 22-46.
- Stuart S.N., Chanson J.S., Cox N.A., Young B.E., Rodrigues A.S.L., Fischman D.L., Waller R.W. (2004). Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science* 306(5702): 1783-1786.
- Stuart R.M., Romão A.S., Pizzirani-Kleiner A.A., Azevedo J.L., Araújo W.L. (2010) Culturable endophytic filamentous fungi from leaves of transgenic imidazolinone-tolerant sugarcane and its non-transgenic isolines. *Arch. Microbiol.* 192:307-313.
- Tew T.E., Macdonald D.W., Rands M.R.W. (1992). Herbicide applications affects microhabitat use by arable wood mice. *Journal of Applied Ecology* 29: 532-539.
- Tubajika K.M., Damann Jr K.E (2002) Glufosinate-ammonium reduces growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. *J Food Protect.* 65:1483-1487.
- Vandame R., Belzunces L.P. (1998). Joint actions of deltamethrin and azole fungicides on honey bee thermoregulation. *Neuroscience Letters* 251(1): 57-60.
- Veselá A.B., Franc M., Pelantová H., Kubác D., Vejvoda V., Sulc M., Bhalla T.C., Macková M., Lovecká P., Janů P., Demnerová K., Martinková L. (2010) Hydrolysis of benzonitrile herbicides by soil actinobacteria and metabolite toxicity. *Biodegradation* 21:761-770.
- Volkmar C., Lübke-Al Hussein M., Jany D., Hunold I., Richter L., Kreuter T., Wetzel T. (2003). Ecological studies on epigeous arthropod populations of transgenic sugar beet at Friemar (Thuringia, Germany). *Agriculture, Ecosystems & Environment* 95(1): 37-47.

- Wang X., Liu X., Wang H., Dong Q. (2007) Utilization and degradation of imazaquin by a naturally occurring isolate of *Arthrobacter crystallopoietes*. *Chemosphere* 67:2156-2162.
- Watkinson A.R., Freckleton R.P., Robinson R.A., Sutherland W.J. (2000). Predictions of Biodiversity Response to Genetically Modified Herbicide-Tolerant Crops. *Science* 289(5484): 1554-1557.
- Whittingham M.J. (2009). Potential wider impact: farmland birds, Environmental impact of genetically modified crops, (Ferry N., Gatehouse A.M.R., eds.), Cabi, Wallingford UK, 265-277.
- Williams I.H. (1994). The dependence of crop production within the European Union on pollination by honey bees. *Agricultural Zoology Reviews* No.6: 229-257.
- Winfree R., Williams N.M., Dushoff J., Kremen C. (2007). Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. *Ecology Letters* 10(11): 1105-1113.
- Winfree R., Williams N.M., Gaines H., Ascher J.S., Kremen C. (2008). Wild bee pollinators provide the majority of crop visitation across land-use gradients in New Jersey and Pennsylvania, USA. *Journal of Applied Ecology* 45(3): 793-802.
- Zabaloy M.C., Gómez M.A. (2005) Diversity of rhizobia isolated from an agricultural soil in Argentina based on carbon utilization and effects of herbicides on growth *Biol. Fertil Soils* 42: 83–88.
- Zablotowicz R.M., Reddy K.N. (2007) Nitrogen activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean, *Crop Protect.* 26:370–376.
- Zobiole L.H., Kremer R.J., Oliveira R.S. Jr., Constantin J. (2011) Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. *J. Appl. Microbiol.* 110:118-127.

**Sites internet cités :**

<http://www.epp.eurostat.ec.europa.eu>

**Brevets cités :**

Brevet US 5 539 092

**Section 3.3.2. Perturbation physique du milieu et impact sur bioagresseurs et composantes biotiques non nuisibles**

- Andersen A. (1999). Plant protection in spring cereal production with reduced tillage. II. Pests and beneficial insects. *Crop Protection* 18: 651–657.
- Andersen A. (2003). Long-term experiments with reduced tillage in spring cereals. II. Effects on pests and beneficial insects. *Crop Protection* 22: 147–152.
- Baguette M., Hance T. (1997). Carabid beetles and agricultural practices: influence of soil ploughing. *Biological Agriculture & Horticulture* 15: 185–190.
- Baraibar B., Westerman P.R., Recasens J. (2009). Effects of tillage and irrigation in cereal fields on weed seed removal by seed predators. *Journal of Applied Ecology* 46(2): 380-387.
- Barnes B.T., Ellis F.B. (1979). The effects of different methods of cultivation and direct drilling and of contrasting methods of straw dispersal on populations of earthworms. *Journal of Soil Science* 30: 669–679.
- Bigler F., Waldburger M., Frei G. (1995a). Insekten und Spinnen als Nützlinge. *Agrarforschung* 2: 383-386.
- Bigler F., Waldburger M., Frei G. (1995b). Vier Maisanbauverfahren: Krankheiten und Schädlinge. *Agrarforschung* 2: 380-382.
- Brust G.E., House G.J. (1988). Weed seed destruction by arthropods and rodents in low-input soybean agroecosystems. *American Journal of Alternative Agriculture* 3(1): 19-25.
- Brust G.E., House G.J. (1990). EFFECTS OF SOIL-MOISTURE, NO-TILLAGE AND PREDATORS ON SOUTHERN CORN-ROOTWORM (*DIABROTICA-UNDECIMPUNCTATA-HOWARDI*) SURVIVAL IN CORN AGROECOSYSTEMS. *Agriculture Ecosystems & Environment* 31(3): 199-216.
- Capowiez Y., Cadoux S., Bouchand P., Roger-Estrade J., Richard G., Boizard H. (2009). Experimental evidence for the role of earthworms in compacted soil regeneration based on field observations and results from a semi-field experiment. *Soil Biology & Biochemistry* 41(4): 711-717.

- Chan K.Y. (2001). An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil & Tillage Research* 57: 179-191.
- Clark M.S., Luna J.M., Stone N.D., Youngman R.R. (1993). HABITAT PREFERENCES OF GENERALIST PREDATORS IN REDUCED-TILLAGE CORN. *Journal of Entomological Science* 28(4): 404-416.
- Colbach N. (1994). Influence of crop succession and soil tillage on wheat take-all (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*), 3rd ESA Congress, Abano-Padova, 18-22 September 1994: 672-673.
- Colbach N., Duby C., Cavelier A., Meynard J.M. (1997a). Influence of cropping systems on foot and root diseases of winter wheat: fitting of a statistical model. *European Journal of Agronomy* 6: 61-77.
- Colbach N., Lucas P., Cavelier N. (1994). Influence des successions culturales sur les maladies du pied et des racines du blé d'hiver. *Agronomie* 14: 525-540.
- Colbach N., Lucas P., Meynard J.M. (1997b). Influence of wheat crop management on take-all development and infection cycles. *Phytopathology* 87: 26-32.
- Colbach N., Meynard J.M. (1995). Soil tillage and eyespot: influence of crop residue distribution on disease development and infection cycles. *European Journal of Plant Pathology* 101: 601-611.
- Colbach N., Saur L. (1998). Influence of crop management on eyespot development and infection cycles of winter wheat. *European Journal of Plant Pathology* 104: 37-48.
- Cook R.J. (2006). Toward cropping systems that enhance productivity and sustainability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(49): 18389-18394.
- Crous P.W., Groenewald J.Z., Gams W. (2003). Eyespot of cereals revisited: ITS phylogeny reveals new species relationships. *European Journal of Plant Pathology* 109: 841-850.
- Cunningham H.M., Chaney K., Bradbury R.B., Wilcox A. (2004). Non-inversion tillage and farmland birds: a review with special reference to the UK and Europe. *Ibis* 146: 192-202.
- Dulout A., Lucas P., Sarniguet A., Doré T. (1997). Effects of wheat volunteers and blackgrass in set-aside following a winter wheat crop on soil infectivity and soil conduciveness to take-all. *Plant and Soil* 197: 149-155.
- Edwards C.A. (1977). Investigations into the influence of agricultural practice on soil invertebrates. *Annals of Applied Biology* 87: 515-520.
- Edwards C.A., Loftly J.R. (1982). The effect of direct drilling and minimal cultivation on earthworm populations. *Journal of Applied Ecology* 19: 723-734.
- Eken C., Pažoutová S., Honzátko A., Yildiz S. (2006). First report of *Alopecurus arundinaceus*, *A myosuroides*, *Hordeum violaceum*, and *Phleum pratense* as hosts of *Claviceps purpurea* population G2 in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 88: 121-121.
- El Titi A., Ipach U. (1989). SOIL FAUNA IN SUSTAINABLE AGRICULTURE - RESULTS OF AN INTEGRATED FARMING SYSTEM AT LAUTENBACH, FRG. *Agriculture Ecosystems & Environment* 27(1-4): 561-572.
- Emmerling C. (2001). Response of earthworm communities to different types of soil tillage. *Applied Soil Ecology* 17: 91-96.
- Fitt B.D.L., Bainbridge A. (1983). Recovery of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores from rain splash samples. *Phytopathol. Z.* 106: 177-182.
- Gerrard B.M., Hay R.K.M. (1979). The effect on earthworms of ploughing, tined cultivation, direct drilling and nitrogen in a barley monoculture system. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 93: 147-155.
- Giere J. P., Johnson K. M. & Perkins J. H. (1980) A closer look at no-till farming. *Environment* 22:15-41
- Gutteridge R.J., Jenkyn J.F., Bateman G.L. (2006). Effects of different cultivated or weed grasses, grown as pure stands or in combination with wheat, on take-all and its suppression in subsequent wheat crops. *Plant Pathology* 55: 696-704.
- Hartwig N.L., Ammon H.U. (2002). Cover crops and living mulches. *Weed Science* 50(6): 688-699.
- Holland J.M. (2004). The environmental consequences of adopting conservation tillage in Europe: reviewing the evidence. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 103: 1-25.
- Holland J.M., Reynolds C.J.M. (2003). The impact of soil cultivation on arthropod (Coleoptera and Araneae) emergence on arable land. *Pedobiologia* 47: 181-191.
- Honek A., Martinkova Z., Jarosik V. (2003). Ground beetles (Carabidae) as seed predators. *European Journal of Entomology* 100(4): 531-544.
- Hornby D., Bateman G.L., Gutteridge R.J., Lucas P., Montfort F., Cavelier A. (1990). Experiments in England and France on fertilisers, fungicides and agronomic practices to decrease take-all, Brighton Crop Protection Conference, Brighton, UK: 771-776.

- House G.J., Parmelee R.W. (1985). COMPARISON OF SOIL ARTHROPODS AND EARTHWORMS FROM CONVENTIONAL AND NO-TILLAGE AGROECOSYSTEMS. *Soil & Tillage Research* 5(4): 351-360.
- Hutcheon J.A., Iles D.R., Kendall D.A. (2001). Earthworm populations in conventional and integrated farming systems in the LIFE Project (SW England) in 1990–2000. *Annals of Applied Biology* 139: 361–372.
- Jenkyn J.F., Gutteridge R.J., Bateman G.L., Jalaluddin M. (2010). Effects of crop debris and cultivations on the development of eyespot of wheat caused by *Oculimacula* spp. *Annals of Applied Biology* 156: 387–399.
- Jenkyn J.F., Gutteridge R.J., Todd A.D. (1992). Effects of sowing winter barley on different dates in autumn on the severity of take-all (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) in those and the subsequent crops. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 199: 19-25.
- Kendall D.A., Chinn N.E., Glen D.M., Wiltshire C.W., Winstone L., Tidboald C. (1995). Effects of soil management on cereal pests and their natural enemies. In *Ecology and Integrated Farming Systems*, (Glen D.M. et al., eds.), John Wiley, Chichester: 85–102.
- Kladivko E.J. (2001). Tillage systems and soil ecology. *Soil & Tillage Research* 61(1-2): 61-76.
- Krogh P.H., Griffiths B., Demsar D., Bohanec M., Debeljak M., Andersen M.N., Sausse C., Birch A.N.E., Caul S., Holmstrup M., Heckmann L.H., Cortet J. (2007). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. *Pedobiologia* 51(3): 219-227.
- Kromp B. (1999). Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. *Agriculture Ecosystems & Environment* 74(1-3): 187–228.
- Lang A. (2003). Intraguild interference and biocontrol effects of generalist predators in a winter wheat field. *Oecologia* 134(1): 144-153.
- Liphadzi K.B., Al-Khatib K., Bensch C.N., Stahlman P.W., Dille J.A., Todd T., Rice C.W., Horak M.J., Head G. (2005). Soil microbial and nematode communities as affected by glyphosate and tillage practices in a glyphosate-resistant cropping system. *Weed Science* 53(4): 536-545.
- Lô-Pelzer E., Bousset L., Jeuffroy M.H., Salam M.U., Aubertot J.N. (2010). SIPPOM-WOSR: a Simulator for Integrated Pathogen POulation Management of phoma stem canker on Winter OilSeed Rape. I. Description of the Model. *Field Crops Research* 118: 73-81.
- Lucas J.A., Dyer P.S., Murray T.D. (2000). Pathogenicity, host-specificity, and population biology of *Tapesia* spp., causal agents of eyespot disease of cereals. *Advances in Botanical Research*, Vol 21 33: 225-258.
- Macer R.C.F. (1961a). Saprophytic colonization of wheat straw by *Cercospora herpotrichoides* (Fron) and other fungi. *Annals of Applied Biology* 49: 152-164.
- Macer R.C.F. (1961b). Survival of *Cercospora herpotrichoides* (Fron) in wheat straw. *Annals of Applied Biology* 49: 165-172.
- Maenhout C.A.A.A. (1975). Eyespot in winter wheat: effects of crop rotation and tillage, and the prediction of incidence. *Bulletin OEPP* 5: 407-413.
- Mantle P.G., Shaw S., Doling D.A. (1977). ROLE OF WEED GRASSES IN ETIOLOGY OF ERGOT DISEASE IN WHEAT. *Annals of Applied Biology* 86(3): 339-&.
- Nuutinen V. (1992). Earthworm community response to tillage and residue management on different soil types in southern Finland. *Soil & Tillage Research* 23: 221–239.
- O'Rourke M.E., Heggenstaller A.H., Liebman M., Rice M.E. (2006). Post-dispersal weed seed predation by invertebrates in conventional and low-external-input crop rotation systems. *Agriculture Ecosystems & Environment* 116(3-4): 280-288.
- Pelosi C., Bertrand M., Roger-Estrade J. (2009). Earthworm community in conventional, organic and direct seeding with living mulch cropping systems. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 287-295.
- Phillips R. E., Blevins R. L., Thomas G. W., Frye W. W. & Phillips S. H. (1980) No-tillage agriculture. *Science* 208:1108-1113.
- Polley R.W., Thomas M.R. (1991). Surveys of diseases of winter wheat in England and Wales (1976-1988). *Annals of Applied Biology* 119: 1-20.
- Prew R.D. (1980). Studies on the spread of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. I. Autonomous spread. *Annals of Applied Biology* 94: 391-396.
- Prew R.D., Beane J., Carter N., Church B.M., Dewar A.M., Lacey J., Penny A., Plumb R.T., Thorne G.N., Todd A.D. (1986). Some factors affecting the growth and yield of winter wheat grown as a third cereal with much or negligible take-all. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 107: 639-671.

- Regnier E., Harrison S.K., Liu J., Schmoll J.T., Edwards C.A., Arancon N., Holloman C. (2008). Impact of an exotic earthworm on seed dispersal of an indigenous US weed. *Journal of Applied Ecology* 45(6): 1621-1629.
- Rodriguez E., Fernandez-Anero F.J., Ruiz P., Campos M. (2006). Soil arthropod abundance under conventional and no tillage in a Mediterranean climate. *Soil & Tillage Research* 85(1/2): 229-233.
- Ruiz P., Novillo C., Fernandez-Anero J., Campos M. (2001). Soil arthropods in glyphosate tolerant and isogenic maize lines under different soil/weed management practices, Conservation agriculture, a worldwide challenge. First World Congress on conservation agriculture, Madrid, Spain, 1-5 October, 2001. Volume 2: offered contributions., Xul: 1-7.
- Schier A. (2006). Field study on the occurrence of ground beetles and spiders in genetically modified, herbicide tolerant corn in conventional and conservation tillage systems. *Journal of Plant Diseases and Protection*: 101-113.
- Schmidt O., Curry J.P., Hackett R.A., Purvis G., Clements R.O. (2001). Earthworm communities in conventional wheat monocropping and low-input wheat-clover intercropping systems. *Annals of Applied Biology* 138: 377-388.
- Schneider O., Roger-Estrade J., Aubertot J.N., Doré T. (2006). Effect of seeders and tillage equipment on vertical distribution of oilseed rape stubble. *Soil & Tillage Research* 85: 115-122.
- Schutte B.J., Liu J.Y., Davis A.S., Harrison S.K., Regnier E.E. (2010). Environmental factors that influence the association of an earthworm (*Lumbricus terrestris* L.) and an annual weed (*Ambrosia trifida* L.) in no-till agricultural fields across the eastern US Corn Belt. *Agriculture Ecosystems & Environment* 138(3-4): 197-205.
- Scott P.R., Hollins T.W., Muir P. (1975). Pathogenicity of *Cercospora herpotrichoides* to wheat, barley, oats and rye. *Transactions of the British Mycological Society* 65: 529-538.
- Thomas C.F.G., Jepson P.C. (1997). Field-scale effects of farming practices on linyphiid spider populations in grass and cereals. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 84: 59-69.
- Triplett G. B. & Van Doren D. M. (1977) Agriculture without tillage. *Scientific American* 236:28-33.
- Walker A.G. (1967). Intensive cereal growing and disease control. *Agriculture* 74: 171-175.
- West J.S., Kharbanda P.D., Barbetti M.J., Fitt B.D.L. (2001). Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe. *Plant Pathology* 50: 10-27.
- Wyss E., Glasstetter M. (1992). Tillage treatments and earthworm distribution in a swiss experimental corn field. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 1635-1639.



# Annexe. Les évolutions passées et présentes de l'agriculture française et européenne

*Christian Huyghe*

L'analyse des évolutions passées et présentes des pratiques agricoles en France et en Europe s'est essentiellement focalisée dans le cadre de cette ESCo sur les espèces de grande culture ou entrant dans les rotations dominées par ces espèces. C'est en effet dans ces rotations que l'on rencontre les VTH, objet de cette ESCo.

Pour appréhender correctement ces évolutions, il est d'abord nécessaire d'analyser leurs déterminants. Ceux-ci sont liés aux motivations des acteurs et donc essentiellement les agriculteurs et les acteurs de l'amont et l'aval des exploitations où d'une part se situe le conseil et qui d'autre part assurent la fourniture des intrants des exploitations et la collecte et parfois la transformation des produits de récolte.

Dans une seconde partie, nous analyserons les évolutions effectives passées et présentes des pratiques agricoles. La littérature du WoS ne permet pas de décrire les évolutions en cours des pratiques agricoles en France, dont les tendances peuvent être, dans certains cas, mises en évidence par les données statistiques principalement issues des enquêtes "Pratiques culturales" réalisées par le service statistique du ministère en charge de l'Agriculture.

## 1. Les motivations des acteurs et le contexte des évolutions

Les évolutions des pratiques agricoles sont conditionnées par un petit nombre de motivations, qui agissent comme des moteurs majeurs de ces évolutions (Doré et al, 2008). On peut les structurer en 3 ensembles : la recherche de performance économique des exploitations et des structures d'aval et la réduction du risque ; l'accroissement de la productivité du travail ; la spécialisation des régions agricoles et des exploitations.

Dans le domaine des grandes cultures, ces motivations ont structuré les évolutions des pratiques agricoles selon deux orientations majeures, celle de la simplification des rotations et celle d'un renforcement du rôle des phytosanitaires peu onéreux et ayant une action certaine, avérée et attestée par les démarches d'homologation.

### 1.1. La recherche de performance économique des exploitations et des structures d'aval

La recherche de performance économique tant pour les agriculteurs que pour les structures d'aval (collecte et première transformation) est un élément clé de l'évolution des productions et des pratiques agricoles. Cette nécessité de performance d'un secteur économique est également au cœur des politiques publiques nationales et européennes concernant l'agriculture.

Pour les exploitations agricoles, la performance économique repose sur les marges brutes que peut dégager l'activité de production (augmentation des volumes produits, augmentation du prix de vente par adéquation aux attentes des marchés, réduction des coûts de production), sur la productivité du travail permettant une augmentation de la taille des exploitations et enfin sur les aides directes, aujourd'hui inscrites dans les DPU (droit au paiement unique).

### 1.2. L'aversion au risque

L'adoption d'une production nouvelle ou d'une technique nouvelle suppose que les risques pris par l'agriculteur soient limités ou maîtrisés. En effet, l'aversion au risque est forte en agriculture comme dans les autres activités économiques.

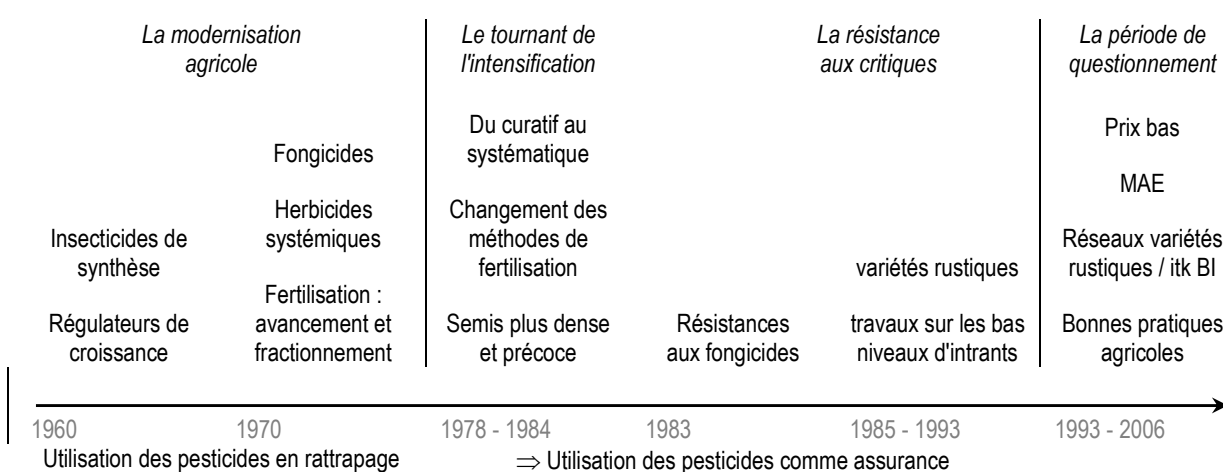
L'aversion au risque est un comportement économique. Les investisseurs et les parieurs ont habituellement une certaine aversion au risque. Ils préfèrent un gain relativement sûr à un gain bien plus important mais aléatoire. L'aversion au risque est l'un des premiers principes en économie, formalisé par Daniel Bernoulli, il y a 300 ans.

Elle a conduit au concept économique d'utilité et à la notion boursière de prime de risque, qui ont permis de mieux comprendre les équilibres de prix et de rendements, et d'aborder leur modélisation mathématique.

L'aversion au risque a été modélisée en agriculture et elle doit être prise en compte dans les démarches d'adaptation à court et long terme des productions agricoles face à un risque ou un aléa (Reynaud, 2009).

Au regard de l'aversion au risque, les produits phytosanitaires et notamment les herbicides ont constitué et constituent une ressource permettant de limiter les dommages aux cultures avec un faible nombre d'interventions. La transition d'interventions essentiellement curatives à des interventions surtout préventives traduit également ce souci de réduction du risque. L'analyse des pratiques agricoles en grandes cultures illustre cette transition (Figure 1) (Lamine et al, 2008 ; Meynard et Girardin, 1991). M.H. Jeuffroy qualifie cette évolution de verrouillage socio-technique, reprenant ainsi le concept de *lock-in* (Cowan and Gunby, 1996). L'aversion au risque conduit ainsi à une augmentation des interventions phytosanitaires et donc de l'IFT. C'est sans doute aussi une situation de normalisation qui conduit à cet équilibre constituant le meilleur compromis économique et sociologique (gestion du risque) pour les différents acteurs impliqués.

**Figure 1.** Les étapes du progrès techniques en grandes cultures : le cas du blé



Source : Jeuffroy & Messean, 2009

### 1.3. L'accroissement de la productivité du travail

Sans pouvoir chiffrer cette évolution, la productivité du travail<sup>15</sup> a fortement augmenté en agriculture, en particulier dans les secteurs de production végétale (grandes cultures surtout) et en production animale de ruminants ou de monogastriques. Cet accroissement de la productivité du travail est à la fois recherché en permanence mais aussi permis par les évolutions de pratiques, de technologie, d'équipements et de machines agricoles.

### 1.4. La spécialisation des régions agricoles et des exploitations, l'agrandissement des exploitations et des parcelles

Ces trois premières motivations et évolutions se traduisent dans un changement profond du paysage agricole au cours des dernières décennies, changements qui sont largement irréversibles et constituent le cadre géographique actuel des productions et pratiques agricoles.

La première composante de ces changements est la spécialisation des régions agricoles, avec au niveau national, une concentration des productions animales (monogastriques et ruminants) dans l'Ouest français et une

<sup>15</sup> La productivité est un rapport entre une production réalisée, et les quantités de facteurs de production utilisées pour l'obtenir. La productivité est une grandeur qui permet de mesurer l'efficacité d'un processus de production. Un processus est une combinaison de moyens de production (terre, capital) auxquels on applique une certaine quantité de travail, pour créer une nouvelle richesse.

spécialisation des grands bassins sédimentaires dans les grandes cultures. Cette séparation physique des productions a mis progressivement fin au système de polyculture-élevage qui a constitué la base du développement agricole des derniers siècles et qui favorisait les transferts d'aliments et les flux de fertilité.

La seconde composante est la spécialisation des exploitations. Même dans les régions où productions animales et végétales sont encore présentes et coexistent, les exploitations elles-mêmes tendent à se spécialiser soit en production végétale, soit en production animale. Ceci répond à un souci de performance économique et aux aspirations des agriculteurs.

Simultanément, la taille moyenne des exploitations (en ha) et des ateliers animaux (en effectifs) a considérablement progressé, en même temps que diminuait le nombre d'exploitations agricoles. L'augmentation de la taille des exploitations et des ateliers se traduit ensuite dans une augmentation de la taille des équipements. Compte tenu des investissements en jeu, l'aversion au risque ne fait que croître, donnant plus de poids aux choix stratégiques à faible réversibilité (par opposition aux choix stratégiques intermédiaires et aux choix tactiques récurrents).

Les deux composantes précédentes, mais aussi la taille des engins agricoles, conduisent à une augmentation de la taille moyenne des parcelles agricoles. Ceci engendre une spécialisation des paysages avec la diminution des mosaïques paysagères, mais aussi la réduction des éléments fixes du paysage et des linéaires boisés. Un exemple illustrant cette évolution des paysages agricoles est fourni par la zone atelier de la plaine de Niort (Chizé) suivie par le CNRS et l'INRA. Sur cette zone de 45 000 ha, la taille moyenne des parcelles agricoles a été multipliée par 10 en 30 ans (Figure 2).

**Figure 2.** Comparaison, sur un secteur céréalier des Deux-Sèvres de deux photographies aériennes de l'IGN datant de 1958 et 1990.



Le secteur représenté est strictement identique entre les deux photos. Noter la simplification extrême du parcellaire agricole (le nombre de parcelles est divisé par 10).

Source : V. Bretagnolle et S. Houte

## 2. Les évolutions actuelles de l'agriculture française et européenne

En restant focalisé sur les grandes cultures, on peut identifier quatre grandes évolutions, toutes en cohérence avec les orientations majeures mentionnées plus haut : les changements de successions culturales et de longueur et complexité des rotations, le travail du sol, les pratiques de désherbage, le choix des espèces et des variétés.

### 2.1. Les changements de successions culturales et de longueur et complexité des rotations

Au cours des dernières décennies, trois grands mouvements ont marqué la structure des rotations, les deux premiers s'étant mis en place de façon très synchronisée.

**Il s'agit d'abord de l'accroissement de la part des cultures d'hiver dans les rotations.** Ce mouvement s'enclenche dans les années 1960. Il est en particulier motivé par le fait que chez les espèces présentant à la fois des variétés de type hiver et de type printemps, les premières ont une productivité plus élevée. Cette productivité

plus forte s'explique 1) par la longueur du cycle biologique permettant une plus forte accumulation de biomasse et 2) par un avancement des stades phénologiques, notamment la floraison et le remplissage des grains, permettant à ces cultures d'échapper aux stress hydriques et thermiques, auxquels les cultures de printemps sont fréquemment confrontées, ou simplement pour assurer que la maturation des cultures se produise en été afin d'obtenir des grains de qualité. Ceci est encore plus prégnant dans les pays du Nord de l'Europe, comme en Scandinavie.

Cette évolution a été rendue possible par l'identification de géniteurs de résistance au froid et ayant une phénologie adaptée (besoins en vernalisation, précocité de floraison) dans la plupart des espèces, que ce soit en céréales (blé, orge et avoine), chez le colza ou les protéagineux (féverole, lupin). Cette tendance se poursuit actuellement. Ainsi, l'extension du colza vers le nord et l'est du continent européen est conditionnée par le développement de cultures d'hiver ayant des résistances très marquées au gel. Pour le colza, ceci passe par la recherche de matériels génétiques nains ou semi-nains qui ne présentent pas d'élongation des entrenœuds au cours de l'automne et donc minimisent les risques de destruction de la plante par le gel (Source Cetiom – [www.cetiom.fr](http://www.cetiom.fr)). De la même façon, chez le pois protéagineux, un travail important a été entrepris pour développer des types Hr (gène de contrôle de la floraison), dont le passage à l'état floral des apex est conditionné non plus par les sommes de températures mais par la longueur du jour. Les plantes dont les méristèmes sont maintenus au stade végétatif présentent une résistance au froid bien plus grande (Alcalde and Larrain, 2006; Lejeune-Henaut et al., 1999), même si à ce jour, et en raison notamment de l'origine des géniteurs utilisés, les rendements en graines des types Hr restent en retrait des types hiver classiques et surtout des types printemps caractérisés par un indice de récolte très élevé obtenu grâce à une réduction du nombre de nœuds reproducteurs.

Cependant, quelques espèces ont échappé à cette orientation. Il s'agit d'abord naturellement de celles dont la biologie n'est pas compatible avec le passage de l'hiver (espèces en C4, tournesol) ou celles dont la qualité du produit de récolte n'est pas compatible, à ce jour, avec un cycle hivernal (cas des fibres de lin textile).

On mentionnera deux cas particuliers. Il s'agit d'abord de l'orge brassicole, dont la qualité particulière recherchée pour la malterie n'est à ce jour rencontrée que dans les variétés de type printemps. Cependant, c'est une espèce où le foisonnement variétal est faible et où le choix variétal est fortement déterminé par l'aval. Il est donc envisageable que la possibilité biologique n'ait pas été complètement exploitée. Le second cas particulier est celui de la betterave. Dans les conditions françaises, la totalité des betteraves produites sont issues de semis de printemps. Toutefois, à l'échelle européenne, et notamment dans le sud de l'Europe, on voit se développer des cultures de betteraves en semis d'automne, un enjeu majeur étant alors de maîtriser le risque de montaison précoce.

**Le second mouvement majeur concerne la simplification des rotations.** Elles se concentrent sur les cultures les plus sûres et les plus rentables. On voit ainsi progressivement reculer les surfaces cultivées d'espèces dites secondaires, comme l'avoine, le sorgho et le sarrasin pour les céréales ou le soja, le lupin et la féverole pour les protéagineux. Les espèces majeures sont également celles pour lesquelles l'offre variétale est importante et le progrès génétique le plus rapide en raison de l'importance de l'effort de sélection, beaucoup d'entreprises concentrant leurs efforts sur ces espèces. Cette configuration très cohérente est une nouvelle illustration de phénomène de *lock-in* ou effet de verrouillage déjà mentionné.

Les rotations en France et en Europe vont donc s'organiser autour des espèces pour lesquelles le progrès génétique est le plus fort. Nous reviendrons sur ce point plus loin dans ce chapitre. Ceci est le cas des rotations basées sur le blé d'hiver et le colza, dans les plaines céréalières du bassin parisien et du Centre. Espèces auxquelles il convient d'ajouter la betterave dans le bassin parisien, le Nord et le Nord-Est, à la condition toutefois de la présence de sucreries, industries d'aval indispensables pour la valorisation sur place de cette matière première pondéreuse. La simplification des rotations est confirmée par une étude récente portant sur l'évolution des cultures, depuis 1970, dans le bassin de la Seine au sens large (23% de la SAU française) (Schott et al., 2010). L'essor progressif du colza, à partir des années 1980, s'y est accompagné d'une simplification des successions, avec notamment l'importance prise par les rotations courtes colza - 2 céréales. Ces évolutions des assolements et rotations sont associées à une utilisation accrue de pesticides : une corrélation a été mise en évidence entre le % de surface en colza et le nombre de traitements herbicides (et insecticides) sur la culture, qui passe de 1,5 traitement herbicide lorsque le colza est peu présent à 2,5 s'il occupe plus de 20% des surfaces.

Dans le Sud-Ouest, les rotations sont à base de maïs, ou de tournesol quand les possibilités d'irrigation sont faibles ou inexistantes. Ces espèces peuvent être en monocultures (cas du maïs) ou dans des rotations simples avec le blé tendre ou le blé dur (cas du tournesol) (Jouffret et al., 2011).

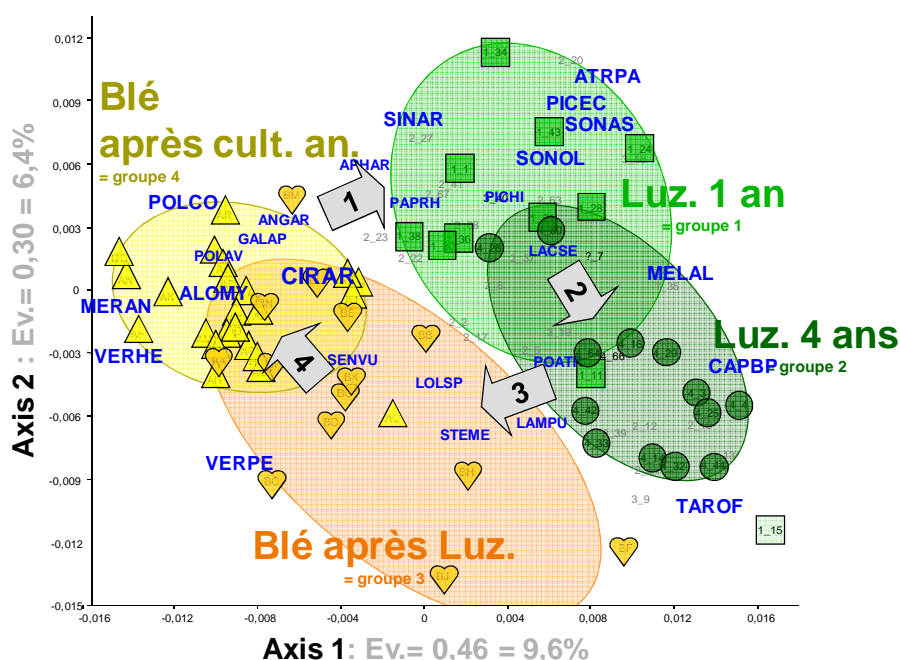
Pour toutes ces espèces majeures, l'industrie phytosanitaire a investi dans la recherche de molécules permettant la protection de ces cultures (désherbage, protection fongicide et insecticide), le coût de l'homologation étant plus amortissable sur des cultures majeures. Dans une même logique, la recherche, le développement agricole ou les entreprises phytosanitaires ont créé des outils d'aide à la décision permettant un pilotage précis de la culture, y compris pour la maîtrise de la flore adventice.

On notera qu'il s'agit également d'espèces dont les fluctuations interannuelles de rendement sont faibles, du fait de la sélection et de la biologie et de l'accompagnement technique. Il s'agit aussi d'espèces dont la conduite est simple ou simplifiée (notamment grâce aux outils d'aide à la décision susmentionnés) et dont la culture est possible sur de très grandes surfaces, répondant ainsi à l'objectif d'accroissement de la productivité du travail.

Aucun élément ne semble devoir remettre en cause aujourd'hui la simplification des rotations dans les systèmes en grande culture. Le processus d'agrandissement des exploitations et des parcelles cultivées devrait se poursuivre, les systèmes français restant assez petits par comparaison aux autres régions du globe ayant des systèmes de production équivalents (Amérique du Nord, Brésil, Australie). La simplification des rotations trouvera sa limite si la performance économique des cultures et des systèmes de culture vient à être affaiblie du fait de cette simplification, la question du travail et de l'organisation étant de toute façon plus facile à gérer dans un système simplifié. Dans la mesure où le progrès génétique est plus lent sur les espèces pouvant contribuer à une diversification, la limite de la performance économique sera notamment atteinte si des difficultés de gestion des maladies, de ravageurs ou d'adventices ne trouvent plus de solutions à un coût économique, ou environnemental satisfaisant. La mise en place de la MAE (mesure agro-environnementale) rotationnelle, visant à rediversifier les successions culturales, n'a pas induit de modification de la tendance générale de cette simplification.

Cette simplification des rotations à la fois sur leur durée mais aussi sur l'homogénéité des cycles culturaux a un effet majeur sur les cortèges d'espèces adventices. Une des illustrations les plus marquantes de cet effet est issue des travaux d'Helmut Meiss (Meiss et al., 2010a; Meiss et al., 2010b) sur les rotations culturales de la zone atelier de la plaine de Niort, et en particulier les conséquences de la présence de luzerne dans ces rotations sur la composition de la flore, limitant les processus de spécialisation. Ainsi que le montre la figure 3 issue de ces travaux, la flore adventice est sensiblement différente selon la culture dans ces rotations combinant des espèces annuelles et des espèces pérennes (luzerne). Ceci permet de visualiser que la simplification et la spécialisation des rotations conduisent inévitablement à une spécialisation des flores d'accompagnement et rendent possible l'émergence de flores résistantes à un herbicide qui est alors utilisé de façon prédominante.

**Figure 3.** Evolution cyclique des communautés adventices au cours d'une succession céréalière interrompue par une prairie temporaire (luzerne) de plusieurs années (blé après cultures annuelles > luzerne d'un an > luzerne plus âgée > blé après luzerne).



Les symboles représentent les relevés floristiques des 4 groupes (blés après cultures annuelles, jeunes luzernes, vieilles luzernes, blés de luzerne). Les espèces adventices sont représentées par leurs codes 'BAYER' : ALOMY (vulpin), CIRAR (chardon des champs) et GALAP (gaillet) sont par exemple trois espèces typiques des blés insérés dans les rotations de cultures annuelles, que l'on ne

retrouve que rarement dans les blés de luzerne.

Analyse canonique discriminante (Meiss et al., 2010a; Meiss et al., 2010b)

La configuration illustrée ici combine des cultures ayant des cycles biologiques totalement différents (une culture annuelle et une pérenne) et des modes de désherbage contrastés, puisque les jeunes luzernes font l'objet d'un désherbage juste après le semis puis parfois d'un traitement herbicide durant le repos hivernal, tandis que les adventices des céréales sont surtout maîtrisées grâce à des sulfonyle-urées. Ce schéma permet d'illustrer les difficultés que l'on peut anticiper des rotations où toutes les cultures seraient désherbées avec les mêmes molécules, et plus encore si les espèces présentent le même cycle biologique. Cette configuration est susceptible d'être rencontrée plus fréquemment dans le cadre de l'introduction de VTH, et notamment de variétés tolérantes aux sulfonyle-urées.

**Le dernier changement majeur est l'apparition des cultures intermédiaires**, rendues obligatoires pour maîtriser les lixiviations d'azote, d'où leur dénomination de cultures intermédiaires pièges à nitrate (CIPAN). Elles sont positionnées dans les rotations de grandes cultures et insérées entre une culture d'hiver et une culture de printemps. Implantées soit en espèces pures soit en mélanges, les espèces à implantation rapide et à faible coût de semences sont privilégiées. Dans un grand nombre de configurations, les espèces gélives sont également retenues car ceci permet leur destruction naturelle sans recours systématique à un désherbant total en sortie d'hiver. Cependant, les CIPAN sont fortement déconseillées comme précédent de certaines cultures de printemps, tel le tournesol, en raison d'un impact négatif systématique sur le rendement par difficulté de préparation d'un bon lit de semences.

La fonction principale des CIPAN est de limiter les lixiviations d'azote. En effet, au cours de leur croissance automnale, ces couverts sont capables de piéger le nitrate encore présent dans l'horizon cultivé, évitant ainsi sa lixiviation au cours de l'automne et de l'hiver. La quantité d'azote piégée est globalement proportionnelle à la biomasse produite. Grâce à la biomasse produite et enfouie, les CIPAN contribuent également à la restitution de matière organique au sol, qui peut conduire, conjuguée à l'action du système racinaire des plantes, à une meilleure structuration des sols et à une modification de la vie microbienne des sols. Certaines espèces dicotylédones à floraison très précoce utilisées comme CIPAN peuvent assurer une fourniture alimentaire aux pollinisateurs.

Les principales espèces utilisées sont connues grâce aux données de vente de semences fournies par le GNIS (Tableau 1). Il s'agit de la moutarde, de l'avoine fourragère (*Avena strigosa*) et de la phacélie.

**Tableau 1.** Vente (exprimée en quintaux) en France des crucifères et couvertures de sols sur les campagnes 2008-09 et 2009-10

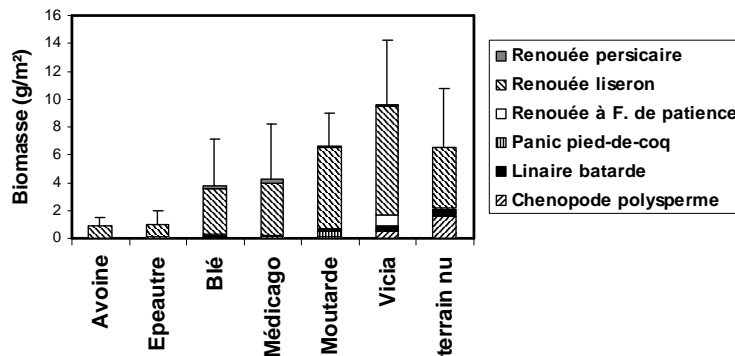
| Espèces                                     | 2008-09 | 2009-10 |
|---|---------|---------|
| Colza fourrager                             | 1 553   | 2 849   |
| Navette fourragère                          | 456     | 1 477   |
| Moutarde blanche                            | 55 201  | 34 473  |
| Radis fourrager                             | 2 232   | 2 272   |
| Phacélie                                    | 7 030   | 3 854   |
| Avoine fourragère ( <i>Avena strigosa</i> ) | 34 497  | 37 000  |

Source : Haquin, 2011

Les CIPAN ont une action directe sur la flore adventice. D'après le cadre proposé par (Hollander et al., 2007), l'effet des CIPAN sur les adventices peut se faire par trois mécanismes différents : la réduction du stock semencier, la prévention de la germination et de la levée des adventices ou le ralentissement de la croissance des adventices.

La compétition entre les CIPAN et les adventices va s'exercer pour l'accès aux ressources trophiques et lumineuses. Les espèces utilisées en CIPAN ont une croissance vigoureuse qui va concurrencer les jeunes adventices et peut générer des phénomènes d'étouffement des adventices levées (Wu et al., 2008). L'activité biologique du sol peut être favorisée par la présence de la CIPAN, qui peut conduire à la dégradation d'une partie du stock semencier par prédation (Wu et al., 2008). (Kruidhof et al., 2009) mentionnent également le rôle possible de l'allélopathie qui pourrait inhiber la germination et la levée des graines d'adventices.

Ceci rejoint certains travaux anciens qui avaient mis en avant la possibilité d'exploiter les effets allélopathiques de certaines espèces. Sa réelle pertinence dans les systèmes agricoles a été un sujet de controverses scientifiques comme l'attestaient déjà (Birkett et al., 2001).



**Figure 4.** Effet de diverses couvertures végétales en interculture sur la biomasse adventice dans le maïs suivant

D'après Delabays & Munier-Jolain, 2004

Les expérimentations au champ à l'Inra Dijon ont démontré des effets précédents inhibiteurs très importants de certains couverts végétaux enfouis (en particulier les résidus d'avoine) sur la biomasse des adventices dans la culture suivante (Figure 4). Malheureusement, cet effet inhibiteur affectait également les espèces cultivées, maïs et tournesol, et dans une bien moindre mesure le soja. Cependant, il ne s'agit pas forcément d'un effet allélopathique ; il est également possible que l'enfouissement d'une biomasse à rapport C/N élevé réduise la disponibilité en azote minéral pour la culture suivante, ce qui est défavorable au développement des adventices mais aussi de la culture de vente.

Ainsi, l'implantation de CIPAN a diverses conséquences sur la maîtrise des adventices et sur l'utilisation d'herbicides, mais elle vient modifier plus largement la maîtrise à l'échelle de la rotation. L'implantation rapidement après la culture d'hiver limite la possibilité de travail répété du sol à la fois avant et après la CIPAN, cette pratique, aussi appelée faux semis, permettant de réduire dans des proportions significatives la banque de graines du sol. La destruction de la CIPAN peut également poser des difficultés dans les régions où le gel hivernal peut ne pas suffire à l'assurer. Dans ce cas, il est nécessaire d'avoir recours à un désherbant total (glyphosate). Cependant, les CIPAN conduisent à insérer dans les rotations alternant semis d'automne et semis de printemps une culture non désherbée et ayant un autre cycle de croissance. Or, la sélection d'une flore prédominante, devenant potentiellement une flore résistante, repose sur la sélection de traits fonctionnels, parmi lesquels figurent le cycle biologique et la phénologie. Aussi, l'introduction d'une CIPAN constitue de ce point de vue un élément très positif en introduisant dans certaines rotations des espèces ayant un cycle différent, sachant que la présence de CIPAN n'existe que dans les rotations où au moins une espèce est une culture de printemps. Ce n'est pas possible toutefois dans toutes les rotations.

La réflexion sur les CIPAN conduit à s'interroger sur le rôle possible des mulchs vivants et leur utilisation en agriculture (voir Strip-till).

Les mulchs vivants maintiennent une compétition pour les ressources lumineuses, hydriques et minérales limitant les adventices. Par exemple, (Hiltbrunner et al., 2007) observent que certaines légumineuses comme le trèfle blanc et le lotier produisant des biomasses importantes ont une capacité de contrôle des adventices, mais ne recommandent pas de couverts vivants de légumineuses pour un blé d'hiver dont le rendement se trouve lui aussi limité du fait de la concurrence au sein du couvert. (de Tourdonnet et al., 2008) notent également cette difficulté liée au manque de sélectivité de ces mulchs vivants et recommandent de chercher à mieux comprendre comment atteindre un équilibre favorable à la production entre les phénomènes de compétition, de facilitation et d'allélopathie.

## 2.2. Le travail du sol

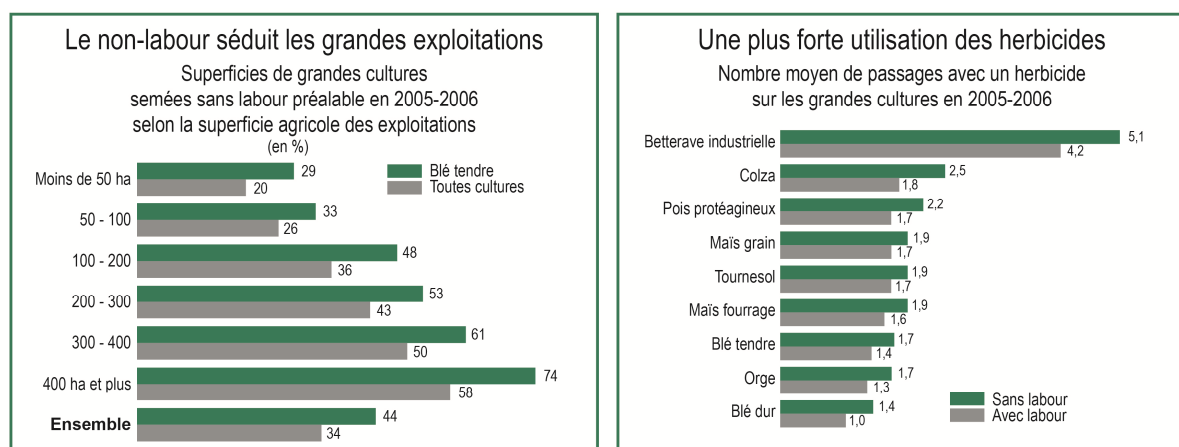
En France, l'enquête "Pratiques culturales" de 2006, portant sur 12 900 parcelles en grandes cultures (9 espèces), a révélé que 34% des parcelles n'avaient pas été labourées pour la campagne 2005-06 ; ce taux n'était

que de 21% en 2001. La pratique du semis direct est, elle, marginale : 0,5% seulement des surfaces. Cet abandon du labour est rarement complet et définitif : sur la plupart des parcelles, un recours périodique au labour est pratiqué pour gérer des situations difficiles de désherbage. Si 34% des parcelles n'ont pas été retournés en 2006, seuls 11% ne l'ont jamais été depuis 2000.

La proportion de parcelles non labourées et son évolution varient fortement selon les cultures : 58% en 2006 comme en 2001 pour le blé dur, 47% en 2006 pour le colza (contre 35% en 2001), 44% en blé tendre (21% en 2001), 28% en tournesol, 20% en maïs... Le non-labour est davantage pratiqué sur cultures d'hiver que de printemps ; une interculture brève incite à ne pas labourer. La simplification du travail du sol peut être limitée par les exigences de la culture : c'est le cas du tournesol, très sensible à l'état du sol lors de l'implantation (contact sol-graine puis développement du pivot).

Le taux de non-labour apparaît fortement corrélé à la taille des exploitations (Figure 5a) : il va de 20% pour les parcelles appartenant à des exploitations de moins de 50 ha à 58% pour celles des exploitations de plus de 400 ha. Le non-labour s'accompagne d'un emploi accru d'herbicides, avec 0,2 à 0,9 passage d'herbicide en plus selon les cultures (Figure 5b). Les rendements apparaissent légèrement inférieurs en cas de non-labour : l'écart entre les parcelles non labourées depuis 2000-01 et les parcelles labourées tous les ans est de 9% pour l'orge, 7% pour le maïs grain, 4% pour le blé tendre et le tournesol, 3% pour le colza.

**Figure 5. Le non-labour en France en 2006**



Source : Agreste - Enquête sur les pratiques culturales 2005

### 2.3. Les pratiques de désherbage

Les pratiques de désherbage ont profondément évolué au cours des dernières décennies. On peut ici évoquer les évolutions selon 4 orientations que sont le désherbage chimique, les techniques de désherbage mécanique, la combinaison du chimique et du mécanique sous une technique dénommée le désherbinage, et enfin l'émergence de méthodes de détection des adventices et d'application localisée d'herbicides.

Le **désherbage chimique** a évolué pour répondre aux objectifs de productivité et de réduction des impacts. On a ainsi observé un accroissement des largeurs des rampes de pulvérisation (jusqu'à 30 m), permettant une réduction du temps de travail. La seconde évolution concerne la réduction des volumes de bouillie appliqués par hectare de culture, contribuant également à une réduction du temps de travail. Enfin, le dernier point concerne la modification des buses, pour d'une part répondre à la réduction des volumes de bouillie tout en garantissant la qualité de l'application et en réduisant les phénomènes de dérive<sup>16</sup>. Les buses à fentes et surtout les buses à injection d'air permettent de réduire les volumes de bouillie à 150 voire 75 l/ha, sans risque de dérive, contre des volumes de 300 l/ha encore fréquemment rencontrés. La réduction des volumes permet également de réduire les

<sup>16</sup> La dérive d'un herbicide est le mouvement de cet herbicide de la zone cible à des zones où l'application d'herbicide n'était pas envisagée. Elle est généralement causée par le mouvement des gouttelettes ou des vapeurs. Même si les surfaces concernées et les dommages économiques sont globalement faibles, les individus qui sont affectés peuvent subir des pertes substantielles.



temps de travail. Les risques de dérive peuvent être réduits en augmentant la taille des gouttelettes, puisque le vent les emmène moins loin (Dexter, 1993).

Le **désherbage mécanique** permet d'éviter l'application de produit chimique mais génère une consommation accrue d'énergie fossile. Il pose la difficulté de devoir détruire les adventices, mais sans porter atteinte à la culture en place. Le désherbage mécanique est plus fréquemment mis en œuvre en agriculture biologique (Fontaine et al., 2010). Deux grands ensembles de désherbage mécanique peuvent être identifiés.

- Il s'agit d'une part du binage, qui consiste à travailler le sol dans l'inter-rang, à l'aide de lames ou de houes rotatives. Il est donc applicable sur les cultures avec des inter-rangs assez larges. Initialement très utilisé sur les espèces qualifiées de sarclées (maïs, tournesol et betterave), le binage se développe aujourd'hui également sur colza à la faveur d'un accroissement de l'inter-rang de cette culture. Différentes machines ont été développées pour améliorer le guidage par caméra ou à palpeurs et ainsi réduire les risques de dommage à la culture en place. Le guidage permet également d'accroître la vitesse de travail, pouvant alors atteindre 12 km/h.

- Une autre modalité consiste en l'utilisation en plein de la herse étrille. C'est un outil polyvalent de désherbage qui travaille toute la surface, y compris les lignes de semis. Les vibrations des dents, longues et souples, déracinent les jeunes plantules. Ce matériel peu onéreux et disponible en grandes largeurs peut être utilisé aussi bien sur des céréales ou du maïs que sur prairie ou sur des cultures de protéagineux. Cependant l'utilisation de la herse étrille nécessite une certaine technicité en terme d'observation et réglages, notamment lors de la préparation du sol, lors du semis et au moment de l'intervention. Dans la pratique, il est fréquent que les agriculteurs combinent une utilisation de la herse étrille au stade jeune des cultures puis le binage pour les cultures sarclées plus développées.

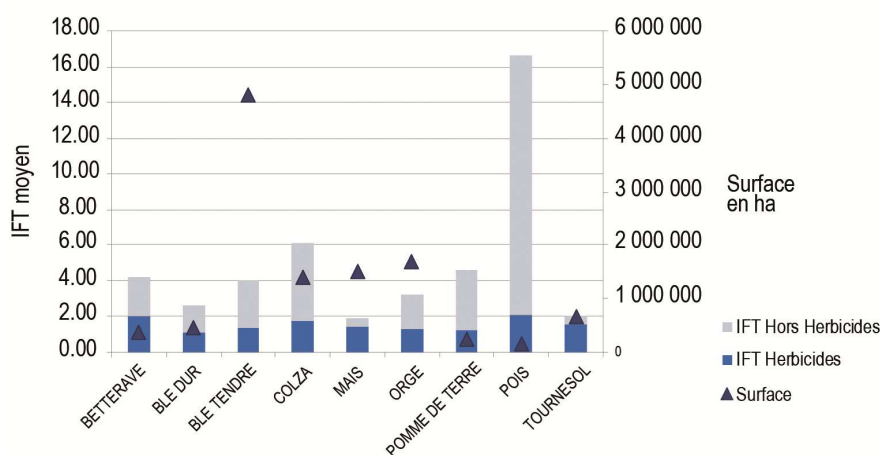
La mise en œuvre du désherbage mécanique nécessite de prendre en compte le nombre de jours disponibles pour son application, en fonction des caractéristiques du sol, des cultures et des équipements (Bonin et al., 2010). Comme le souligne (Ball and Crawford, 2009), l'utilisation fréquente du désherbage mécanique peut conduire à des phénomènes de compaction très forts du sol, limitant la capacité d'enracinement des cultures et qu'il est alors indispensable d'avoir recours de façon régulière à une pratique de labour. Les études de (Ball and Crawford, 2009) étaient conduites notamment sur carotte, espèce évidemment très sensible aux conditions du sol. Mais on retrouve la même sensibilité dans le cas du tournesol.

Le **désherbinage** consiste, avec un seul et même outil, à biner l'inter-rang et à pulvériser de l'herbicide simultanément sur le rang. Les deux techniques se recoupent sur quelques centimètres afin de sécuriser l'opération. Pour cette technique, il est nécessaire de combiner des conditions correctes pour la pulvérisation et des conditions correctes pour le binage : c'est le point le plus délicat, mais les expérimentations donnent des résultats très satisfaisants, du même niveau que le désherbage chimique en plein sur colza et tournesol (Gowacki et al., 2006; Lieven et al., 2010) et sur betterave et céréales (Gowacki et al., 2006; Haberland, 1996). Les meilleurs résultats sont obtenus pour une hygrométrie moyenne, ce qui réduit la flexibilité et le temps d'interventions possible (Lieven et al., 2010). Certaines cultures telles que la betterave offrent des rendements supérieurs avec l'utilisation de cette technique qu'avec du "tout chimique". En effet, les bénéfices du binage (minéralisation, conservation de l'eau...), combinés à la sécurité de la pulvérisation, favorisent le bon développement de la culture. Des essais réalisés par le Cetiom en 2002 démontrent également que sur tournesol les traitements herbicides combinés à un binage offrent de meilleurs résultats qu'un traitement en plein seul. Elle permet en outre de maîtriser des adventices problématiques, telles que l'ambrosie en colza et tournesol (Lieven et al., 2010). Des essais similaires sont actuellement conduits par l'ITB pour la culture de la betterave, mais les résultats expérimentaux ne sont pas encore disponibles. Le désherbinage est donc une technique qui permet d'obtenir des rendements et une efficacité sur mauvaises herbes équivalents au désherbage chimique tout en économisant entre 60 et 70% de produit et en effectuant autant de passages, sur maïs par exemple. Dans le cas des VTH, et en particulier sur le tournesol, espèce cultivée à grands écartements bien adaptée au désherbage mécanique, les recommandations techniques du Cetiom pour le déploiement des VTH sont de rechercher à maximiser l'utilisation du désherbinage afin d'une part de réduire l'utilisation des herbicides et d'autre part de réduire la probabilité de développement des résistances, améliorant ainsi la solidité de cette solution technique de maîtrise de la flore adventice.

Une nouvelle technologie fait aujourd'hui l'objet de travaux de développement par les constructeurs de machines agricoles et par certains organismes de recherche (ART Reckenholz-Tanikon, Suisse). Il s'agit de la

**reconnaissance automatique d'adventices** (Seatovic et al., 2009) qui pourra être couplée à une application localisée d'herbicides. Le schéma développé par (Zhang et al., 2010) permet de combiner la détection à un désherbage mécanique utilisant des houes rotatives.

Réalisé dans l'optique d'évaluer l'évolution du recours aux pesticides en France, le dépouillement des enquêtes "Pratiques culturales" de 1994, 2001 et 2006 avait montré (cf. étude Ecophyto R&D) qu'il n'y avait pas de baisse du recours aux pesticides, les IFT demeurant à des niveaux comparables sur la période - la baisse enregistrée des tonnages de pesticides vendus correspond à l'emploi de substances actives homologuées à des doses plus faibles. L'utilisation d'herbicides diffère peu en fonction des cultures : elle représente entre 1,5 et 2,1 point d'IFT selon les espèces (figure 6).



**Figure 6.** Grandes cultures : les IFT en France en 2006

Sources : IFT (données SCEES 2006), surfaces (données Agreste 2006)

En grande culture, si l'utilisation totale de pesticides, estimée par l'IFT (Indicateur de Fréquence de Traitement), apparaît assez différente selon les cultures (IFT <2 pour le maïs, >6 pour le colza, par exemple), l'utilisation d'herbicides est, elle, peu variable : elle représente entre 1,5 et 2,1 point d'IFT selon les espèces.

L'adoption en 2008, suite au Grenelle de l'environnement, du plan "Ecophyto 2018", a relancé l'intérêt pour les itinéraires techniques économes en pesticides et, concernant plus particulièrement les herbicides, pour les techniques de désherbage combinant contrôle mécanique et chimique des adventices. Si les expérimentations se sont développées dans ce sens, on ignore actuellement si les agriculteurs ont également modifié leurs pratiques. Les données de l'enquête "Pratiques culturales" 2011 montreront ce qu'il en est. Elles permettront également de mettre en évidence d'éventuelles évolutions du désherbage chimique (utilisation de classes d'herbicides différentes, de formulations commerciales ou de programmes de traitements associant plusieurs produits...). A l'échelle de la France, le bilan d'Ecophyto 2018 rendu public en octobre 2011 révèle une augmentation de 2,6% du nombre de doses unités (NODU) de pesticides vendues (hors traitements de semences) pour la période 2008-10, hausse due principalement aux herbicides.

## 2.4. Le choix des espèces et des variétés

La gamme d'espèces et de variétés disponible en grandes cultures a évolué au cours des dernières décennies.

Le nombre d'espèces pour lesquelles il existe un catalogue communautaire de variétés n'a pas beaucoup évolué depuis leur création et notamment les directives européennes 66/401/CE et 66/402/CE. Toutefois, si on analyse le flux variétal et le nombre de variétés inscrites, on constate que le foisonnement variétal est beaucoup plus important sur les espèces majeures en terme économique, qui sont aussi les espèces sur lesquelles on enregistre le progrès génétique le plus important, et notamment le blé (Foulkes et al., 2006; Sadras and Lawson, 2011; Trottet and Doussinault, 2002), le maïs (Carlone and Russell, 1987; Gallais, 2002; Wang et al., 2011), le colza ou encore le tournesol (Vear et al., 2003) et la betterave (Escriou et al., 2010).

La question du type de variétés inscrites est régulièrement posée. Il s'agit notamment de questionner le poids respectif donné aux différents critères de sélection et d'inscription : productivité, résistance aux maladies et aux ravageurs, résistance aux contraintes abiotiques, qualité et valeur technologique. Il s'agit notamment de s'interroger sur la façon dont les méthodes de sélection et les procédures d'inscription permettent de promouvoir des variétés dites rustiques, capables de valoriser des itinéraires techniques à bas niveaux d'intrants (moindre

protection phytosanitaire, faible fertilisation azotée), notamment au travers de réseaux d'évaluation comportant à la fois des pratiques conventionnelles et des pratiques à plus bas niveaux d'intrants. De tels dispositifs existent en céréales (blé tendre) mais ces réseaux n'intègrent pas à ce jour l'aptitude à la compétition avec les adventices. Il existe pourtant une variation pour cette aptitude à la compétition comme l'illustrent les travaux de (Fontaine et al., 2009) sur le blé tendre. Pourtant, on peut même constater que pour certaines espèces, des changements du phénotype sont observés parmi les variétés inscrites récemment qui signifient plutôt une diminution de l'aptitude à la concurrence avec les adventices. C'est le cas du blé tendre et de la betterave, dont les variétés récentes tendent à montrer un port des feuilles plus érigé. Une partie de la raison de ce développement de variétés à port érigé est qu'elles sont plus à même de supporter une augmentation de la densité de semis - qui a certes un coût via l'achat des semences, mais permet une augmentation de la production à l'hectare. Le même constat est fait par (Le Silva et al., 2007) qui montrent que les variétés sélectionnées de maïs répondent efficacement à l'augmentation de la densité tandis que (Carlone and Russell, 1987) soulignent que cette réponse est plus forte chez les hybrides récents. Ainsi la question de l'architecture des plantes traduit une recherche de compromis entre la capacité à augmenter le rendement et l'aptitude à la compétition vis-à-vis des adventices. La question de la tolérance vis-à-vis des adventices n'a été posée à l'amélioration variétale que récemment, soit via la production de variétés transgéniques transformées pour des gènes de résistance aux herbicides soit par l'exploitation de mutations conférant une résistance à des herbicides à spectre large, mutations spontanées ou induites dans l'espèce ou dans des espèces apparentées. De façon générale, la tolérance aux contraintes biotiques et abiotiques et l'adaptation aux milieux et modes de culture sont intégrées dans la VATE (valeur agronomique, technologique et environnementale) aujourd'hui mise en œuvre dans le cadre des procédures d'inscription au catalogue national français.

La VATE fait partie des évolutions proposées par le CTPS<sup>17</sup> au Ministère en charge de l'agriculture dans le cadre du rapport remis au Ministre par Paul Vialle, Président du CTPS, en mai 2011. Ce rapport, intitulé 'Semences et Agriculture Durable', comporte 7 axes ; l'axe 4, 'Orienter le progrès génétique vers des variétés adaptées à des conduites culturales diversifiées et permettant de répondre à la réduction des intrants', recouvre la démarche mise en œuvre sur la VATE. Dans ce contexte, trois mouvements de fond sont engagés.

- 1- prendre davantage en compte la tolérance aux maladies et aux ravageurs, intégrant ainsi le fait que la résistance variétale permet de réduire l'application des produits phytosanitaires et donc constitue un levier majeur pour atteindre l'objectif d'Ecophyto. Il s'agit également de prendre en compte la tolérance aux contraintes abiotiques et notamment la contrainte hydrique et azotée ;
- 2- documenter les caractéristiques biotiques et abiotiques des milieux d'expérimentation, permettant ainsi de disposer de réelles covariables environnementales pour analyser le comportement des variétés dans les différents milieux ;
- 3- promouvoir l'analyse des interactions génotype x environnement x mode de culture et stimuler leur prise en compte dans les décisions d'inscription.

---

<sup>17</sup> CTPS : Comité Technique Permanent de la Sélection

## Références bibliographiques citées dans l'Annexe

- Agreste (2008). Dans le sillon du non-labour, Agreste primeur, numéro 207, 4 p.
- Agreste (2010). Pratiques culturales 2006, Agreste Les Dossiers, 8.
- Alcalde J.A., Larrain M.F. (2006). Timing of photoperiod sensitivity in relation to floral initiation in contrasting genotypes of pea (*Pisum sativum* L.). *Field Crops Research* 96(2/3): 348-354.
- Ball B.C., Crawford C.E. (2009). Mechanical weeding effects on soil structure under field carrots (*Daucus carota* L.) and beans (*Vicia faba* L.). *Soil Use and Management* 25(3): 303-310.
- Birkett M.A., Chamberlain K., Hooper A.M., Pickett J.A. (2001). Does allelopathy offer real promise for practical weed management and for explaining rhizosphere interactions involving higher plants? *Plant and Soil* 232(1/2): 31-39.
- Bonin L., Labreuche J., Coinus L., Lieven J. (2010). Faisabilité du desherbage mécanique en grandes cultures: évaluation du nombre de jours disponibles, 21ème Conférence du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 décembre, 2010, 238-246.
- Butault J.P., Dedryver C.A., Gary C., Guichard L., Jacquet F., Meynard J.M., Nicot P., Pitrat M., Reau R., Sauphanor B., Savini I., Volay T. (2010). Ecophyto R&D. Quelles voies pour réduire l'usage des pesticides ? Synthèse du rapport d'étude, INRA Editeur, Paris, France, 90 p.
- Carlone M.R., Russell W.A. (1987). Response to plant densities and nitrogen levels for four maize cultivars from different eras of breeding. *Crop Science* 27(3): 465-470.
- Cowan R., Gunby P. (1996). Sprayed to death: path dependence, lock-in and pest control strategies. *Economic Journal (London)* 106(436): 521-542.
- De Tourdonnet S., Shili I., Scopel E. (2008). Utilisation des mulchs vivants pour la maîtrise des flores adventices. *Innovations Agronomiques* 3: 43-48.
- Delabays N., Munier-Jolain N.M. (2004). Inhibition de la croissance des mauvaises herbes après incorporation au sol de résidus végétaux: allelopathie ou modification du cycle de l'azote?, 19ème Conférence du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8, 9 et 10 Décembre, 2004, unpaginated.
- Doré T., Réchauchère O., Schmidely P. (2008). Les clés des champs. L'agriculture en questions, Editions Quae, 191 p.
- Escriou H., Maupas F., Richard-Molard M. (2010). Evolution des rendements de la betterave sucrière : un effet favorable du changement climatique. *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France* 96(3): 33-38.
- Fontaine L., Bernicot M.H., Rolland B., Poiret L. (2009). Des variétés rustiques concurrentes des adventices pour l'agriculture durable, en particulier l'agriculture biologique. *Innovations Agronomiques* 4: 115-124.
- Fontaine L., Lieven J., Zaganiacz V., Vacher C., Cairon A., Quillet M. (2010). Optimiser et promouvoir le desherbage mécanique: état de la situation chez des agriculteurs biologiques et conventionnels, 21ème Conférence du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 décembre, 2010, 716-725.
- Foulkes M.J., Snape J.W., Shearman V.J., Reynolds M.P., Gaju O., Sylvester-Bradley R. (2007). Genetic progress in yield potential in wheat: recent advances and future prospects. *Journal of Agricultural Science* 145: 17-29.
- Gowacki G., Kierzek R., Banaszak H., Bubniewicz P. (2006). Weed control by combined mechanical and chemical methods as well as using cover crops and mulch. *Progress in Plant Protection* 46(1): 25-32.
- Haquin F. (2011). Actualités semences. Fourragères et gazons. En quelques semaines, de la pléthore à la pénurie. *Semences et progrès* 150: 116-119.
- Hiltbrunner J., Liedgens M., Bloch L., Stamp P., Streit B. (2007). Legume cover crops as living mulches for winter wheat: components of biomass and the control of weeds. *European Journal of Agronomy* 26(1): 21-29.
- Hollander N.G.d., Bastiaans L., Kropff M.J. (2007). Clover as a cover crop for weed suppression in an intercropping design: II. Competitive ability of several clover species. *European Journal of Agronomy* 26(2): 104-112.
- Jeuffroy M.H., Messean A. (2009). Comment articuler modes d'évaluation des variétés, conduite des cultures et processus d'amélioration génétique ? *Innovations agronomiques* 7: 1-13.
- Jouffret P., Labalette F., Thibierge J. (2011). Atouts et besoins en innovations du tournesol pour une agriculture durable. *Innovations Agronomiques* 14: 1-17.
- Kruidhof H.M., Bastiaans L., Kropff M.J. (2009). Cover crop residue management for optimizing weed control. *Plant and Soil* 318(1/2): 169-184.
- Lamine C., Ricci P., Meynard J.M., Barzman M., Messean A. (2008). Intensification of winter wheat production: a path-dependency analysis, *ENDURE International conference 2008. Diversifying crop protection*, La Grande-Motte, France,

2008/10/12-15 :

[http://www.endure-network.eu/international\\_conference\\_2008/proceedings/monday\\_october\\_13](http://www.endure-network.eu/international_conference_2008/proceedings/monday_october_13)

- Le Silva P.S., Duarte S.R., Oliveira F.H.T.d., Silva J.C.d.V. (2007). Effect of planting density on green ear yield of maize cultivars bred in different periods. *Horticultura Brasileira* 25(2): 154-158.
- Lejeune-Henaut I., Bourion V., Eteve G., Cunot E., Delhay K., Desmyter C. (1999). Floral initiation in field-grown forage peas is delayed to a greater extent by short photoperiods, than in other types of European varieties. *Euphytica* 109(3): 201-211.
- Lieven J., Duroueix F., Lucas J.L. (2010). Evaluation de techniques de desherbage combine ou mixte du colza et du tournesol, 21eme Conference du COLUMA. Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-9 decembre, 2010, 726-735.
- Meiss H., Lagadec L.I., Munier-Jolain N., Waldhardt R., Petit S. (2010a). Weed seed predation increases with vegetation cover in perennial forage crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 138(1/2): 10-16.
- Meiss H., Mediene S., Waldhardt R., Caneill J., Bretagnolle V., Reboud X., Munier-Jolain N. (2010b). Perennial lucerne affects weed community trajectories in grain crop rotations. *Weed Research (Oxford)* 50(4): 331-340.
- Meynard J.M., Girardin P. (1991). Produire autrement. *Le courrier de la Cellule Environnement* 15: 1-19.
- Sadras V.O., Lawson C. (2011). Genetic gain in yield and associated changes in phenotype, trait plasticity and competitive ability of South Australian wheat varieties released between 1958 and 2007. *Crop & Pasture Science* 62(7): 533-549.
- Schott C., Mignolet C., Meynard J.M. (2010). Les oleoproteagineux dans les systemes de culture: evolution des assolements et des successions culturales depuis les annees 1. *OCL - Oleagineux, Corps Gras, Lipides* 17(5): 276-291.
- Seatovic D., Kutterer H., Anken T., Holpp M., Vdi M.E.G. (2009). Automatic Weed Detection in Grassland SmartWeeder, let the machines do the work! In Conference: Agricultural Engineering - Land-Technik Ageng 2009: Innovations to Meet Future Challenges, VDI Berichte, V D I-V D E - Verlag Gmbh, Dusseldorf: 187-192.
- Trottet M., Doussinault G. (2002). Analyse du progrès génétique chez le blé tendre au cours du XXe siècle. *Sélectionneur français* 53: 3-18.
- Vear F., Bony H., Joubert G., Labrouhe D.T.d., Pauchet I., Pinochet X. (2003). 30 years of sunflower breeding in France. *OCL - Oleagineux, Corps Gras, Lipides* 10(1): 66-73.
- Wang T., Ma X., Li Y., Bai D., Liu C., Liu Z., Tan X., Shi Y., Song Y., Carlone M., Bubeck D., Bhardwaj H., Jones E., Wright K., Smith S. (2011). Changes in yield and yield components of single-cross maize hybrids released in China between 1964 and 2001. *Crop Science* 51(2): 512-525.
- Wu H., Koetz E., Liu D., An M., Lemerle D., Pratley J. (2008). Cover cropping as a weed management tool in southern Australian farming systems, Proceedings of the 16th Australian Weeds Conference, Cairns Convention Centre, North Queensland, Australia, 18-22 May, 2008, 504-505.
- Zhang P., Zhang W., Chen S., Yin J., Li S., Zhou E. (2010). Virtual design and kinetic simulation for eight claw intra-row mechanical weeding device. *Nongye Jixie Xuebao = Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery* 41(4): 56-59, 94.



## Chapitre 4.

# Conséquences de l'utilisation des VTH en termes de contamination chimique de l'environnement

**Coordinatrice :**

Claire Richard

**Contributeurs :**

Yves Dessaux

Patrick Mazellier

Elisabeth Navarro,

Claire Richard,

**Relecteurs :**

Laure Mamy, INRA Grignon

Christian Mougin, INRA Grignon

# Sommaire

|  |            |
|--|------------|
| Introduction.....  | 280        |
| <b>4.1. Devenir et impact des herbicides dans l'environnement - Généralités .....</b>  | <b>282</b> |
| 4.1.1. Schéma général .....  | 282        |
| 4.1.2. Transfert.....  | 283        |
| 4.1.3. Transformation .....  | 284        |
| 4.1.3.1. Voies de transformation physico-chimique des herbicides.....  | 284        |
| 4.1.3.2. Voies de transformation biologique des herbicides .....   | 284        |
| 4.1.4. Toxicité sur la faune et la flore.....  | 285        |
| 4.1.5. Synthèse.....   | 285        |
| <b>4.2. Données de laboratoire et de terrain sur les herbicides associés aux VTH .....</b>   | <b>287</b> |
| 4.2.1. Propriétés physico-chimiques .....  | 287        |
| 4.2.2. Transformation et persistance .....   | 289        |
| 4.2.2.1. Transformation physico-chimique.....  | 289        |
| 4.2.2.2. Transformation biologique.....  | 293        |
| 4.2.3. Toxicité à l'égard d'organismes de référence.....   | 296        |
| 4.2.4. Synthèse.....   | 297        |
| 4.2.4.1. Propriétés physico-chimiques.....   | 297        |
| 4.2.4.2. Voies de transformation.....  | 297        |
| 4.2.4.3. Persistance (cf tableau 4-4).....   | 298        |
| <b>4.3. Données sur la présence des herbicides étudiés dans les eaux de surface et souterraines .....</b>                                | <b>300</b> |
| <b>4.4. Outils de suivi et de prévision.....</b>   | <b>303</b> |
| 4.4.1. Présentation des différentes méthodes .....   | 303        |
| 4.4.2. Evaluations des concentrations environnementales par les modèles numériques.....  | 305        |
| 4.4.3. Utilisation des indicateurs pour comparer l'impact environnemental des cultures tolérantes et des cultures conventionnelles ..... | 306        |
| <b>4.5. Les résidus d'herbicides dans les végétaux.....</b>  | <b>308</b> |
| 4.5.1. Examen des résidus détectés, par classe HRAC .....  | 308        |
| 4.5.1.1. Herbicide de classe A.....  | 308        |
| 4.5.1.2. Herbicides de la classe B .....   | 309        |
| 4.5.1.3. Herbicides de la classe C .....   | 309        |
| 4.5.1.4. Herbicide de la classe G.....   | 309        |
| 4.5.1.5. Herbicide de la classe H.....   | 310        |
| 4.5.1.6. Herbicide de la classe O.....   | 310        |
| 4.5.2. Bilan de la section 4.5 .....   | 311        |



|  |            |
|--|------------|
| <b>4.6. Conclusions</b> .....  | <b>312</b> |
| <b>Références bibliographiques citées</b> .....  | <b>316</b> |
| <b>Annexe : Les substances actives étudiées et leurs produits de dégradation</b> ..... | <b>322</b> |

## Introduction

Toute molécule introduite dans l'environnement présente un risque toxique potentiel à l'égard des écosystèmes. Ce risque est non seulement lié à l'introduction de la molécule elle-même, mais aussi à ses produits de transformation potentiellement formés dans l'environnement. Ce risque, dit écotoxique, est largement conditionné à la capacité de la molécule et de ses produits de transformation à se disperser dans l'environnement et donc à se retrouver en contact avec les organismes vivants du sol et du milieu aquatique. La contamination des ressources en eaux (eaux souterraines et eaux de surface) *via* les phénomènes de transfert constitue également un problème de santé publique.

La toxicité humaine est hors périmètre de cette expertise collective. Nous ne considérons dans ce rapport que les effets toxiques potentiels des herbicides sur les espèces animales et végétales peuplant les écosystèmes (oiseaux, organismes aquatiques, abeilles, arthropodes, microorganismes du sol, plantes terrestres et aquatiques).

L'analyse des conséquences environnementales de l'usage d'un herbicide nécessite la prise en compte de l'ensemble de ses voies de transfert et de transformation dans les différents compartiments environnementaux susceptibles d'être atteints, c'est-à-dire de son devenir.

La mise sur le marché de VTH est un sujet de préoccupation des pouvoirs publics et des instances d'évaluation qui s'interrogent en particulier sur les risques environnementaux potentiellement associés à l'emploi accru des herbicides associés à ces VTH. L'objet de cette section est de compiler des résultats d'études concernant le transfert, la transformation et les propriétés écotoxicologiques de 7 herbicides associés aujourd'hui à des VTH :

- cycloxydime (cyclohexanedione, classe A),
- tribénuron-méthyl et chlorsulfuron (sulfonyl-urées, classe B),
- imazamox (imidazolinone, classe B),
- bromoxynil phénol (oxynil, classe C3),
- glyphosate (glycine, classe G),
- glufosinate (acide phosphinique, classe H).

A ces 7 herbicides, il nous a semblé intéressant d'ajouter l'atrazine (triazine, classe C1) car cette molécule et ses produits de dégradation sont encore retrouvés dans les milieux aquatiques 8 ans après l'arrêt de son utilisation.

Il est important de souligner que le devenir des herbicides dans l'environnement dépend de leur structure chimique et est déconnecté de la classification « Herbicide Resistance Action Committee-HRAC » pertinente dans d'autres chapitres de cette expertise (voir chapitre 2).

Dans ce rapport nous ne considérons que les herbicides eux-mêmes, les co-formulants ou adjuvants potentiels ne sont pas pris en compte.

Cette étude bibliographique rassemble et confronte (i) les données expérimentales sur le devenir et la toxicité à l'égard d'organismes de référence des herbicides et (ii) les données collectées au cours des campagnes de prélèvements d'eaux de surface et souterraines permettant de suivre la contamination des milieux. Un point bibliographique concerne également les outils utilisables en termes de prévision des risques. Basés sur les caractéristiques physico-chimiques des molécules et des milieux, sur les données de transformation et de toxicité et sur les doses appliquées, ils donnent une première estimation de l'impact environnemental des herbicides. Enfin, la plante constituant elle-même un compartiment environnemental, la question des résidus de traitement phytosanitaires éventuellement accumulés dans les plantes cultivées soumises au traitement herbicide est traitée dans ce chapitre.

### Sources bibliographiques

Nous avons opté pour faire une recherche très ciblée molécule par molécule en associant un seul mot clef associé à la propriété recherchée. Par exemple pour la partie biodégradation, l'analyse a été réalisée à partir des publications sélectionnées dans les bases de publication Medline, Science direct et Google Scholar, en utilisant :

- a) une équation de recherche composée du mot "herbicide" et ou "bacteria" ou "fungi" ou "soil" ou "activities", ou
- b) le nom de classes ou d'herbicides avec les mots "bacteria" ou "fungi" ou "soil" ou "activities".

L'abondance de la bibliographie est très variable d'une molécule à une autre et d'une propriété à une autre. Certaines molécules (la cycloxydime et l'imazamox) ont été moins étudiées que d'autres. Certains aspects sont peu couverts, ils seront mentionnés au fur et à mesure de ce rapport).

Les dossiers de l'European Food Safety Agency (EFSA), accessibles en ligne dans leur version intégrale pour certains, ont été utilisés. Ils recueillent les données fournies par les industriels dans les dossiers de demande d'homologation des composés. Ces données reposent essentiellement sur des expériences conduites dans les centres de recherche des firmes agrochimiques, elles sont le plus souvent non publiées et ont rarement fait l'objet d'une vérification par des organismes de recherche indépendants. Enfin, elles ne sont pas toujours complètes. Nous avons également utilisé les données fournies par la base « Pesticide properties database » (PPDB). Cette base reprend les données des dossiers de demande d'homologation tout en y intégrant celles issues d'autres organismes internationaux. Quand cela était possible nous avons essayé de confirmer les données en utilisant la littérature scientifique. Certaines données du Service de l'Observation et des Statistiques (SOeS, ex IFEN) du Commissariat Général au Développement Durable ainsi que différents rapports accessibles sur internet ont été utilisés pour documenter l'aspect "présence des molécules dans l'environnement".

Au total, 106 références ont été citées, dont 84 articles scientifiques. 38% des publications sont antérieures à 2000. La problématique du devenir des micropolluants est effectivement étudiée depuis une trentaine d'années. L'origine des publications est très internationale ; une majorité des publications est quand même issue des pays anglo-saxons, nordique et européens dont la France.



#### **Encadré 4-1. Définition des termes utilisés**

*Xénobiotiques* : substance étrangère à l'écosystème.

*Lixiviation* : transport de l'herbicide par solubilisation dans l'eau.

*Lessivage* : transport de l'herbicide en phase solide, i.e. associé aux particules de sol.

*Stabilisation* : protection de l'herbicide contre la biodégradation du fait de son adsorption sur le sol.

*Biotransformation* : transformation chimique induite par les micro-organismes, la molécule est utilisée comme source d'énergie pour la croissance bactérienne.

*Phototransformation* : transformation chimique induite par la lumière solaire.

*Hydrolyse* : transformation chimique suite à la réaction avec une molécule d'eau.

*Co-métabolisme* : la molécule n'est pas utilisée pour la croissance bactérienne mais est dégradée du fait de l'activité métabolique.

*DT<sub>50</sub>* : temps au bout duquel la concentration a baissé de 50%. Plus *DT<sub>50</sub>* est grand, moins l'herbicide se transforme vite.

*Adsorption* : Capacité de l'herbicide à se lier à une particule solide par des liaisons faibles, non-covalentes. Phénomène réversible. Lorsqu'il y a création de liaisons covalentes entre la matière organique du sol et la molécule, on parle alors de résidus liés.

*Formulation* : Forme physique sous laquelle l'herbicide est mis sur le marché ; elle est obtenue par le mélange des herbicides (ou matière active) et de co-formulants éventuels; elle se présente sous une multitude de forme, solide ou liquide.

*Adjuvant* : Tout additif dépourvu d'activité herbicide, ajouté à l'herbicide directement dans la formulation (on parle aussi de co-formulant) ou dans la cuve de mélangeage (adjuvant extemporané) pour améliorer l'application et l'efficacité. Le règlement de 2009 (11-07-2009 EC) impose maintenant que les adjuvants soient traités comme les produits phytosanitaires en matière d'homologation.

*DL<sub>50</sub>* (dose létale) est une valeur statistique de la dose unique d'une substance/préparation dont l'administration orale provoque la mort de 50 % des animaux traités. Plus la valeur est faible, plus l'herbicide est toxique.

*CE<sub>50</sub>* (concentration effective) se définit comme la concentration en substance qui engendre un effet de 50 % par rapport au témoin. Plus la valeur est faible, plus l'herbicide est toxique.

*CL<sub>50</sub>* (dose létale) est une valeur statistique de la dose d'une substance/préparation dont l'administration orale provoque la mort de 50 % des animaux traités. Plus la valeur est faible, plus l'herbicide est toxique.

*Organisme de référence* : organismes utilisés dans les tests normalisés AFNOR, ISO, ...

*TER* : rapport toxicité/exposition égal à *CE<sub>50</sub>* ou *CL<sub>50</sub>* divisé par *PEC*. Si *TER* > 10, le danger est important.

*PEC* : concentration environnementale prévisible.

#### **4.1.2. Transfert**

Plusieurs phénomènes concourent au transfert : la volatilisation, le ruissellement, l'infiltration dans le sol, la pénétration dans la plante. Leurs proportions relatives sont fonction à la fois de la molécule, de sa formulation, du milieu et des conditions climatiques.

- La **volatilisation** dépend, entre autres facteurs, de la tension de vapeur du composé et de la constante de Henry (Bedos et al., 2010). Plus les valeurs sont élevées, plus le composé est volatil. La volatilisation dépend aussi de l'affinité de la molécule avec le support solide (sol ou surface foliaire). Elle diminue avec la hauteur des plantes car les plantes hautes sont plus sujettes aux flux atmosphériques (Bedos et al., 2002).

- L'**infiltration** est un phénomène qui peut conduire à la contamination des nappes d'eau souterraines par lixiviation ou par lessivage. La lixiviation est affectée par l'adsorption de l'herbicide dans le sol. Elle augmente avec la solubilité de l'herbicide dans l'eau et au contraire diminue quand l'adsorption de l'herbicide augmente. L'adsorption des herbicides est généralement caractérisée par le coefficient  $K_d$  (ml/g) qui mesure la distribution de l'herbicide entre les phases liquide (solution du sol) et solide (particules de sol).  $K_d$  est souvent rapporté à la teneur en carbone organique du sol, il est alors noté  $K_{OC}$ . Les valeurs de  $K_d$  et donc de  $K_{OC}$  sont fonction des caractéristiques du sol (pH, contenu en matière organique...) et peuvent varier de façon importante pour un même composé en fonction du type de sol (Mamy & Barriuso, 2005).

- Les herbicides présents sur les plantes et sur le sol peuvent être entraînés par **ruissellement** par l'eau de pluie ou d'irrigation. Le ruissellement conduit à des phénomènes de contamination des eaux de surface. Le paramètre gouvernant ce phénomène est surtout la solubilité de l'herbicide dans l'eau. Le transfert de l'herbicide par ruissellement est moins important sur une surface couverte que sur sol nu, car l'eau circule moins et car une partie de l'herbicide est intercepté par les plantes (Clark & Kenna, 2001). Les herbicides associés aux particules de sol peuvent aussi être entraînés vers les eaux de surface au cours de phénomènes d'érosion.
- Enfin, les herbicides entrent dans la feuille en traversant la cuticule pour aller atteindre leur cible biologique. La cuticule étant une barrière très hydrophobe, le passage dans la cuticule est d'autant plus facile que la molécule est plus hydrophobe. La **diffusion des herbicides dans les feuilles** d'adventice jusqu'à leur site d'action est essentielle puisqu'elle conditionne l'efficacité du traitement. Des adjuvants sont introduits dans les produits commerciaux pour faciliter le passage des herbicides dans la cuticule (Lickfeldt & Branham, 1995). Des tensio-actifs et des adjuvants mouillants améliorent l'étalement de la solution pulvérisée. Les additifs les plus couramment utilisés jusqu'en 2005 étaient les alkylphénols éthoxylés comme le nonylphénol-9EO. La directive 2003/53/CE du 18 juin 2003 interdit les nonylphénols dans les pesticides à compter de début 2005. En France, les autorisations des pesticides sont valables dix ans, donc en 2015 (horizon de la directive-cadre pour la suppression des rejets), les pesticides autorisés ne contiendront théoriquement plus de nonylphénols (Inéris\_Fiche\_nonylphénol). Ils sont remplacés par des polyoxydes d'éthylènes, des esters de polyéthylène glycols par exemple (Hazen, 2000). Des additifs supplémentaires sont parfois rajoutés par l'utilisateur avant la pulvérisation. Leur rôle est aussi de favoriser la diffusion dans la plante. Il s'agit par exemple de dérivés d'huiles végétales qui agissent principalement en solubilisant ou en ramollissant les cires cuticulaires (Hazen, 2000).

### 4.1.3. Transformation

Les principales voies de transformation (dégradation) des herbicides dans l'environnement sont l'hydrolyse, la biotransformation et la photolyse. Pour chacune d'entre elles, la vitesse de dégradation des herbicides est généralement caractérisée par les durées de demi-vie ( $DT_{50}$ ) correspondantes.

#### 4.1.3.1. Voies de transformation physico-chimique des herbicides

L'**hydrolyse** est la réaction de l'herbicide avec l'eau, avec rupture ou non de liaison, et qui peut être catalysée par les ions  $HO^-$  (souvent) ou les ions  $H^+$  (parfois) (Zamy et al., 2004). Elle est susceptible de se produire dans le milieu aquatique, mais aussi dans tous les compartiments contenant de l'eau (sol, surface du végétal humide). Le pH peut être un facteur important car certains composés ionisables ne sont hydrolysables que sous une seule forme chimique (par exemple les sulfonyle-urées sous forme moléculaire).

La **photolyse** est une voie de transformation chimique induite par le rayonnement solaire. Elle peut se produire dans tous les compartiments éclairés par le soleil : partie superficielle des eaux de surface (Ahel et al., 1994), surface du sol (Bhattacharjee & Dureja, 2002), surface des végétaux (Ter Halle et al., 2007), atmosphère (Atkinson et al., 1999). Elle est possible à la condition que l'herbicide absorbe le rayonnement solaire. Dans le cas contraire, des réactions indirectes impliquant les composés absorbants naturels peuvent aussi avoir lieu. D'une façon générale, la vitesse de photolyse d'un composé augmente avec l'intensité de lumière reçue. Elle est donc maximale aux périodes les plus ensoleillées et lorsque le soleil est au zénith et au contraire minimale l'hiver ou au début du printemps, en début et en fin de journée. Les molécules reçoivent moins de lumière sur un sol nu qu'à la surface des feuilles car la surface est moins lisse, les feuilles s'orientent naturellement vers le soleil pour recevoir plus de lumière et les sols contiennent des composés qui absorbent compétitivement le rayonnement solaire. La dégradation par photolyse va donc dépendre de la période de traitement et de l'heure de la journée et du stade de développement des plantes. Un traitement tardif au stade des feuilles développées favorise le phénomène à condition que le composé absorbe la lumière solaire.

#### 4.1.3.2. Voies de transformation biologique des herbicides

Les processus responsables de la **biotransformation** des herbicides comprennent la biodégradation, le co-métabolisme et les réactions de synthèse. La dégradation microbienne est une voie importante de transformation et de dissipation des pesticides dans les sols, très souvent prépondérante (Bazot & Lebeau, 2009). Les activités

microbiennes responsables de la dégradation des pesticides dans le sol dépendent de facteurs abiotiques intrinsèques comme le pH, l'humidité, la conteneur en matière organique et extrinsèques comme les précipitations et les pratiques agricoles (El Sebai et al., 2010). La minéralisation microbienne d'un pesticide peut être réalisée totalement par un même microorganisme ou par un consortium microbien, dont un ou plusieurs membres dégraderont l'herbicide en produits intermédiaires qui seront utilisés ultérieurement par d'autres populations microbiennes (Tao & Yang, 2011). Certains métabolites sont plus mobiles et plus ou moins dégradables dans le sol que la molécule mère, et de ce fait ils sont souvent retrouvés dans les eaux souterraines (Holtze et al., 2008). Parfois, lors de la biodégradation, un ou plusieurs organismes métabolisent les herbicides en composés inorganiques tels que le CO<sub>2</sub> : biodégradation est alors synonyme de minéralisation.

Le co-métabolisme gouverne souvent le devenir des herbicides dans l'environnement. Il conduit à des modifications mineures de la structure des composés parents, les produits de transformations peuvent alors s'accumuler dans l'environnement. Ainsi, certains métabolites sont plus mobiles et moins dégradés dans le sol que la molécule mère, et de ce fait ils sont souvent retrouvés dans les eaux souterraines (Holtze et al., 2008).

Les réactions de synthèse transforment, par conjugaison ou oligomérisation, les herbicides en composés de structure complexe. Ces réactions constituent un des mécanismes de formation des résidus liés dans les sols.

#### 4.1.4. Toxicité sur la faune et la flore

L'évaluation de l'impact toxicologique sur une cible résulte du croisement de l'exposition et des effets vis-à-vis de la cible considérée (Mamy et al., 2008a). L'exposition correspond à la mise en contact de l'organisme vivant avec l'herbicide pendant un temps donné dans un compartiment donné (eau, sol, air). L'effet se rapporte à l'action toxique de l'herbicide sur ce même organisme vivant.

Le rapport toxicité/exposition (TER) est le rapport entre la valeur toxicologique (DL<sub>50</sub>, CL<sub>50</sub>, dose sans effet, dose la plus faible présentant un effet) et l'exposition estimée (concentration environnementale prévisible, PEC) exprimées dans la même unité. Ce rapport est comparé à un seuil défini à l'annexe VI de la directive 91/414/CEE en deçà duquel la marge de sécurité n'est pas considérée comme suffisante pour que le risque soit acceptable. La PEC peut être estimée au moyen de logiciels de modélisation intégrant le maximum de paramètres (caractéristiques du sol, caractéristiques du composé, durée de vie...). Ce sont le plus souvent les situations "pire-cas" qui sont retenues. Les valeurs de TER données dans ce rapport proviennent des évaluations rapportées dans les dossiers EFSA. Elles prennent en compte les organismes vivants non-cibles susceptibles d'être en contact avec l'herbicide (organismes du sol, abeilles, oiseaux, plantes aquatiques, algues, poissons). Les mesures de DL<sub>50</sub> ou de CE<sub>50</sub> sont effectuées sur des organismes de référence pour des effets aigus ou chroniques.

Ces paramètres ne donnent qu'une image partielle de l'impact écotoxicologique des herbicides. Une étude écotoxicologique complète intégrerait un suivi plus global de la diversité, de la croissance ou de la décroissance de certaines espèces, par exemple.

#### 4.1.5. Synthèse

Le devenir d'un herbicide après pulvérisation sur les cultures est un phénomène complexe qui dépend (i) de la présence et de la nature du couvert végétal (traitement en pré- ou post-levée, taille des plantes), (ii) des propriétés physico-chimiques de l'herbicide, (iii) des caractéristiques des milieux récepteurs, (iv) des conditions climatiques (température, humidité, ensoleillement).

- La présence et la nature du couvert végétal conditionnent la répartition de l'herbicide entre le sol et la plante. Les traitements en post-levée réduisent le pourcentage d'herbicide atteignant le sol dans des proportions très larges, dépendant de la taille des plantes et de leur densité de plantation.
- Les herbicides sont généralement peu volatils mais parfois très solubles dans l'eau. Ils sont susceptibles d'être entraînés vers les eaux souterraines par lixiviation ou par lessivage, et vers les eaux de surface au cours d'épisodes de ruissellement et/ou d'érosion. De leur affinité avec le sol, de leur formulation et de leur aptitude à être dégradés dépend l'importance de leur mobilité et de leur transfert.

- La nature du sol (texture, nature de la matière organique, nature de la phase minérale, pH) influence grandement l'adsorption de l'herbicide et sa dégradation.
- Les conditions climatiques (température, ensoleillement) influencent les processus de dégradation. La vitesse de biodégradation augmente avec la température et l'humidité du sol (jusqu'aux maxima compatibles avec l'activité des microorganismes dégradant) et la vitesse de photodégradation avec l'intensité de lumière incidente. Elles seront donc plus importantes au printemps ou en été qu'en hiver.



## 4.2. Données de laboratoire et de terrain sur les herbicides associés aux VTH

Patrick Mazellier, Claire Richard, Elisabeth Navarro

### 4.2.1. Propriétés physico-chimiques

Chaque composé chimique se voit affecter par le Chemical Abstract Service (CAS) d'un numéro d'enregistrement (RN) qui lui est propre. Ce numéro est composé de 3 séries de chiffres. Les 2 premières sont données arbitrairement, la troisième est une clé de vérification. Les données physico-chimiques que nous avons relevées sont les suivantes (voir définition dans l'encadré 4-2) :

- Les propriétés acido-basiques ; le pKa renseigne sur la capacité de la molécule à s'ioniser. Le pKa correspond à la valeur du pH auquel la concentration en forme neutre est égale à la concentration en forme ionisée. Plus il est bas, plus la molécule est acide. Toutes les molécules ne se dissocient pas.
- La solubilité dans l'eau qui conditionne fortement la mobilité.
- L'affinité relative de la molécule pour l'air et l'eau, donnée par la constante de Henry. Plus la constante de Henry est petite, moins la molécule est volatile.
- La capacité de la molécule à s'adsorber sur la matière organique du sol, donnée par le coefficient de distribution sol-eau,  $K_d$ , ou le coefficient d'adsorption sur la matière organique des sols,  $K_{OC}$ . Plus ces paramètres sont grands, plus l'adsorption sur le sol est importante.
- L'affinité relative de la molécule pour le n-octanol et l'eau,  $K_{ow}$ . Cette affinité dépend du pH si la molécule s'ionise. Plus ce paramètre est grand, plus l'affinité pour la phase organique est importante.
- La capacité de la molécule à absorber le rayonnement solaire, donnée par des coefficients d'absorption molaires qui sont fonction de la longueur d'onde.

L'ensemble de ces données figurent dans les dossiers de demande d'homologation (EFSA) ou les documents de travail de la commission européenne (EC). Certains compléments d'information ont été trouvés dans la littérature scientifique.

#### **Encadré 4-2. Définition et unités des principaux paramètres physico-chimiques**

*pKa* : égal au logarithme de la constante d'acidité, paramètre sans dimension.

*K<sub>d</sub>* : coefficient de distribution sol-eau, paramètre sans dimension.

*K<sub>OC</sub>* : coefficient de partage carbone organique-eau, exprimé en ml/g.

*Constante de Henry* : caractérise l'aptitude d'une molécule à se volatiliser, exprimée en Pa m<sup>3</sup>/mol. Elle est donnée dans le texte à 25°C.

*Coefficient d'absorption molaire* : caractérise l'aptitude d'une molécule à absorber la lumière, exprimée en l/mol/cm. Elle dépend de la longueur d'onde.

*Coefficient octanol-eau* : coefficient de partage octanol-eau, paramètre sans dimension.

#### Cycloxydime (CD) (EFSA, 2010)

La cycloxydime (CAS RN : 101205-02-1) présente un pKa égal à 4,17 et peut donc exister sous forme ionique dans l'eau. Sa solubilité dans l'eau augmente fortement avec le pH, passant de 50 mg/l à pH 4, à 0,9 g/l à pH 7 et à 8 g/l à pH 9. Sa volatilité est assez faible (constante de Henry égale à  $6,1 \cdot 10^{-5}$  Pa m<sup>3</sup>/mol). CD est faiblement adsorbé sur la matière organique du sol ( $K_{OC} = 59$  ml/g). Le coefficient de partage octanol/eau est de 1230 à pH 5, 23 à pH 7 et 0,38 à pH 9 (25°C). CD absorbe le rayonnement solaire. Le coefficient d'absorption molaire de la forme moléculaire est de 4199 l/mol/cm (méthanol/HCl) à 290 nm, et celui de sa forme anionique de 18080 l/mol/cm (méthanol/NaOH) à 290 nm.

### Tribénuron-méthyl (TM) (EFSA, 2004)

Le tribénuron-méthyl (CAS RN : 101200-48-0) présente un pKa égal à 4,7 et peut donc exister sous forme ionique dans l'eau. Sa solubilité dans l'eau augmente fortement avec le pH, passant de 49 mg/l à pH 5, à 2,05 g/l à pH 7 et à 18,3 g/l à pH 9. Sa volatilité est faible (constante de Henry égale à  $1.10^{-8}$  Pa m<sup>3</sup>/mol). TM est faiblement adsorbé sur le sol ( $K_{oc} = 9,8-74$  ml/g), les plus faibles valeurs de l'adsorption étant mesurées en milieu alcalin (à pH > 7,  $K_{oc} = 9,8-15$  ml/g) (Riise, 1994). Le coefficient de partage octanol/eau est de 398 à pH 5, de 6,0 à pH 7 et de 2,0 à pH 9 (25°C). TM absorbe peu le rayonnement solaire. Son coefficient d'absorption molaire n'est que de 500 l/mol/cm à 290 nm, et ne fait que diminuer lorsque la longueur d'onde augmente (Bottaro et al., 2008).

### Chlorsulfuron (CS) (EFSA, 2008)

Le chlorsulfuron (CAS RN : 64902-72-3) présente un pKa égal à 3,6 et peut donc exister sous forme ionique dans l'eau. Sa solubilité dans l'eau augmente fortement avec le pH, passant de 587 mg/l à pH 5 à 31,8 g/l à pH 7. Sa volatilité est faible (constante de Henry égale à  $3,5.10^{-11}$  Pa m<sup>3</sup>/mol) (EFSA, 2008). CS est faiblement adsorbé sur le sol ( $K_{oc} = 13-54$  ml/g). CS absorbe peu le rayonnement solaire. Son coefficient d'absorption molaire est inférieur à 500 l/mol/cm à 290 nm, et ne fait que diminuer lorsque la longueur d'onde augmente (Caselli et al., 2001). Le coefficient de partage octanol/eau est de 2,13 à pH 5, de 0,1 à pH 7 et de 0,04 à pH 9 (25°C).

### Imazamox (IM) (European Commission, 2002a)

L'imazamox (CAS RN : 114311-32-9) est utilisé sous forme d'ester ou du sel d'ammonium. IM possède trois fonctions chimiques avec des protons échangeables. Les pKa rapportés sont 2,3 ; 3,3 et 10,8. IM est donc un composé ionisé aux pH rencontrés dans l'environnement. IM est très soluble dans l'eau quel que soit le pH (> 100 g/l). Il est très peu volatil (constante de Henry égale à  $9,76.10^{-7}$  Pa m<sup>3</sup>/mol) et très hydrophile ( $\log K_{ow} = 0,7$ ). Les  $K_{oc}$  de l'IM varient de 2 à 374 ml/g avec une valeur moyenne de 67 déterminée sur 27 sols étudiés. IM absorbe la lumière avec plusieurs bandes d'absorption dont une centrée vers 275 nm avec un coefficient d'absorption molaire de 6120 l/mol/cm. Il est donc vraisemblable que cette absorption se prolonge vers 300 nm.

### Bromoxynil (BX) (European Commission, 2004)

Le bromoxynil (CAS RN : 1689-84-5) présente un pKa égal à 3,9 (présence de groupes électroattracteurs sur le cycle) et peut donc exister sous forme ionique dans l'eau. Sa solubilité dans l'eau est de 539 mg/l à pH 5 et >3100 mg/l à pH 9. La constante de Henry de BX est égale à  $5,3.10^{-4}$  Pa m<sup>3</sup>/mol, impliquant une certaine volatilité du produit. Ainsi, BX se volatilise à partir des plantes et du sol. Au bout de 24 h sous ventilation, cette volatilisation est de 16,4% dans le premier cas et de 7,7 % dans le deuxième. Les valeurs de la constante  $K_{oc}$  de BX sont comprises entre 108 et 239 ml/g entre pH 5,3 et 7,4. Il est susceptible d'être entraîné vers les eaux souterraines par lixiviation (Hill et al., 2000). BX absorbe le rayonnement solaire. Son maximum d'absorption est situé à 287 nm ; à cette longueur d'onde, le coefficient d'absorption molaire est égal à 18300 l/mol/cm. Le coefficient de partage octanol/eau est de 21 à pH 2, et de 11 à pH 7.

### Glyphosate (GP) (European Commission, 2002b)

Le glyphosate (CAS RN : 1071-83-6) est souvent utilisé sous la formulation de son sel d'isopropylammonium (GIP, CAS RN : 38641-94-0) ou de son sel de triméthylsulfonium (GSP, CAS RN : 81591-81-3). Certaines propriétés physico-chimiques sont très significativement différentes selon qu'il s'agit de GP, de GIP ou de GSP : par exemple la solubilité dans l'eau passe de 12 g/l pour GP à 1050 g/l pour GIP et GSP ; la constante de Henry passe de  $2,1.10^{-7}$  Pa m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup> pour GP à  $<2.10^{-9}$  Pa m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup> pour GSP ; le coefficient de partage octanol-eau passant de  $6 \times 10^{-4}$  (GP) à  $10^{-3}$  (GSP). Ces données permettent de considérer les deux composés comme solubles dans l'eau, très faiblement volatils et très hydrophiles. De nombreuses données rapportées dans la littérature concernent le glyphosate GP. La structure chimique de GP ne génère pas de possibilité d'absorption de la lumière solaire avec un coefficient d'absorption molaire inférieur à 10 l/mol/cm à 290 nm. GP possède quatre fonctions chimiques avec des protons échangeables (2 ; 2,25 ; 5,5 ; 10,34 à 0,1 mol/l et 20°C. Le glyphosate est généralement fortement adsorbé dans les sols donc peu mobile, mais cette mobilité dépend du sol considéré (Grunewald et al., 2001). L'adsorption du GP dépend essentiellement du pH du sol : elle varie dans une très large gamme et diminue lorsque le pH augmente ( $K_{oc} = 300-59000$  ml/g) (Mamy, 2004) (Mamy & Barriuso, 2005).

## Glufosinate (GN) (EFSA, 2005)

Le glufosinate est principalement utilisé sous la forme du sel d'ammonium correspondant (CAS RN : 77182-82-2). Le glufosinate-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (GN) est donc un composé ionique avec un second groupement chimique potentiellement ionisable (pKa = 9,15 à 23°C). GN est très soluble dans l'eau (> 500 g/l) aux pH rencontrés dans l'environnement. Il est très peu volatil (constante de Henry égale à 4,5.10<sup>-9</sup> Pa m<sup>3</sup>/mol) et très hydrophile (K<sub>ow</sub> – autour de 10<sup>-4</sup>). La structure chimique de GN ne génère pas de possibilité d'absorption de la lumière solaire. Par conséquent, le glufosinate-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ne donnera pas lieu à des phénomènes de photodégradation. L'adsorption de GN dans les sols est assez variable : les Koc varient entre 10 et 1500 ml/g. Les études rapportées n'ont pas montré de corrélation entre les valeurs des coefficients d'adsorption et la teneur en carbone organique du sol. Par contre, une variation est observée avec le pourcentage d'argile contenu dans le sol.

## Atrazine (AT) (Fiche\_PPDB\_Atrazine)

L'atrazine (CAS RN : 1912-24-9) est très majoritairement sous forme non ionisée aux pH des eaux naturelles. Elle est moyennement soluble dans l'eau (33 mg/l). La constante de Henry est évaluée à 1,5.10<sup>-4</sup> Pa m<sup>3</sup>/mol et le K<sub>ow</sub> de 500. L'adsorption de l'atrazine dans les sols est faible, les Koc sont généralement inférieurs à 100 ml/g (Coquet & Barriuso, 2002). L'atrazine n'absorbe que peu le rayonnement solaire.

### 4.2.2. Transformation et persistance

En ce qui concerne la transformation et la persistance, les paramètres que nous avons retenus sont la DT<sub>50</sub> (voir définition dans l'encadré 4-1) et la nature des produits de transformation. Les données rapportées sont issues d'expériences de laboratoire ou de mesures en champ. Trois milieux sont considérés: le sol, l'eau pure ou tamponnée et les systèmes eau-sédiment qui sont plus représentatifs du milieu aquatique réel que l'eau pure car ils incluent l'effet des matières en suspension. Les données présentées sont issues des dossiers EFSA (référence donnée en début de paragraphe) et d'articles scientifiques.

#### 4.2.2.1. Transformation physico-chimique

##### Cycloxydime (CD), famille des cyclohexanediones

- *Nature des produits de dégradation de CD (voir structures en annexe) (EFSA, 2010)*

De très nombreux métabolites ont été identifiés. Ils résultent de l'oxydation de l'atome de soufre en sulfoxyde ou en sulfone, de la perte du groupe éthoxy porté par l'atome d'azote, d'une cyclisation en benzoxazole et d'une hydroxylation du cycle portant les fonctions carbonyles. Dans le sol, le principal métabolite est le sulfoxyde CD1. Sept autres composés mineurs sont détectés, dont 3 à plus de 5% (CD2, CD3, CD4). Dans l'eau, CD subit une hydrolyse en CD5 et de façon plus minoritaire une oxydation en CD1. Dans les systèmes eau-sédiment, CD1 est de nouveau le produit majoritaire et CD6 un métabolite secondaire. Par photolyse dans l'eau, CD donne CD7 comme photoproduit majoritaire. Quatre autres composés sont observés CD1, CD3, CD5, CD8. La photolyse sur le sol conduit principalement à CD1 et CD3. Les métabolites CD1 et CD2 sont très faiblement adsorbés dans les sols et présentent donc des risques de contamination des eaux souterraines. L'adsorption de CD et de ses métabolites ne dépend pas du pH, sauf pour CD2.

- *Mesure de la persistance de CD et de ses métabolites en laboratoire (EFSA, 2010)*

Dans le sol (pH 5,4 à 7,2), CD est très peu persistant avec une DT<sub>50</sub> inférieure à 1 jour. Après 90 jours et en présence d'oxygène, CD est minéralisé à 40-60%. Les résidus liés atteignent 14 à 39% au bout de 90 à 119 jours. En milieu anaérobie, la DT<sub>50</sub> n'est plus que de 51 jours. CD1 et CD2 sont plus persistants que CD avec des DT<sub>50</sub> de 8,9 et 10,6 jours respectivement. CD3 et CD4 sont nettement plus persistants que CD, avec des DT<sub>50</sub> de 47-155 et 40-132 jours respectivement. La vitesse d'hydrolyse en milieu stérile est conditionnée au pH. A pH 7 et 9, CD est stable avec une DT<sub>50</sub> > 172 jours. En revanche, CD disparaît rapidement en milieu acide (DT<sub>50</sub> = 1,7 jour à pH 3 et 8,3 jours à pH 5). Une mesure dans un système eau-sédiment (pH 8,6-8,8) a donné une DT<sub>50</sub> égale à 20 jours. La vitesse de photolyse dans l'eau est importante, avec des valeurs de DT<sub>50</sub> de 5,8 h, 17,6 h et 22,3 h à pH 5, pH 7 et pH 9, respectivement. Seul CD8 est stable à pH 7 et pH 9. Tous les autres métabolites sont rapidement photolysés (DT<sub>50</sub> < 4 jours).

- *Mesure de la persistance de CD et de ses métabolites en champ (EFSA, 2010)*

Des études de terrain ont été réalisées pour mesurer la persistance de CD1 et de CD2. Sur des sols présentant des pH compris entre 5,7 et 7,4, la  $DT_{50}$  = 4,9 jours pour CD1 et 3,8 jours pour CD2. Ces valeurs sont plus faibles que celles mesurées en laboratoire.

#### Tribénuron-méthyl et chlorsulfuron, famille des sulfonyle-urées

Les herbicides de la famille des sulfonyle-urées sont caractérisés par un taux d'application faible, une bonne sélectivité et une faible toxicité vis-à-vis des mammifères. Cependant, leur temps de persistance dans les sols est souvent relativement long (plus de 100 jours) dans les sols alcalins, ce qui entraîne des problèmes pour les rotations culturales et des risques environnementaux.

#### Tribénuron-méthyl (TM)

- *Produits de dégradation (voir structures en annexe) (EFSA, 2004)*

De nombreux métabolites sont mentionnés dans la littérature (Bottaro et al., 2008) (Bhattacharjee & Dureja, 1999). Dans le sol, les trois principaux métabolites identifiés sont par ordre d'importance : la triazine amine (TM1), la N-déméthyl triazine amine (TM2) et la saccharine (TM3). Tous sont produits avec des rendements chimiques supérieurs à 10%. Un autre composé majeur est observé en conditions anaérobies : l'O-déméthyl tribénuron-méthyl (TM4). Ce dernier se transforme rapidement pour donner les trois composés préalablement mentionnés. Dans les eaux de surface et les systèmes eau-sédiment, les trois principaux métabolites identifiés sont par ordre d'importance : TM1, l'acide 2-(aminosulfonyl)benzoïque (TM5) et TM3. Le métabolite TM1 est plus fortement adsorbé que TM sur le sol ( $K_{oc}$  = 53-138 ml/g), le métabolite TM2 également ( $K_{oc}$  = 17-226 ml/g) ; en revanche, le métabolite TM3 est plus faiblement adsorbé ( $K_{oc}$  = 12-20 ml/g). Pour aucun d'entre eux l'adsorption ne dépend du pH.

- *Persistance de TM et de ses métabolites en laboratoire (EFSA, 2004)*

Les microorganismes du sol sont capables de minéraliser TM avec formation de  $CO_2$  (5,5-54% après 90 jours). La stabilisation sous forme de résidus liés peut atteindre 31% après 90 jours. D'après (Berger et al., 1998), TM disparaît essentiellement par hydrolyse en milieu acide. La  $DT_{50}$  de TM dans le sol est comprise entre 5 et 20 jours. Les valeurs les plus longues sont mesurées dans les sols présentant un pH >6,5. Dans les eaux de surface, TM a une durée de vie de 1 jour vers pH 5 et de 3 à 6 jours à pH 7. Au-delà de pH 9, TM est stable. Dans les systèmes eau-sédiment, TM a une  $DT_{50}$  qui est là aussi fonction du pH, et comprise entre 2 et 30 jours (Roberts & David, 1998). La photolyse est possible mais c'est une voie de dissipation très mineure. Dans le sol, TM1 est très persistant ( $DT_{50}$  = 110-220 jours) ; TM2 est modérément persistant ( $DT_{50}$  = 22-39 jours) et TM3 est de modérément à très persistant ( $DT_{50}$  = 33-230 jours). Ces composés sont stables dans l'eau. Seule la persistance de C a été mesurée dans les systèmes eau-sédiment. TM3 a une  $DT_{50}$  de 5 jours.

- *Persistance de TM et de ses métabolites en champ (EFSA, 2004)*

Des essais en champ réalisés sur des sols de pH 5,8 et 6,9 ont permis de mesurer une  $DT_{50}$  < 10 jours pour TM, ce qui est de l'ordre de grandeur des mesures faites en laboratoire.

#### Chlorsulfuron (CS)

- *Nature des produits de dégradation obtenus en laboratoire (voir structures en annexe) (EFSA, 2008)*

De très nombreux produits de dégradation sont mentionnés (Strek, 1998a; EFSA, 2008) (Strek, 1998b). Les principaux métabolites (CS1 et CS2) sont formés après hydrolyse de la fonction sulfonyle-urée et élimination de monoxyde de carbone. Plusieurs autres métabolites mineurs sont signalés : CS3, CS4, CS5, CS6 et CS7. Ils proviennent de réactions d'hydrolyse, de coupure ou d'ouverture du cycle triazine. Dans le sol, la dégradation en milieu aérobie conduit principalement aux métabolites CS1 et CS2, et secondairement aux métabolites CS4, CS5 et CS6.

Dans l'eau et les systèmes eau-sédiment, les principaux produits sont CS1, CS2, CS3 et CS4. En présence de lumière, il se forme additionnellement CS7. L'adsorption de CS2 dans les sols est faible ( $K_{oc}$  = 21,2 – 48,2 ml/g), celle de CS1 est faible à modérée ( $K_{oc}$  = 16,7 – 225,5 ml/g), de même que celle de CS4 ( $K_{oc}$  = 14,7 – 114,0 ml/g). Ces métabolites sont donc susceptibles de contaminer les eaux souterraines.

*- Mesure de la persistance du chlorsulfuron et de ses métabolites en laboratoire (EFSA, 2008)*

CS est stable à l'hydrolyse en solution aqueuse neutre et basique, avec une  $DT_{50} > 365$  jours, mais s'hydrolyse assez rapidement aux pH plus faibles. A pH 5, la  $DT_{50}$  est de 24 jours. (Sarmah et al., 2000) (Strek, 1998a). La biodégradation de CS est possible, mais la minéralisation est assez lente, la production de  $CO_2$  étant comprise entre 1,9 et 5,5% après 120 jours. Dans le sol (pH de 5,7 à 8,7), la  $DT_{50}$  de CS varie entre 6,7 et 232 j (Sarmah et al., 1999) (James et al., 1999) (EFSA, 2008). Elle a tendance à augmenter avec le pH, comme observé dans l'eau. Dans les sols basiques la biodégradation est le processus prépondérant, alors que dans les sols acides il y a surtout de l'hydrolyse (Sarmah et al., 1998).

Dans les systèmes eau-sédiment (pH = 7,8-8,1), la  $DT_{50}$  est égale à 26 jours en milieu aérobie et à 375 jours en l'absence d'oxygène. En présence de lumière, la  $DT_{50}$  du chlorsulfuron est de 62,2 jours contre 355 jours à l'obscurité (Strek, 1998a). La vitesse de disparition sous irradiation restant assez faible, la photolyse peut être considérée comme un processus de dissipation mineur. Il manque toutefois un effet de l'intensité lumineuse sur cette mesure de  $DT_{50}$ . CS ne se volatilise pas dans les conditions normales. Sa  $DT_{50}$  dans l'atmosphère est de 2,1 jours du fait d'une rapide photodégradation.

Les métabolites principaux ont également fait l'objet d'une étude cinétique de dégradation. CS1 présente une  $DT_{50}$  de 43,2 à 65,9 jours dans le sol à l'obscurité. CS2 a une  $DT_{50}$  de 175 à 436 jours et est donc très persistant. Enfin, CS4 avec une  $DT_{50}$  de 91,6 à 107,4 jours dans le sol est persistant.

*- Mesure de la persistance de CS et de ses métabolites en champ (EFSA, 2008)*

Des essais en champ réalisés sur des sols de pH 6,3-6,9 à 8,5-8,7 avec des teneurs en carbone organique variant entre 0,2 et 1,3% ont permis de mesurer des  $DT_{50}$  pour CS comprises entre 2,5 et 70 jours.

Imazamox (IM), famille des imidazolinones

Les imidazolinones en général sont utilisées de manière intensive car elles présentent une forte activité, des doses d'application faibles (moins de 25 g/ha) (Battaglin et al., 2000) et un large spectre. Leur persistance dans le sol est dépendante du type de sol, de l'humidité, du pH et de la matière organique. Elle varie entre 60 et 360 jours, ce qui peut entraîner des problèmes lors de rotations culturales.

*- Nature des produits de dégradation de IM obtenus en laboratoire (European Commission, 2002a)*

Deux produits de dégradation sont rapportés pour IM dans les sols en conditions aérobies :

- IM1, également produit de dégradation de l'imazapyr (Fiche\_PPDB\_Imazamox).
- CL 354825 pour lequel aucune structure n'est proposée.

IM subit des réactions de phototransformation dans l'eau (peu d'hydrolyse). 4 produits de dégradation sont rapportés : IM2, IM3, IM4, IM5. Les conditions expérimentales précises de ces études ne sont pas explicitées.

Des données d'adsorption existent également pour deux des produits de dégradation : l'adsorption de IM1 est faible à modérée :  $27 \text{ ml/g} < K_{oc} < 279 \text{ ml/g}$ ; celle de CL 354 825 est élevée :  $331 \text{ ml/g} < K_{oc} < 1624 \text{ ml/g}$  (Fiche\_PPDB\_Imazamox).

*- Mesure de la persistance de IM et de ses métabolites en laboratoire (European Commission, 2002a)*

Dans les sols, la  $DT_{50}$  de IM varie entre 12 jours et 207 jours en conditions aérobies à 20°C selon différents types de sols. La dégradation est lente en milieu acide. Aucune dégradation n'est observée en conditions anaérobies.

Dans les eaux, IM est photodégradé assez rapidement, avec une durée de vie évaluée à 6,8 heures (Harir et al., 2007). La dégradation biologique dans les systèmes eaux-sédiments a lieu avec des  $DT_{50}$  variant entre 12 et 207 jours.

Le produit de dégradation IM1 se dégrade rapidement dans les sols, avec une durée de demi-vie de 11 jours, il subit également une réaction d'hydrolyse avec une demi-vie de 30 jours et des réactions de photodégradation avec une demi-vie de 2,1 jours (Fiche\_PPDB\_Imazamox).

*- Mesure de la persistance de IM et de ses métabolites en champ (European Commission, 2002a)*

Plusieurs études de dissipation sur les sols ont été réalisées, aboutissant à des  $DT_{50}$  variant entre 4,5 et 41 jours avec une valeur moyenne de 14,3 jours.

### Bromoxynil (BX)

- *Nature des produits de dégradation obtenus en laboratoire (voir structures en annexe)* (European Commission, 2004)

BX est généralement utilisé pour remplacer l'atrazine. Les deux principaux composés issus de la transformation du bromoxynil (BX1 et BX2) proviennent de sa biodégradation (voir section 4.2.2.2). Sa biodégradation est similaire à celle du dichlorobénil ; il est dégradé en benzamide (BX1) par une nitrile hydratase puis en acide benzoïque (BX2) par une amidase. Une nitrilase permet la métabolisation directe en acide benzoïque (Holtze et al., 2008). BX exerce un effet important sur les communautés microbiennes du sol. Cet effet s'étend, selon les auteurs, d'un effet fongicide et bactéricide drastique (Baxter & Cummings, 2008) à une modification de la structure des communautés bactériennes (Pampulha & Oliveira, 2006). Il a été aussi montré qu'il inhibait la nitrification. Cependant, des bactéries dégradant BX ont été isolées. Les bactéries capables de convertir BX en BX1 appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Variovorax*, et sont incapables de dégrader ensuite BX1. Un isolat de *Pseudomonas putida* réalisant la dégradation de BX1 en BX2 a été décrit. A partir d'un sol traité avec du bromoxynil, une souche de *Klebsiella pneumoniae* dégradant BX en BX1 a également été obtenue mais, comme précédemment, elle ne peut métaboliser BX2. Enfin, une souche de *Streptomyces fellus* semble métaboliser BX sans qu'il y ait accumulation de composés intermédiaires ; il n'a pas été déterminé si une voie de dégradation alternative était présente ou si elle était capable de rapidement dégrader les métabolites intermédiaires présentés plus haut (Baxter & Cummings, 2008) (Holtze et al., 2008). Des composés polaires non identifiés mais mineurs sont également mentionnés. Certains travaux indiquent que les composés ayant perdu respectivement 1 et 2 atomes de brome (BX3 et BX4) sont produits par photolyse, alors que d'autres démontrent qu'il se forme le composé hydroxylé BX5 (Machado et al., 1995). La formation de BX3 et BX4 suppose une photoréduction avec remplacement de Br par H. Ce type de réaction nécessite la présence dans le milieu d'un donneur d'atome H. Ce n'est le cas que si des traces de méthanol ont été ajoutées à la solution de BX. Cette opération est souvent faite pour faciliter la solubilisation dans l'eau des molécules. Dans un milieu purement aqueux et à faible avancement de la réaction une photohydrolyse de BX conduisant à une substitution de Br par OH semble plus probable.

- *Mesure de la persistance de BX et de ses métabolites en laboratoire* (European Commission, 2004)

BX est résistant à l'hydrolyse. La photolyse en solution aqueuse est rapide ( $DT_{50} < 10h$ ). BX subit une dégradation biologique dans le sol comme dans l'eau (Baxter & Cummings, 2008). Dans le sol, la minéralisation est de 27,2 à 33,6% après 28 jours. Les résidus liés sont compris entre 73 et 74%. La minéralisation passe par la formation de BX1 et de BX2, dont la concentration est maximale au bout de 24 heures.

La vitesse de dégradation de BX a été mesurée dans 4 sols de pH compris entre 5,3 et 7,4 : elle est très rapide avec  $DT_{50} < 1$  jour. Dans des conditions équivalentes, le métabolite BX1 présente une  $DT_{50}$  comprise entre 0,42 et 5,2 jours et le métabolite BX2 une  $DT_{50} < 0,5$  jour.

Dans les systèmes eau-sédiment, la  $DT_{50}$  de BX est comprise entre 9,6 et 16 jours.

Sous lumière artificielle mimant le rayonnement solaire, BX se transforme rapidement ( $DT_{50} < 10 h$ ). Dans l'air, il subit une photodégradation ; une  $DT_{50}$  comprise entre 12 et 51 jours est rapportée mais sans aucune précision sur les conditions de mesure.

### Glufosinate (GN)

GN est dégradé dans le sol essentiellement par des processus microbiens (voir section 4.2.2.2). GN n'est pas dégradé par hydrolyse ou photolyse en eau purifiée.

### Glyphosate (GP)

- *Nature des produits de dégradation obtenus en laboratoire* (European Commission, 2002b)

L'AMPA (acide aminométhylphosphonique) est le principal produit de dégradation de GP.

- *Mesure de la persistance de GP et de ses métabolites en laboratoire*

En contact avec le sol, GP est rapidement lié aux particules du sol, le rendant essentiellement immobile (Roy et al., 1989) (Feng & Thompson, 1990) (Feng et al., 1990) (Mamy & Barriuso, 2005) (Mamy et al., 2008b). La dégradation du glyphosate dans le sol est essentiellement microbienne.

La demi-vie du glyphosate dans le sol est en moyenne de 2 mois, mais peut varier de quelques jours à des années (Nomura & Hilton, 1977) (Rueppel et al., 1977) (Roy et al., 1989; Feng & Thompson, 1990) (Anton et al., 1993) (Mamy & Barriuso, 2005).

La minéralisation de GP dépend du type de sol, avec des taux de minéralisation variant de 5,8 à 9,3% en 112 jours à 79,6% en 100 jours. Pour le produit GSP, la minéralisation de GP atteint 75% en 150 jours et celle de la partie triméthylsulfonium 74% en 150 jours. La persistance du glyphosate dépend des caractéristiques du sol, de 2,5 j dans des sols calcaires à 43 j dans des sols sablo-limoneux (Mamy, 2004) (Mamy & Barriuso, 2005). Comme mentionné ci-dessus, les phénomènes de phototransformation sont très faibles (Rueppel et al., 1977). Cependant, des études ultérieures ont montré qu'une phototransformation, certes lente, était possible et dépendante de la composition des eaux et de la forme de GP utilisée (substance active ou produit formulé) (Lund-Hoie & Friestad, 1986) (Carlisle & Trevors, 1988) avec une durée de demi-vie de quatre jours dans l'eau pure sous lumière UV. L'AMPA, est un composé beaucoup plus stable que le glyphosate dans les sols qui peut persister dans les sols 1 an après l'application de glyphosate (Mamy & Barriuso, 2005).

#### - *Mesure de la persistance de GP et de ses métabolites en champ*

En plein champ, la  $DT_{50}$  du glyphosate varie beaucoup en fonction du lieu géographique où sont faites les mesures ; des  $DT_{50}$  entre 1 et 130 jours sont rapportées (European Commission, 2002b). Pour l'AMPA,  $DT_{50}$  varie entre 76 et 240 jours (Fiche\_PPDB\_glyphosate). Il existe donc un risque d'accumulation dans le sol et/ou de transport vertical pour le métabolite AMPA (Mamy et al., 2008b).

### Atrazine

#### - *Devenir dans l'environnement et nature des produits de dégradation (Fiche\_PPDB\_Atrazine)*

L'atrazine est assez stable en solution aqueuse aux pH rencontrés dans l'environnement, avec une durée de demi-vie de 86 jours. La photodégradation de l'atrazine dans l'eau est lente. A la surface des sols, la dégradation est deux fois plus rapide en présence de lumière solaire qu'à l'obscurité, montrant ainsi les propriétés de photosensibilisation des sols (Konstantinou et al., 2001). Les données issues des bases PPDB donnent des  $DT_{50}$  comprises entre 28 et 150 jours dans le sol en laboratoire, contre 6 à 108 en champ.

Les produits de dégradation de l'atrazine sont relativement bien connus : déséthyl-atrazine, déisopropyl-atrazine, hydroxy-atrazine.

La quantité de résidus liés peut atteindre plus de 40% de la quantité appliquée (Schiavon, 1980) (Barriuso & Houot, 1996). En ce qui concerne les dérivés de l'atrazine, Schiavon (1980) rapporte un taux de formation de résidus liés de 45% pour la déséthyl-atrazine, 35% pour la déisopropyl-atrazine, 30% pour la diamino-atrazine après un an. Par contre, seuls 6,5% de l'hydroxy-atrazine initialement appliquée sont non extractibles (Schiavon, 1980).

### **4.2.2.2. Transformation biologique**

On observe dans la littérature une forte dominance des publications concernant l'atrazine, qui apparaît donc comme un cas modèle. Les références relatives aux autres herbicides sont plus rares. Aussi, en dehors de l'atrazine, seuls quelques exemples de dégradations d'herbicides sont présentés ci-dessous. Ceux-ci se rapportent aux cas du glufosinate (classe H), le glyphosate (classe G), les sulfonylurées et les imididazoles (classe B), l'atrazine et le bromoxynil (classes C).

### Sulfonyl-urées

Bien qu'il existe une hydrolyse chimique, plus rapide dans les sols humides et à pH faible (Gu et al., 2007; Ma et al., 2009), la dégradation biologique est souvent prédominante pour cette famille d'herbicides. Des bactéries et des champignons dégradants ont été isolés (*Aspergillus*, *Pseudomonas*, *Méthylophila*, etc.). En général, la première étape de dégradation est le clivage du pont sulfonyl-urée produisant une sulfonamide et une amine hétérocyclique (Ma et al., 2009).

De nombreux produits appartiennent à la classe des sulfonylurées. Deux exemples d'herbicides pour lesquels des souches dégradantes ont été isolées peuvent être cités. Tout d'abord, une bactérie appartenant au genre *Pseudomonas*, dégradant le chlorimuron-éthyl et l'utilisant comme seule source d'azote, a été isolée récemment après enrichissement sur un milieu de culture minimum supplémenté par du chlorimuron-éthyl (Ma, et al., 2009).

Elle est capable de dégrader d'autres sulfonyleurées, tels l'éthametsulfuron, le pyrazosulfuron et le trisulfuron. Deux produits majeurs de dégradation ont été identifiés en culture pure : le N-formyl-benzosulfimide et le 4-chloro-méthoxy-pyrimidine-2-amine. Ces produits sont eux-mêmes dégradables. D'une façon générale, le taux de dégradation du chlorimuron-éthyl dans les sols est faible (2,8% en 30 jours). L'inoculation avec la souche de *Pseudomonas* permet de porter ce taux à environ 70% de dégradation dans le même laps de temps.

Une souche de *Pseudomonas* dégradant l'éthametsulfuron-méthyl a été isolée d'un sol. Comme précédemment, l'inoculation d'un sol par cette souche augmente la dégradation de l'herbicide de 6 à 88%. En culture pure, cinq produits de dégradation ont été identifiés : (1) N-desméthyl-O-desméthyl éthametsulfuron-méthyl, (2) 4-éthoxy-6-(méthylamino)-1,3,5-triazine-2-amine, (3) méthyl 2-sulfamoylbenzoate, (4) N-desméthyl éthametsulfuron-méthyl, (5) methyl 2-[[[[amino[(aminocarbonyl)imino] méthyl] amino] carboxyl]. A partir de ces produits, deux voies métaboliques ont été proposées. La première implique le clivage du pont sulfonyleurée en donnant les produits 2 et 3. La seconde implique la perte d'un radical alkyle puis un clivage du cycle triazine. Les cinq produits ont été mis en évidence lors de dégradations dans les sols (Si, *et al.*, 2005).

### Imidazolinones

Il existe peu de données bibliographiques sur la dégradation microbienne de ces herbicides. Trois souches appartenant à des genres différents (*Alcaligènes*, *Arthrobacter* et *Pseudomonas*) ont été isolées. Elles sont capables d'utiliser comme seule source de carbone les imidazolinones et dégradent plusieurs de ces composés (ex. imazapyr, imazapic, et imazamox).

Une tentative d'identification des métabolites a été réalisée pour la dégradation de l'imazaquin par une souche d'*Arthrobacter*. Sur deux métabolites, un seul a été identifié, il s'agit d'une quinoline qui proviendrait du clivage du cycle imidazolinone (Wang, *et al.*, 2007).

### Bromoxynil

Sa biodégradation est similaire à celle du dichlorobénil ; il est dégradé en benzamide (BX1) par une nitrile hydratase puis en acide benzoïque (BX2) par une amidase. Une nitrilase permet la métabolisation directe en acide benzoïque (Holtze *et al.*, 2008). BX exerce un effet important sur les communautés microbiennes du sol. Cet effet s'étend, selon les auteurs, d'un effet fongicide et bactéricide drastique (Baxter & Cummings, 2008) à une modification de la structure des communautés bactériennes (Pampulha & Oliveira, 2006). Il a été aussi montré qu'il inhibait la nitrification. Cependant, des bactéries dégradant BX ont été isolées. Les bactéries capables de convertir BX en BX1 appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Variovorax*, et sont incapables de dégrader ensuite BX1. Un isolat de *Pseudomonas putida* réalisant la dégradation de BX1 en BX2 a été décrit. A partir d'un sol traité avec du bromoxynil, une souche de *Klebsiella pneumoniae* dégradant BX en BX1 a également été obtenue mais, comme précédemment, elle ne peut métaboliser BX2. Enfin, une souche de *Streptomyces fellus* semble métaboliser BX sans qu'il y ait accumulation de composés intermédiaires ; il n'a pas été déterminé si une voie de dégradation alternative était présente ou si elle était capable de rapidement dégrader les métabolites intermédiaires présentés plus haut (Baxter & Cummings, 2008) (Holtze *et al.*, 2008).

### Glufosinate

La dégradation microbienne du GN conduit à la formation de plusieurs métabolites avant d'être minéralisé en CO<sub>2</sub> : l'acide 3-méthylphosphinopropionique (MPP) ; le 2-acétamido-glufosinate (NAG) ; et l'acide 2-méthylphosphinicoacétique (MPA).

Dans les plantes, le métabolite principal est NAG.

Dans les sols, le taux de minéralisation varie entre 20 et 62% en 120 jours, avec formation intermédiaire de MPP et MPA majoritaires en conditions aérobies. La dégradation de GN en conditions anaérobies est plus lente qu'en conditions aérobies.

Dans des systèmes eau-sédiment, en conditions aérobies, les produits de dégradation formés avec des rendements supérieurs à 10% sont MPP, MPA, NAG, ainsi que l'acide méthylphosphinico formique (MPF) et l'acide 3-méthylphosphinico acrylique (MPA2).

Les produits de dégradation principaux sont assez rapidement dégradés à leur tour en conditions aérobies dans les sols : les DT<sub>50</sub> du MPP varient entre 6 et 24 jours ; celles du MPA entre 8 et 50 jours ; et celle du NAG est égale à 1 jour.



A la fin des années 1980, deux souches (*Rhodococcus* sp. ; *Pseudomonas paucimobilis*) capables d'utiliser le PTT comme seule source de carbone ont été isolées. Ce phénomène reste rare, la plupart des bactéries étant en effet capables de dégrader le PTT mais pas de l'utiliser comme source de carbone. Les métabolites majeurs identifiés en culture pure sont le PPO (acide 2-oxo-4[(hydroxyl)-(methyl)phosphinoyl] butyrique, résultant de la déamination du PTT) et le N-acetyl-PTT (résultant de son acétylation). Le PPO est ensuite transformé en MPPA (par décarboxylation), composé détecté seulement à l'état de trace. Le PPO et le N-acétyl-PTT ne sont pas détectés dans le sol ; ceci serait dû à leur instabilité dans cet environnement. En résumé, la première attaque du glufosinate par les micro-organismes se fait par la partie amino-terminale et non pas par la liaison C-P, comme pour beaucoup d'autres herbicides. En conséquence, la dégradation du glufosinate ne libère pas de phosphore, ce qui explique qu'aucune bactérie capable d'utiliser le glufosinate comme seule source de phosphore n'ait pour le moment été identifiée (Karpouzas & Singh, 2006).

Les gènes codant les protéines impliquées dans l'acétylation du glufosinate (PTT-N-acetyltransférases) ont été identifiés pour deux espèces de *Streptomyces*. Ces gènes sont très proches et les protéines qu'ils déterminent sont très voisines (85% de similarité). Récemment, une nouvelle enzyme (la MAT, méthionine sulfone N-acétyl transférase) a été isolée d'une souche de *Nocardia*. Ce gène a été utilisé pour construire une plante transgénique (*Arabidopsis thaliana*) résistante au glufosinate (Yun, et al., 2009).

Dans les sols, cet herbicide peut entraîner une diminution des densités des populations bactériennes et fongiques. Cependant, lors d'applications répétées, l'apparition de bactéries résistantes a été observé (Bartsch & Tebbe, 1989). De plus, pour les bactéries, un effet de stimulation transitoire est perceptible durant les deux premières semaines. La même observation a été faite pour les bactéries et les champignons cellulolytiques ainsi que pour les bactéries nitrifiantes. Un effet négatif sur d'autres activités microbiennes a été aussi rapporté (Pampulha, et al., 2007).

### Glyphosate

Plusieurs études ont montré une corrélation positive entre la biomasse microbienne, la densité et l'activité des communautés microbiennes et la dégradation de glyphosate dans les sols qui ne semble pas faire l'objet d'une adaptation des sols, ce qui suggère que la capacité de dégradation préexistait à l'apport de cet herbicide (Borggaard & Gimsing, 2008).

La part libre de GP est dégradée à un rythme régulier et relativement rapidement par les micro-organismes du sol (Nomura & Hilton, 1977) (Rueppel et al., 1977), alors que la part liée est également dégradée biologiquement mais beaucoup plus lentement.

Deux voies de dégradation ont été décrites. La première, nommée voie AMPA, existe chez les bactéries et les champignons. Elle débute par le clivage de la liaison C-N par une glyphosate oxidoreductase produisant de l'AMPA et du glyoxylate. Ce dernier est métabolisé via le cycle du glyoxylate (variante du cycle de Krebs). L'AMPA est soumis à une déphosphorylation (par une C-P lyase) qui conduit à la formation de phosphate inorganique et de méthylamine, minéralisée en CO<sub>2</sub> et NH<sub>3</sub>. L'activité C-P lyase est induite lors d'une carence en phosphate. La seconde voie métabolique a été décrite à la fin des années 80, et nommée voie sarcosine. Elle commence par le clivage de la liaison C-P par une C-P lyase qui produit du phosphate et de la sarcosine. Cette dernière est dégradée en glycine et formaldéhyde par une sarcosine oxydase. Ces deux produits sont ensuite transformés par des voies classiques en CO<sub>2</sub> et NH<sub>3</sub>. Toutes les bactéries présentant cette voie sont capables d'utiliser le glyphosate comme seule source de phosphore. Parmi les microorganismes, la voie AMPA est plus représentée dans les milieux contaminés par le glyphosate, alors que la voie sarcosine est répandue dans les autres environnements. Il est difficile d'évaluer le rôle relatif de ces deux voies métaboliques dans le sol. Cependant, la sarcosine n'a jamais été détectée en sol, probablement parce que plus rapidement dégradable que l'AMPA, qui est plus résistant et peu adsorbé (Karpouzas & Singh, 2006; Borggaard & Gimsing, 2008; Ermakova et al., 2010).

### Atrazine

L'atrazine est la molécule dont la dégradation est la mieux décrite (Barriuso & Houot, 1996), et illustre le phénomène d'"adaptation des sols aux xénobiotiques" qui peut être observé. Dans les premières périodes d'application, aucune dégradation n'était observée dans les sols traités. Après plusieurs années d'application, une dégradation microbienne relativement rapide a été mise en évidence. La voie principale de dégradation

conduit à l'acide cyanurique par déshalogénéation, *N*-dealkylation, et désamination sous l'action des produits des gènes *atzA,B,C* (Ralebitso et al., 2002). Ces gènes ont par ailleurs été observés sur toute la planète chez différents genres bactériens ce qui suggère une origine unique récente puis une dispersion globale (Wackett et al., 2002; Devers et al., 2008). Ceci montre l'importance du transfert de gène dans l'adaptation bactérienne pour la dégradation des herbicides. D'autres voies de métabolisme de l'atrazine existent et ne conduisent pas toutes à sa minéralisation (Ralebitso et al., 2002).

### 4.2.3. Toxicité à l'égard d'organismes de référence

Pour évaluer la toxicité potentielle d'une molécule, l'une des méthodes consiste à suivre la réponse d'organismes sélectionnés à cette molécule. On mesure alors la concentration létale ou à effet selon des tests normalisés. Les paramètres collectés dans ce paragraphe sont les  $CL_{50}$ ,  $DL_{50}$  et les  $CE_{50}$  (voir définition dans l'encadré 4-1). Les seuils de toxicité ont été mesurés sur les organismes de référence mentionnés dans le texte.

Le **tribénuron-méthyl** (Fiche\_PPDB\_Tribénuron-méthyl; EFSA, 2004) présente une forte toxicité aiguë sur les plantes aquatiques et les algues, avec une valeur de  $CE_{50}$  comprise entre 0,0024 et 0,11 mg/l. Lors des tests pratiqués en laboratoire, *Lemna gibba* et *Pseudokirchneriella subcapitata*, espèces représentatives du groupe des plantes aquatiques et des algues respectivement, se sont révélées être les plus sensibles au tribénuron-méthyl. TB est également toxique pour les plantes de culture. Sa toxicité est cependant plus faible que celles des autres sulfonyle-urées (chlorsulfuron, triasulfuron, and metsulfuron-méthyl) (Kotoulasyka et al., 1993).

Les algues et les plantes aquatiques sont très sensibles au **chlorsulfuron** (Fiche\_PPDB\_Chlorosulfuron; EFSA, 2008) (Junghans M. et al., 2003) (Fairchild et al., 1997) (Nyström et al., 1999). La valeur de  $CE_{50}$  est égale à 0,46 µg/l pour *Lemna gibba* et de 50 µg/l pour *Pseudokirchneriella subcapitata* lors des tests pratiqués en laboratoire.

Le **bromoxynil** est toxique pour les abeilles, avec une  $DL_{50}$  de 5 µg/abeille par voie orale et de 150 µg/abeille par contact. En ce qui concerne les organismes aquatiques, la toxicité aiguë est moyenne pour le poisson *Oncorhynchus mykiss* avec une  $CL_{50}$  de 8,8 mg/l après 96 h. La toxicité à long terme est plus importante ( $CL_{50}$  = 2 mg/l). Pour l'invertébré *Daphnia magna*, la  $CE_{50}$  est de 12,5 mg/l en forme aiguë et la  $CE_{50}$  est de 3,1 mg/l pour l'effet chronique. La  $CE_{50}$  est égale à 0,12 mg/l pour l'algue *Navicula pelliculosa*. Enfin, sur la plante aquatique *Lemna gibba*, la  $CE_{50}$  est de 0,033 mg/l après 14 j. (European Commission, 2004) (Fiche\_PPDB\_Bromoxynil).

La **cycloxydime** fait courir un risque à long terme aux oiseaux insectivores. A noter que la préparation BAS 517 22 H (CD formulé) semble toxique pour un aquatique invertébré (*Daphnia magna*) et pour le poisson *Oncorhynchus mykiss*. Le risque *via* les métabolites CD1, CD4, CD8 est apparemment faible. (EFSA, 2010) (Fiche\_PPDB\_Cycloxydime).

L'**imazamox** n'est pas bioaccumulable. Il est faiblement toxique à l'égard de *Daphnia magna* ( $CE_{50}$  > 122 mg/l) mais modérément toxique vis-à-vis de l'algue *Raphidocelis subcapitata* ( $CE_{50}$  > 0,037 mg/l en 72 h) et *Lemna gibba* ( $CE_{50}$  > 0,011 mg/l). Il est aussi modérément toxique pour les abeilles, avec une  $DL_{50}$  > 40 µg/abeille par voie orale. (Fiche\_PPDB\_Imazamox) (European Commission, 2002a).

La toxicité du **glyphosate** vis-à-vis de la bactérie *Vibrio fischeri* conduit à un classement "dangereux" selon les catégories établies par l'UE (Hernando et al., 2007). Sa toxicité à l'égard de *Daphnia magna* ( $CE_{50}$  = 40 mg/l), *Oncorhynchus mykiss* ( $CL_{50}$  = 38 mg/l) et *Americamysis bahia* ( $CL_{50}$  = 40 mg/l) est modérée selon les tests répertoriés dans (Fiche\_PPDB\_Atrazine). De nombreuses études ont montré que la formulation du glyphosate impacte significativement la toxicité (Mann & Bidwell, 1999). L'AMPA, son principal produit de biodégradation, est plus toxique sur les algues que le glyphosate ( $CE_{50}$  = 0,64 mg/l contre 4,4 mg/l mais espèce non précisée; (Fiche\_PPDB\_glyphosate). Des travaux récents montrent que GP affecte le milieu aquatique, modifiant la qualité de l'eau et les fonctionnalités des écosystèmes (Vera et al., 2010).

La toxicité du **glufosinate-ammonium** est modérée à l'égard de *Americamysis bahia* ( $CL_{50}$  = 7,5 mg/l), *Lemna gibba* ( $CE_{50}$  = 1,47 mg/l) et le lombric *Eisenia foetida* ( $CL_{50}$  > 1000 mg/l) selon les tests répertoriés dans (Fiche\_PPDB\_Glufosinate) .

Ces mesures de toxicité ne considèrent que l'herbicide lui-même. Or, le risque de l'exposition aux polluants est possiblement aggravé par la multiplicité des substances présentes dans l'environnement (McCarty & Borgert,

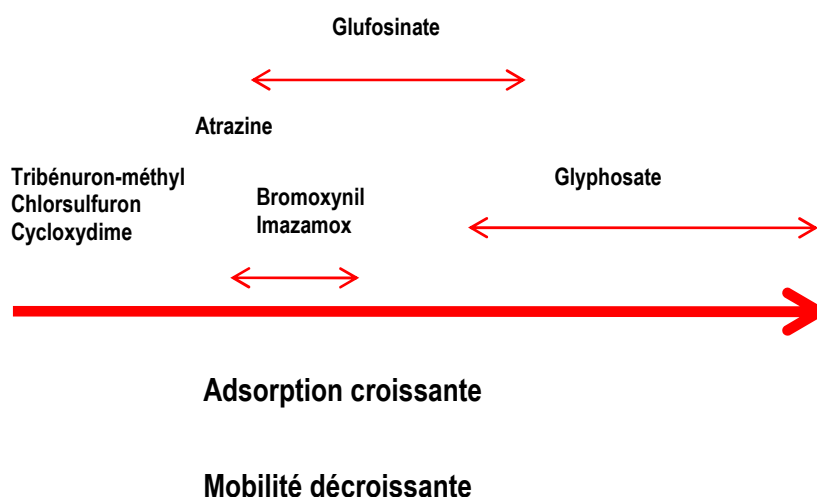
2006). La question du comportement des herbicides étudiés en mélange avec d'autres substances (effets combinés, antagonistes ou synergiques) reste donc posée car nous n'avons pas trouvé de littérature sur ce sujet. Il est vrai que ce problème est vaste et complexe.

## 4.2.4. Synthèse

### 4.2.4.1. Propriétés physico-chimiques

Les herbicides étudiés, à l'exception de l'atrazine, sont entre solubles et très solubles dans l'eau, et sont donc potentiellement transférables vers les eaux de surface par ruissellement, comme les herbicides en général. Par ailleurs, leur mobilité dans le sol et donc leur aptitude potentielle à rejoindre les eaux souterraines est fonction de leur capacité à s'adsorber sur la matière organique du sol. Plus l'adsorption est faible, plus la mobilité est grande et plus la molécule est susceptible de rejoindre les eaux souterraines. La capacité à s'adsorber des herbicides étudiés varie comme le montre la Figure 4-2. Tous les herbicides à l'exception du glufosinate et du glyphosate présentent des  $K_{OC}$  inférieurs à 400 ml/g et sont donc mobiles. Pour le glufosinate et surtout pour le glyphosate, l'adsorption varie dans une large gamme en fonction du type de sol. Le glyphosate peut être très adsorbé sur le sol. Enfin, les transferts vers l'atmosphère dans les conditions d'usage recommandées sont négligeables car les composés sont peu volatils. Seul le bromoxynil peut passer en phase gazeuse de façon mineure.

Figure 4-2. Adsorption des herbicides sur la matière organique du sol.



Source : C. Richard

### 4.2.4.2. Voies de transformation

L'étude bibliographique montre que tous les herbicides étudiés se dégradent par hydrolyse, biodégradation et/ou photolyse. L'importance relative de ces différentes voies est fonction de la structure chimique de la molécule.

- Le tribénuron-méthyl et le chlorsulfuron subissent une hydrolyse à partir de la forme protonnée et se biodégradent. Leur cinétique de disparition est très dépendante du pH, ralentissant lorsque le pH augmente. La stabilité de ces composés augmente avec le pH du sol ou de l'eau, surtout pour le chlorsulfuron.

- La cycloxydime se dégrade assez vite par voie biologique et par hydrolyse à partir de la forme protonnée. Elle est aussi dégradée par photolyse dans l'eau. C'est dans les systèmes eau-sédiment qu'elle est la plus persistante.

- Le bromoxynil et l'imazamox sont résistants à l'hydrolyse, mais sont dégradés par voie biologique et par photodégradation. Le bromoxynil a une durée de demi-vie assez courte dans le sol et l'eau. L'imazamox se photolyse rapidement mais sa biodégradation dans le sol est lente et fonction des caractéristiques du sol ; dans les sols acides, il est assez persistant.

- Le glufosinate et le glyphosate sont dégradés par voie biologique. La nature du sol et leur adsorption à la matière organique influence aussi largement leur cinétique de biodégradation.

Les études de laboratoire ont permis d'identifier une grande partie des produits de dégradation. Tous les herbicides étudiés donnent naissance à de nouveaux produits, parfois assez nombreux, car les produits de dégradation primaires sont souvent eux-mêmes dégradés et conduisent donc à des produits de dégradation secondaires et ainsi de suite. Le cas remarquable est celui du glyphosate dont le produit de dégradation primaire AMPA est relativement stable. Si les principaux produits de dégradation sont en général identifiés, en revanche l'étude de leurs propriétés n'est le plus souvent que très partielle. De nombreuses interrogations subsistent donc.

Les vitesses de dégradation des herbicides sont fonction du compartiment dans lequel il se trouve. Trois compartiments sont généralement considérés : sol, mélange eau-sédiment, eau. Les études sur sol menées en laboratoire se font avec des sols prélevés en conditions contrôlées (température, humidité), ce qui limite la variabilité des observations effectuées. Les échantillons de sol sont soit intacts si l'on souhaite conserver les caractéristiques de texture et de structure, soit remaniés pour diminuer la variabilité liée à l'hétérogénéité des échantillons. Le milieu aqueux est généralement de l'eau pure ou tamponnée afin de fixer la forme ionique dans laquelle l'herbicide se trouve. Les mélanges eau-sédiments sont réalisés à partir de mélanges eau/sol ou sédiment. Dans le sol, il peut se produire de la biodégradation et de l'hydrolyse, éventuellement un peu de photolyse à la surface. Dans les eaux de surface, traitées en tant que système eau-sédiment, la biodégradation par les micro-organismes fixés sur les particules, l'hydrolyse, et la photolyse sont les trois phénomènes possibles.

#### 4.2.4.3. Persistance (cf tableau 4-4)

Les réactions de transformation vont limiter la persistance des herbicides et donc leurs transferts vers les milieux aquatiques. Ce sont alors les produits de transformation qui seront susceptibles de rejoindre les eaux de surface et les eaux souterraines. Les expériences de laboratoire permettent d'estimer le temps au bout duquel la concentration de l'herbicide est réduite de moitié ( $DT_{50}$ ) dans des conditions contrôlées bien déterminées.

Persistance dans le sol : Sur la base des  $DT_{50}$  mesurées en laboratoire, on conclut que le bromoxynil et la cycloxydime sont très peu persistants, le tribénuron-méthyl et le glufosinate peu persistants, le glyphosate de peu persistant à persistant et le chlorsulfuron et l'imazamox de moyennement persistants à assez persistants. Les  $DT_{50}$  mesurées en plein champ sont souvent un peu plus faibles que celles mesurées en laboratoire, c'est-à-dire que les disparitions sont plus rapides lors des expérimentations aux champs que lors des expériences en laboratoire. Cela est vraisemblablement dû à la conjonction des différentes voies de dissipation au champ (dégradation, transferts verticaux en profondeur, etc.) et aux variations des conditions climatiques, température et humidité en particulier. Les deux approches, laboratoire et terrain, sont complémentaires.

Sur la base des  $DT_{50}$  mesurées en champs et en supposant que la cinétique de disparition des herbicides suit une loi du premier ordre, on peut par extrapolation évaluer la persistance des herbicides après pulvérisation. Ces estimations sont données Figure 4-3. TM, CD, GN et BX ont disparu de 90% un mois après la pulvérisation, CX et IM en février de l'année n+1 et GP en mai de l'année n+1. Dans le cas de GP, les  $DT_{50}$  étant très variables, nous avons retenu la valeur de 4 mois pour faire le calcul.

Persistance dans les systèmes eau-sédiments : Sur la base des valeurs de  $DT_{50}$ , on conclut que le tribénuron-méthyl et le glufosinate sont peu persistants, le chlorsulfuron, le bromoxynil et la cycloxydime sont moyennement persistants, le glyphosate de moyennement à assez persistant et l'imazamox de moyennement à très persistant. Ces mesures ont été réalisées à l'obscurité. Or, la photodégradation du bromoxynil, de la cycloxydime et de l'imazamox étant significative, on peut supposer que les  $DT_{50}$  sont surestimées et que les persistances seraient plutôt plus faibles dans les conditions naturelles que dans les conditions de laboratoire choisies.

L'ensemble des données (solubilité dans l'eau, adsorption sur la matière organique et transformation) peut être utilisée pour déterminer quels sont les herbicides ou les produits majeurs que l'on pourrait s'attendre à retrouver dans les milieux aquatiques (voir Figure 4-4). Pour les eaux de surface, il s'agit du glyphosate, du chlorsulfuron et de l'imazamox. L'AMPA, principal produit de dégradation du glyphosate, est aussi attendu. Pour les eaux souterraines, il s'agit du chlorsulfuron, de l'imazamox, de l'atrazine et de l'AMPA. Le même type d'analyse pourrait être fait avec les produits de dégradation si l'on possédait suffisamment d'informations sur eux.

**Figure 4-3.** Persistance des herbicides après traitement estimée sur la base des DT<sub>50</sub> mesurées en champ. On suppose que l'herbicide a disparu quand son pourcentage de transformation atteint 90%.

**DT<sub>50</sub> = temps pour une réduction de 50%**

| <b>Sol</b>                 | Tribénuron-méthyl<br>Cycloxydime<br>Bromoxynil<br>Glufosinate | Chlorsulfuron<br>Imazamox<br>Atrazine | Glyphosate       |
|----------------------------|---|---------------------------------------|------------------|
| DT <sub>50</sub> /labo     | < 20 j  | < 6 mois                              | 2 mois à 1 année |
| DT <sub>50</sub> /champ    | < 10 j  | < 3 mois                              | 1 j à 4 mois     |
| Présence possible jusqu'en | mai   | février (année N+1)                   | mai (année N+1)  |

**Si Traitement en avril**

**Figure 4-4.** Analyse des données (solubilité dans l'eau, adsorption sur la matière organique et transformation) et estimation des herbicides transférables dans les milieux aquatiques.

| Eaux de surface          | Solubilité dans l'eau | Adsorption | Transformation |
|--------------------------|-----------------------|------------|----------------|
| Glyphosate               |                       |            |                |
| Chlorsulfuron            |                       |            | + / ++         |
| Imazamox                 | +++                   |            |                |
| AMPA                     | +++                   |            | +              |
| <b>Eaux souterraines</b> |                       |            |                |
| Chlorsulfuron            | +++                   | +          | ++             |
| Imazamox                 | +++                   | ++         | ++             |
| Atrazine                 | +++                   | ++         | +              |
| AMPA                     | +++                   | ++         | +              |

produits

L'AMPA est le principal produit de dégradation du glyphosate.

### 4.3. Données sur la présence des herbicides étudiés dans les eaux de surface et souterraines

Patrick Mazellier, Claire Richard

#### **Encadré 4-3. Définition des termes utilisés en matière de suivi des molécules dans l'environnement**

*Fréquence de détection : pourcentage d'échantillons dans lesquels la présence de la molécule est certaine.*

*Fréquence de quantification : pourcentage d'échantillons dans lesquels la limite de quantification est dépassée.*

*Limite de quantification : concentration à partir de laquelle le laboratoire menant l'analyse peut indiquer avec certitude la concentration d'une substance. Cette limite est fonction des performances analytiques du laboratoire. Elle est variable d'une substance à une autre et pour une même substance entre deux laboratoires.*

#### Tribénuron-méthyl dans les eaux de surface et souterraines

Un programme de recherche développé en Suède a eu pour objectif de suivre sur une période de 9 ans (1998-2006), la contamination aux sulfonyle-urées des eaux de surface situées dans une zone de cultures intensives où 536 échantillons ont été prélevés. TM qui était l'herbicide le plus utilisé (sur 16 à 33% des zones cultivées) n'a été retrouvé que dans 7% des cas et à des concentrations comprises entre 0,005 et 0,07 µg/l. Très occasionnellement, la valeur de 0,12 µg/l a été atteinte (Kreuger & Adielsson, 2008). D'autres études ne font état d'aucune détection (Spliid & Køppen, 1998).

#### Chlorsulfuron dans les eaux de surface et souterraines

CS fait partie des herbicides régulièrement suivis dans l'environnement. Plusieurs études montrent qu'il n'est pas ou très peu détecté (DASS, 2009) (Spliid & Køppen, 1998) (Battaglin et al., 2000) (Carabias-Martinez R et al., 2000).

#### Cycloxydime dans les eaux de surface et souterraines

CD ne fait pas partie des herbicides suivis dans le milieu naturel.

#### Bromoxynil dans l'environnement

En France, BX n'est pas détecté (DASS, 2009) dans le milieu aquatique comme en Allemagne. Des études au Canada font état de concentrations moyennes pouvant cependant atteindre 0,27-0,33 µg/l dans les étangs ou les fossés (Grover et al., 1997), et jusqu'à 0,5 µg/l dans les eaux souterraines (Miller et al., 1995).

*Remarque :* BX est retrouvé dans l'air. Une étude canadienne dans des zones très agricoles a montré que BX, qui était à l'époque un des herbicides le plus utilisé, pouvait atteindre des concentrations dans l'air de 0,8 ng/m<sup>3</sup> (Yao et al., 2006). Les échantillons collectés sur 3 sites conduisaient au même résultat, suggérant un certain transport de cet herbicide.

#### Glufosinate dans les eaux de surface et souterraines

GN fait partie des pesticides recherchés dans le suivi de la qualité des eaux en France. A notre connaissance, ce pesticide est peu détecté (SOeS, 2010). Une étude réalisée en Espagne avait également conduit à une absence de détection de GN (Ibanez et al., 2005).

#### Imazamox dans les eaux de surface et souterraines

IM ne fait pas partie des composés phytosanitaires recherchés dans les ressources en eau. Il n'existe d'ailleurs aucun laboratoire accrédité en France pour la détermination de IM dans les différentes matrices (COFRAC, 2011).

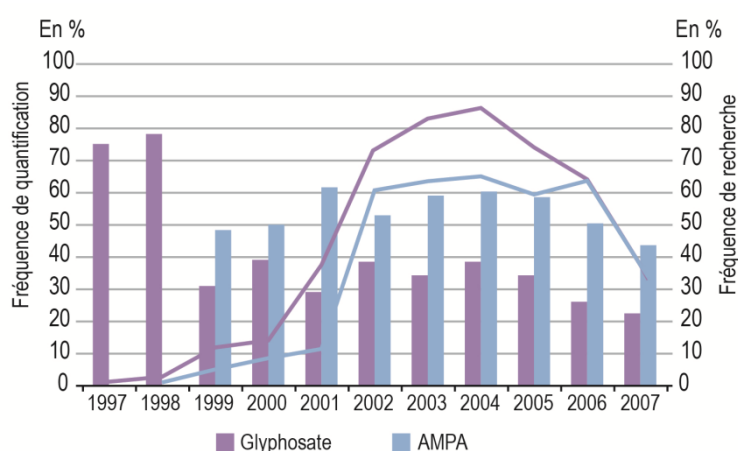
A défaut de données sur le territoire français, on trouve des exemples à l'étranger. Ainsi, une étude américaine a eu pour objectif de suivre des imidazolinones et des sulfonyle-urées dans les milieux aquatiques qui sont utilisées à très faibles doses du fait de leur grande efficacité (25 g/ha). Dans les 11 Etats américains concernés, il s'est

vendu en 1998 1 100 tonnes de sulfonyle-urées et d'imidazolinones contre par exemple 20 000 t d'atrazine et de métalochlor. Les analyses de 212 échantillons issus de 75 eaux de surface et 25 eaux souterraines ont permis de détecter au moins une des sulfonyle-urées ou des imidazolinones suivies à des concentrations variant entre 0,01 et 0,1 µg/l (Battaglin et al., 2000).

Une autre étude, cette fois au Brésil, a montré que l'imazéthapyr et l'imazapic, tous deux utilisés sur des cultures de riz résistantes à ces herbicides sont retrouvés dans les eaux de surface à des concentrations atteignant 0,2 µg/l (Souza Caldas et al., 2011).

#### Glyphosate et AMPA dans les eaux de surface et souterraines

Le glyphosate et son produit de dégradation l'AMPA sont régulièrement détectés dans les eaux superficielles, mais leur fréquence de quantification dans les cours d'eau est plutôt stable de 2002 à 2005, et semble diminuer légèrement depuis 2007 (SOeS, 2010) (Figure 4-5). L'AMPA est, en 2007, la substance la plus souvent détectée dans les cours d'eau ; le glyphosate se situe en troisième position. Les concentrations relevées, aussi bien pour le glyphosate que pour son métabolite, sont assez importantes, souvent plus de 0,1 µg/l en moyenne annuelle et tout particulièrement en région Île-de-France et le long du Rhône.



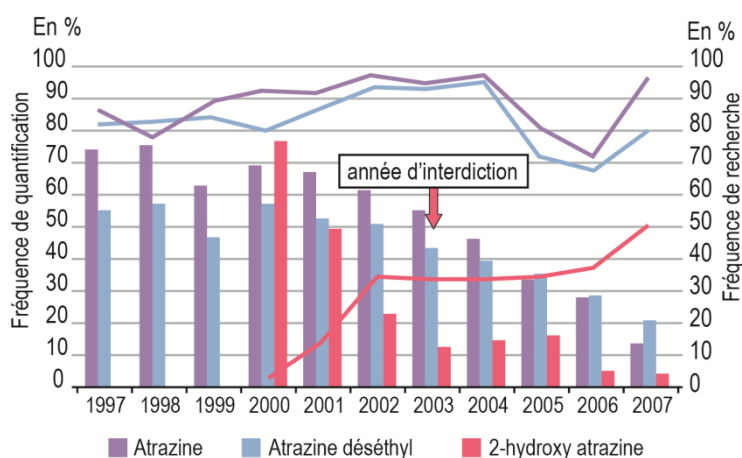
**Figure 4-5.** Evolution de la quantification du glyphosate et de l'AMPA dans les cours d'eau entre 1997 et 2007. (SOeS, 2010)

Dans les eaux souterraines, l'AMPA est très souvent recherché mais peu souvent quantifié (1,7 %) (SOeS, 2010).

N.B. : fréquence de quantification en diagramme à bâtons et fréquence de recherche en courbe.

#### Atrazine et ses produits de dégradation dans les eaux de surface et souterraines

Malgré son interdiction en 2003, l'atrazine et l'un de ses produits de dégradation, notamment la déséthyl-atrazine, sont encore souvent quantifiées dans les eaux de surface (SOeS, 2010). L'évolution de la quantification de l'atrazine et de ses métabolites au cours des années est donnée dans la Figure 4-6.



**Figure 4-6.** Evolution de la quantification de l'atrazine et de ses métabolites dans les cours d'eau entre 1997 et 2007 (SOeS, 2010)

N.B. : fréquence de quantification en diagramme à bâtons et fréquence de recherche en courbe.

Pour l'atrazine, les concentrations dans les eaux de surface restent le plus souvent inférieures à 0,05 µg/l en moyenne annuelle. Seule la région Île-de-France présente des concentrations plus importantes, pouvant aller jusqu'à près de 0,5 µg/l en 2007, notamment en Seine-et-Marne. Les concentrations sont plus importantes pour le métabolite que pour la molécule mère, interdite depuis 2003 (SOeS, 2010).

En ce qui concerne les eaux souterraines, la déséthyl-atrazine est quantifiée à près de 43% et l'atrazine à 27%. La désisopropyl-atrazine l'est à 6,7%. La déséthyl-atrazine et l'atrazine sont les 2 molécules les plus quantifiées. Pour ce qui est des concentrations moyennes, la déséthyl-atrazine est également la molécule qui présente les concentrations les plus élevées, avec 12% des stations présentant une concentration moyenne supérieure à 0,1 µg/l et plusieurs points dépassant 0,5 µg/l. L'ensemble du territoire est touché, à l'exception du sud du Massif central, des massifs des Alpes et des Pyrénées où le maïs n'est pas cultivé. C'est toutefois dans le grand bassin parisien que les concentrations élevées sont les plus fréquentes. La contamination par l'atrazine est moindre que celle de la déséthyl-atrazine, mais elle est aussi largement répandue avec environ 13% des stations présentant des concentrations moyennes entre 0,03 et 0,1 µg/l, en 2007, localisées sur presque l'ensemble du territoire. Toutefois, près de 70% des points ne montrent pas de quantification (SOeS, 2010).

La détection des herbicides dans l'environnement est à mettre en regard des quantités vendues en France (voir Tableau 4-1, données issues de la base fournie par l'ONEMA). Le glyphosate est de loin l'herbicide le plus vendu. Cela explique en partie sa fréquente détection ou celle de son métabolite dans les milieux aquatiques.

**Tableau 4-1.** Quantités vendues d'herbicides en France par année depuis 2008. (ONEMA, 2011).

| Molécule               | 2008<br>(kg) | 2009<br>(kg) | 2010<br>(kg) |
|------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Tribénuron-méthyl (TM) | 8643         | 9837         | 9727         |
| Chlorsulfuron (CS)     | 56           | 55           | 30           |
| Cycloxydime (CD)       | 15640        | 23455        | 31822        |
| Bromoxynil (BX)        | 63358        | 25871        | 21764        |
| Glufosinate (GN)       | 104700       | 104995       | 159748       |
| Imazamox (IM)          | 3756         | 6516         | 12445        |
| Glyphosate (GP)        | 7923657      | 6243837      | 7054755      |



## 4.4. Outils de suivi et de prévision

Patrick Mazellier, Claire Richard

### 4.4.1. Présentation des différentes méthodes

Il existe différentes méthodes d'évaluation des risques environnementaux liés à l'utilisation des pesticides (Mamy et al., 2008a). Les plus simples reposent sur la comparaison du nombre de pesticides ou des doses appliqués, de la mobilité et de la persistance des pesticides. D'autres méthodes plus complexes donnent des informations qualitatives (indice GUS, indicateur I-Phy) ou quantitatives (modèles numériques : PRZM, USES). Ces méthodes constituent une alternative aux mesures *in situ* qui sont coûteuses, contraignantes et affectées d'une grande variabilité en fonction des conditions agropédologiques (Reus et al., 2002) (Calvet et al., 2005), même si elles ne les remplacent pas.

• **L'indicateur de fréquence de traitement (IFT)** permet de suivre l'évolution des consommations de pesticides par culture ou par catégorie de produits. L'IFT d'une parcelle est calculé par la formule :

$$IFT_{\text{parcelle}} = \sum_T \frac{DA_T}{DH_T}$$

où  $DA_T$  est la dose appliquée par hectare pour le traitement T et  $DH_T$  est la dose homologuée pour le même traitement T (c'est-à-dire la dose efficace d'application du produit sur la culture pour l'organisme ciblé). L'IFT correspond à la somme des traitements effectués sur la parcelle. Il est calculé sur la base des enquêtes de pratiques culturales et à partir des doses homologuées (Pingault, 2007). A titre d'exemple, une même valeur d'IFT de 1 sera obtenue pour un traitement à 1 kg/ha avec un herbicide homologué à cette dose et pour un traitement à 50 g/ha avec un autre herbicide homologué à cette autre dose, beaucoup plus faible. Les 2 traitements paraîtront équivalents en termes d'IFT, alors qu'ils ne le sont pas d'un point de vue environnemental. La quantité d'intrant est beaucoup plus faible dans le deuxième cas que dans le premier. Cependant, si le deuxième herbicide est beaucoup plus toxique que le premier, la pression exercée sur le milieu et les risques pourront être les mêmes voire pire dans le deuxième cas que dans le premier (Bonny, 2008).

• **Le nombre de doses unitaires (NODU)** est égal à la somme des quantités totales de matières actives vendues rapportée à la dose unitaire homologuée spécifique de la matière active.

L'IFT et le NODU permettent de comparer les doses appliquées, le nombre de matières actives utilisées ou la fréquence de traitement. Ils sont mis en avant dans le cadre du Plan ECOPHYTO 2018 pour évaluer et suivre les efforts dans la diminution de l'usage des pesticides en agriculture. En revanche, ils ne renseignent pas sur l'importance des impacts potentiels car ils ne prennent pas en compte les caractéristiques physico-chimiques et la toxicité des produits utilisés.

• **La mobilité et la persistance** sont également deux paramètres essentiels dans l'évaluation des risques. Plus la valeur du  $K_d$  ou du  $K_{oc}$  est grande, plus l'adsorption du pesticide est importante, plus sa mobilité est faible et moins les risques de contamination des eaux souterraines seront élevés. Cependant, lorsque l'adsorption est élevée, des phénomènes de mobilisation par transfert particulaire entraînant l'herbicide vers les milieux aquatiques sont tout à fait possibles. La mesure de la persistance est également une donnée importante. Elle nécessite l'étude de la dégradation des pesticides, l'un des processus clés du devenir des pesticides dans les sols, puisqu'il influence fortement leur dissipation et leur élimination des milieux naturels. La dégradation peut conduire à la formation de produits de dégradation dont il faut tenir compte. Par exemple, le désherbage exclusif ou intensif utilisant du glyphosate, dans le cas d'introduction des cultures tolérantes, peut entraîner l'accumulation de son métabolite, l'AMPA.

La combinaison des paramètres de rétention et de dégradation peut ainsi être utilisée pour évaluer les risques de contamination des eaux souterraines.

• **L'indice GUS (Groundwater Ubiquity Score)** (Gustafson, 1989) classe les pesticides par rapport à leur aptitude à être transférés vers les eaux souterraines. Il a été établi en confrontant des mesures de concentrations en pesticides dans les eaux, obtenues *in situ*, aux  $K_{OC}$  et  $DT_{50}$  des molécules. C'est donc un indice qui nécessite la connaissance des  $DT_{50}$  et des  $K_{OC}$  :

$$GUS = \log DT_{50} [4 - \log (K_{OC})]$$

Les pesticides présentent un risque de contamination des nappes élevé pour  $GUS > 2,8$  et un risque de contamination des nappes faible pour  $GUS < 1,8$ .

A partir des valeurs de  $DT_{50}$  et des valeurs de  $K_{OC}$  relevées dans la bibliographie, nous avons calculé les indices GUS pour les huit herbicides étudiés dans ce rapport, présentés dans le tableau 4-2.

**Tableau 4-2.** Calcul des indices GUS

| Molécule               | $DT_{50}$ dans le sol<br>(en jours) | $K_{OC}$<br>(mg/l) | GUS       |
|------------------------|-------------------------------------|--------------------|-----------|
| Tribénuron-méthyl (TM) | 5-20                                | 10-74              | 1,5-3,9   |
| Chlorsulfuron (CS)     | 6,7-232                             | 13-54              | 2,38-5,36 |
| Cycloxydime (CD)       | 1                                   | 59                 | 0         |
| Bromoxynil (BX)        | 1                                   | 108-239            | 0         |
| Glufosinate (GF)       | 11                                  | 10-1500            | 0,86-3,15 |
| Imazamox (IM)          | 12-207                              | 2-374              | 1,54-8,5  |
| Glyphosate (GP)        | 3-45                                | 300-59000          | -0,36-2,5 |
| Atrazine               | 28-150                              | 100                | 2,89-4,35 |

Il apparaît que les molécules peu persistantes (CD, BX) ou s'adsorbant fortement (GP) présentent un risque faible de contaminer les eaux souterraines. A l'opposé, IM est susceptible de contaminer les eaux souterraines si le sol est acide car sa dégradation devient faible. Pour CS et aussi TM dans une moindre mesure, le résultat dépend de  $DT_{50}$  et donc du pH du sol. Ils n'atteindront les nappes souterraines qu'en milieu basique. Enfin, l'atrazine présente un risque de contamination élevé, ce qui est conforme aux observations *in situ* (cf. 4.3).

Cet indice GUS a de nombreuses limites. D'une part, il se base sur des grandeurs qui sont très dépendantes de la nature du sol et qui sont souvent assorties d'une incertitude importante. Les variations se situent aussi bien sur les  $DT_{50}$  que sur les  $K_{OC}$ . D'autre part, l'indice GUS ne tient pas compte du transport des pesticides, des propriétés du milieu ou des divers autres phénomènes susceptibles de se produire (Mamy et al., 2008a).

• **L'indicateur I-Phy** permet d'évaluer les impacts potentiels des produits phytosanitaires sur différents compartiments de l'environnement (Bockstaller, 2004). La construction de I-Phy repose sur l'hypothèse que l'impact d'un pesticide dans l'environnement dépend de la quantité de produit, de la dispersion hors de la parcelle par dérive, volatilisation, ruissellement ou lixiviation et de la toxicité du produit sur divers organismes cibles (Van der Werf & Zimmer, 1998). I-Phy est donc composé de quatre modules : "Dose", "Risques de contamination des eaux souterraines" (Reso), "Risques de contamination de l'eau de surface" (Resu) et "Risques de contamination de l'air" (Rair).

L'utilisation de ce type d'indicateur doit être bien circonscrite en relation avec les hypothèses et les objectifs utilisés pour son élaboration. En particulier, les facteurs de milieu ne sont pas explicitement pris en compte, ce qui sans doute est à l'origine d'une partie de l'incertitude sur les sorties. De plus, I-Phy ne permet pas de réaliser des évaluations à long terme puisqu'il ne considère qu'une saison culturale. L'utilisation de modèles numériques permet d'intégrer ces points (Mamy et al., 2008a).

• **L'indicateur EIQ** (quotient d'impact environnemental) permet à l'instar de l'indicateur I-Phy de mesurer l'impact environnemental des pesticides. Il intègre dans son calcul l'effet toxique des pesticides sur les cibles potentielles (agriculteur, consommateur, faune), la durée de demi-vie des pesticides, leur aptitude au transfert et les quantités de pesticides utilisées. Chacune des données est représentée par un nombre compris entre 1 et 5 (la valeur de 1 correspond au moins toxique ou au moins dangereux, et la valeur de 5 au plus toxique ou au plus dangereux). Chaque pesticide se voit alors affecté d'une valeur EIQ. Plus cette valeur est faible, moins le pesticide présente de risque. Généralement, la valeur EIQ est ensuite pondérée par la dose de pesticide utilisée à l'hectare. Par

exemple, le glyphosate a un EIQ de 15,33 et un EIQ au champ de 13,7 pour une dose d'utilisation de 1 kg/ha. Le tribénuron-méthyl présente un EIQ de 17,2 et un EIQ au champ de 0,4 pour une dose d'utilisation de 25 g/ha.

• **Les modèles numériques** sont des outils permettant de décrire les transferts de pesticides dans les différents compartiments de l'environnement. Ils prennent en compte un maximum de paramètres : les conditions environnementales et hydrologiques, les propriétés chimiques et les pratiques agronomiques (Calvet et al., 2005). Il existe plusieurs modèles, qui diffèrent par le nombre de phénomènes décrits et les approximations introduites. Ils permettent d'évaluer le transfert potentiel des pesticides et de leurs produits de dégradation vers les eaux souterraines et les eaux de surface. Certains sont utilisés dans les dossiers d'homologation. A partir des concentrations environnementales prévisibles (PEC) fournies par les modèles, il est possible d'estimer les TER (voir § 4-1-4) et donc les impacts sur les organismes de référence considérés. Ces modèles constituent une première approche mais ils ne peuvent remplacer les mesures de terrain dans le temps qui permettent de mieux évaluer l'impact toxicologique réel des molécules.

#### 4.4.2. Evaluations des concentrations environnementales par les modèles numériques

Dans le cadre des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché des pesticides, il est nécessaire d'évaluer les concentrations (PEC) en pesticides dans le sol, les eaux souterraines et les eaux de surface.

Pour le tribénuron-méthyl (EFSA, 2004), en supposant une dose d'application de 30 g/ha, une  $DT_{50}$  de 26 jours et une cinétique de dégradation d'ordre 1, une eau de surface (système eau-sédiment) située à 1 m de la zone d'application de l'herbicide et une contamination par dérive uniquement, la concentration en herbicide dans l'eau serait de 0,25 µg/l au bout de 4 jours et de 0,083 µg/l au bout de 42 jours. Avec ces mêmes hypothèses et en utilisant la  $DT_{50}$  des métabolites dans les systèmes eau-sédiments, la concentration du produit de dégradation TM1 serait de 0,046 µg/l, celle de TM2 de 0,091 µg/l et celle de TM3 de 0,041 µg/l au bout de 4 jours.

Pour évaluer la contamination en tribénuron-méthyl des eaux souterraines, les modèles numériques FOCUS-PRZM, FOCUS-PEARL et FOCUS PELMO ont été utilisés en considérant une dose d'application de 30 g/ha au printemps et 15 g/ha à l'automne, des  $DT_{50}$  et des  $K_{OC}$  moyens. Dans ces conditions, TM est susceptible d'être retrouvé dans les eaux souterraines à la limite de 0,1 µg/l. Cette valeur n'est dépassée que dans 5 des 9 scénarios agro-pédo-climatiques étudiés, avec une valeur maximale de 0,47 µg/l en conditions alcalines et avec une application automnale. En revanche, ce seuil n'est jamais dépassé dans les conditions simulant des sols non alcalins et une application de printemps. Ces prévisions sont assez conformes aux données de suivis (EFSA, 2004). Pour déterminer si TM présente un danger pour la faune et la flore, il reste à calculer les rapports TER. Par exemple pour les plantes aquatiques, la  $CE_{50}$  est de 2,5 µg/l à l'égard de *Lemna Gibba* alors que la PEC peut atteindre 0,25 µg/l. TER n'est donc que de 10 et le danger pour ces espèces est réel.

Concernant le chlorsulfuron, les scénarios "pire cas" montrent que les concentrations pourraient atteindre le seuil de 0,1 µg/l dans les eaux souterraines. Dans les eaux de surface, les concentrations varieraient entre 2,48 et 6,12 µg/l (EFSA, 2008). Avec une PEC moyenne de 4 µg/l et une  $CL_{50}$  de 0,45 µg/l à l'égard de *Lemna Gibba*, le TER n'est que de 0,11. Le danger est donc potentiellement très grand pour cette espèce.

Pour la cycloxydime (EFSA, 2010), en utilisant le modèle FOCUS-PEARL, il apparaît que le risque de retrouver la cycloxydime ou ses métabolites dans les eaux souterraines à un seuil supérieur à 0,1 µg/l est faible. Pour ce qui est des eaux de surface, une simulation basée sur 2 applications de 600 g/ha sur pommes de terre espacées de 28 jours, une  $DT_{50}$  dans le sol de 1 jour et une  $DT_{50}$  de 20,8 jours dans les systèmes eau-sédiment conduit à une concentration de cycloxydime pouvant atteindre 6,5 µg/l dans les ruisseaux avoisinants. La photolyse de la cycloxydime n'est pas prise en compte dans ce scénario. Etant donné qu'elle est assez rapide, ce résultat est vraisemblablement très conservateur. Cependant, les valeurs de  $CE_{50}$  étant assez élevées, les TER sont grands.

Les valeurs de PEC dans les eaux de surface ont été évaluées pour le glufosinate et ses 4 produits de dégradation (EFSA, 2005) sur la base d'un scénario correspondant à l'application recommandée (1,5 et 1,0 kg/ha avec un intervalle de 30 jours entre les deux applications,  $DT_{50}$  de 13 jours pour GN, 150 jours pour MPP, contamination par dérive). Les valeurs initiales obtenues sont 0,039 mg/l pour le glufosinate et 0,024 mg/l pour MPP ; à 7 jours, 0,027 mg/l pour GN et 0,023 mg/l pour MPP (EFSA, 2005). Dans le cas de l'utilisation des formulations représentatives, les PEC eaux de surface initiales sont évaluées à 0,015 µg/l (EFSA, 2005). La contamination des eaux souterraines serait possible par MPP, un des produits de dégradation du glufosinate,

selon les simulations réalisées avec le modèle FOCUS-PELMO 1.1.1. Ce produit de dégradation n'est pas suivi. Des TER <10 sont obtenus pour les oiseaux qui seraient donc les espèces les plus en danger du fait de la présence de glufosinate.

#### **4.4.3. Utilisation des indicateurs pour comparer l'impact environnemental des cultures tolérantes et des cultures conventionnelles**

Comme il est expliqué au chapitre 3, établir une comparaison entre culture conventionnelle et culture TH au niveau des quantités d'herbicides utilisées n'est pas aisé. Cela dépend en particulier des herbicides associés aux TH utilisés, des herbicides remplacés, des pratiques culturales adoptées et des conditions au champ (Bonny, 2008).

Les cultures TH peuvent conduire à un gain environnemental si pour un même résultat les herbicides utilisés sur cultures TH sont plus efficaces et donc utilisés à plus faibles doses que les herbicides utilisés sur cultures conventionnelles tout en ayant un profil écotoxicologique acceptable. Par exemple, les sulfonyle-urées et les imidazolinones ne sont employées qu'à 25 g/ha alors qu'ils présentent des EIQ/g équivalents aux autres. Donc, l'emploi de ces herbicides peut permettre une réduction de l'EIQ/ha, toutes choses égales par ailleurs. Cependant :

- ces facteurs EIQ sont loin de prendre en compte tous les paramètres d'évaluation des risques et leur fiabilité reste à démontrer. Par exemple, l'impact potentiel des produits de transformation n'est pas assez pris en compte (Mamy et al., 2008a) ;
- la réduction des quantités d'herbicides utilisés n'est pas certaine si le nombre de traitements doit être au final augmenté (cf. Chapitre 3).

Pour mesurer l'évolution de l'impact environnemental qui accompagne le passage culture conventionnelle-culture TH, des données de terrain sont nécessaires. Les seules données disponibles globalisent les informations recueillies sur des systèmes de culture très différents mais apportent cependant un certain éclairage sur la question (Brookes & Barfoot, 2011). Cette revue consigne les informations collectées entre 1996 et 2009. Pour tenir compte du fait que les cultures conventionnelles sont réalisées dans des conditions plus favorables que les cultures TH, les auteurs ont appliqué un coefficient qui augmente les quantités d'herbicides utilisés sur cultures conventionnelles. Moyennant ceci, ils concluent que, d'une façon générale, les cultures TH conduisent à une baisse de l'EIQ. Sur les cultures de soja, en données cumulées et corrigées, cette baisse atteint 26% (données USA). Des résultats du même ordre de grandeur sont obtenus pour le maïs. Dans le cas du coton, l'EIQ n'est réduit que de 6,2%. A noter que l'EIQ a bien baissé sur les premières années mais qu'il remonte depuis 2001 (Bonny, 2011; Brookes & Barfoot, 2011).

Dans les publications ou les travaux comparant cultures conventionnelles et cultures TH, le glyphosate est généralement utilisé en remplacement des autres herbicides. Se pose donc le problème de l'AMPA, son métabolite. Ce composé est persistant, il pourrait donc s'accumuler dans le sol puis finir par migrer dans les eaux souterraines, or il présente une toxicité supérieure à celle du glyphosate. Le travail de Mamy (2008) montre que de ce fait, le bénéfice environnemental de l'utilisation des cultures TH ayant recours au glyphosate se réduit lorsque l'on augmente la quantité des paramètres pris en compte.

En résumé, l'étude bibliographique réalisée par Mamy et al. (Mamy et al., 2008a) montre que les méthodes simples comme l'IFT ne permettent qu'une évaluation très limitée des risques. Elles donnent des indications sur l'intensité du recours aux pesticides, mais elles ne fournissent pas une évaluation des risques environnementaux (Calvet et al., 2005) et sont totalement déconnectées des propriétés des molécules et des milieux.

La caractérisation de la mobilité et de la persistance permet de tenir compte des caractéristiques des sols. Cependant, ces paramètres n'intègrent pas les variables agro-climatiques. Ils sont utiles dans la mesure où ils permettent de classer les polluants relativement les uns par rapport aux autres, et de classer les milieux selon leur vulnérabilité (Calvet et al., 2005) .

Les méthodes qualitatives telles que les indices (GUS) ou les indicateurs (I-Phy) considèrent quelques variables de l'environnement et donnent accès à un classement relatif de l'impact potentiel des pesticides sur certains compartiments de l'environnement. L'indice GUS permet de mettre en évidence l'effet du sol, mais reste peu précis car il est uniquement basé sur deux caractéristiques des pesticides ( $DT_{50}$ ,  $K_{OC}$ ) qui sont souvent connues

avec peu de précision, et il ne tient pas compte du transport des pesticides. L'indicateur I-Phy est basé sur une représentation très simplifiée des transferts, mais il permet d'intégrer certaines données agro-pédo-climatiques et techniques.

Les méthodes quantitatives nécessitent l'utilisation de modèles numériques. Elles conduisent à une estimation à long terme des flux et concentrations en pesticides dans l'environnement. Ces modèles prennent en compte la durée et la variabilité climatique et pédologique. Ils peuvent permettre d'identifier des sols ou systèmes de culture à risques. Les modèles présentent néanmoins des limites dues à la description des processus, à la connaissance des milieux et des limites relatives aux modalités de mise en œuvre des modèles. D'autre part, les prévisions de ces modèles concernant les évolutions à long terme des contaminations à des échelles larges restent encore soumises à des incertitudes importantes. Il existe par ailleurs très peu de données pour traiter la question de la part relative des pollutions ponctuelles et diffuses (Aubertot et al., 2005).

Les données et méthodes disponibles montrent que les cultures TH ont permis jusqu'à présent une réduction de l'impact environnemental calculé par l'indicateur EIQ.

## 4.5. Les résidus d'herbicides dans les végétaux

Yves Dessaux

La question des résidus de traitement phytosanitaires est une question centrale en agriculture, et au-delà, pour l'environnement et la santé. Conformément au cahier des charges, cette section ne traite que des résidus dans les végétaux, sans inclure de considérations toxicologiques, situés hors cadre de cette expertise.

Dans le cas des VTH, la question des résidus est également centrale car ces variétés sont, par définition et par destination, amenées à être soumises à un traitement herbicide. Compte tenu des mécanismes de tolérance, une hypothèse était que le devenir de ces molécules pourrait différer selon que l'on se trouve en présence d'une variété tolérante par détoxification (donc par métabolisme de l'herbicide) et ou d'une variété tolérante par résistance de cible. Cette hypothèse n'a pu être évaluée, car la question de l'accumulation des herbicides dans les végétaux traités (aussi appelée bioaccumulation) n'a pu faire l'objet d'une analyse bibliographique approfondie. La première raison est qu'il existe très peu de données issues de littérature scientifique sur ce sujet. En effet, la très grande majorité des travaux concernant les résidus d'herbicides, eux fort nombreux, ont porté soit sur la mise au point de techniques de détection, soit sur l'évaluation de ces résidus dans les ressources eau et sol. De plus, lorsque des résidus ont été recherchés sur feuilles ou sur graines, les végétaux cibles n'étaient pas systématiquement des variétés tolérantes aux herbicides. La deuxième raison est que les instances validant l'usage d'un herbicide sur une espèce cultivée disposent possiblement de ces données, mais qu'elles ne sont pas facilement accessibles, y compris à l'étranger auprès d'agences gouvernementales telles que l'EPA (*Environmental Protection Agency*) ou l'APHIS (*Animal and Plant Health Inspection Service*). En revanche, des données concernant les résidus d'herbicides présents dans différents types d'aliments sur leurs lieux de vente sont, elles, disponibles auprès de la FDA (*Food and Drug Administration*) aux USA, ou auprès des Ministères concernés en France. Ces données n'ont pas été exploitées car elles relèvent de considérations essentiellement toxicologiques qui dépassent le cadre de ce rapport.

En France, une partie des données relatives aux résidus d'herbicides dans les plantes, post-traitement, peut être trouvée auprès de l'AFSAA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), devenue depuis l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail). Cette agence fournit des avis relatifs à la teneur en pesticides des aliments, mais aussi à la mise sur le marché de ces molécules. Ces avis synthétisent les études confidentielles réalisées à ce sujet. L'accès direct aux études n'étant pas possible, l'expert ne peut garantir ni l'exactitude, ni l'exhaustivité des valeurs présentées ci-dessous. Par ailleurs, ces valeurs sont la résultante de plusieurs phénomènes, le premier étant la bioaccumulation au sens strict (c'est-à-dire l'internalisation de l'herbicide dans les tissus de la plante), le second la persistance de l'herbicide à la surface des végétaux où il peut subir une dégradation physique, chimique, ou biologique (voir Chapitre 4).

Enfin il est utile de préciser :

- que les avis cités ci-dessous par classe d'herbicides concernent l'usage d'herbicides sur une ou plusieurs variétés végétales, sans que ces variétés soient revendiquées comme tolérantes aux herbicides ;
- que les limites maximales de résidus (LMR) ne sont en aucun cas des normes toxicologiques. Pour conserver une cohérence avec les données présentées dans la section 2.1, les informations disponibles sur la bioaccumulation sont présentées ci-dessous par classe d'herbicides.

### 4.5.1. Examen des résidus détectés, par classe HRAC

#### 4.5.1.1. Herbicide de classe A

Des études sur le riz ont été réalisées pour obtenir le renouvellement d'autorisation de mise sur le marché de préparations à base de cyhalofop-butyl. Le résidu dans le riz est défini comme la somme du cyhalofop-butyl et de ses acides libres, exprimée en cyhalofop-butyl. Les bonnes pratiques agricoles (BPA) revendiquées sur riz sont d'une application à la dose de 300 g/ha de cyhalofop-butyl, avec un délai avant récolte (DAR) de 90 jours. Dans les huit essais menés sur le riz, les niveaux de résidus mesurés sont restés inférieurs à 0,01 mg/kg, respectant la limite maximale de résidus (LMR) en vigueur de 0,02 mg/kg (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2010b).

#### 4.5.1.2. Herbicides de la classe B

En ce qui concerne les tolérances aux inhibiteurs d'ALS chez le colza, le soja et le tournesol, plusieurs avis de l'AFSSA sont disponibles. Ainsi, des recherches de résidus sur tournesol, conduites dans le nord et le sud de l'Europe, aboutissent à la caractérisation de niveaux d'imazamox maximaux inférieurs à 0,05 mg/kg dans les graines lors d'applications respectant les bonnes pratiques agricoles (BPA). Les BPA revendiquées permettent également de respecter la LMR de 0,05 mg/kg pour le soja (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009a).

En ce qui concerne les sulfonyle-urées, les niveaux de résidus de tribénuron-méthyle mesurés dans les graines de tournesol et la distribution des résultats dans les essais confirment que les BPA revendiquées sur tournesol permettent de respecter la LMR européenne en vigueur (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009b). Pour le metsulfuron-méthyle, les niveaux de résidus observés dans les grains de céréales au cours de huit études se sont établis à des valeurs inférieures à 0,003 mg/kg, respectant ainsi la LMR de 0,05 mg/kg. Des résultats identiques ont été obtenus pour le thifensulfuron-méthyle (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2010a).

Pour le prosulfuron, l'AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2008a) indique que *"des études de métabolisme sur maïs ainsi que chez l'animal ont été évaluées dans le dossier européen [note : dossier d'AMM]. Une étude de résidus sur ces cultures montre qu'aucun résidu en quantité significative (> 0,01 mg/kg) n'est retrouvé dans ces cultures (cultures feuille, fruit ou racine). Le niveau de résidus obtenu dans ... [42 nouveaux essais] ... sur maïs est inférieur à la limite de quantification (0,02 mg/kg) et n'entraîne pas de dépassement de la limite maximale de résidus (LMR) européenne. Par conséquent, la répartition des niveaux de résidus dans les essais confirme que les bonnes pratiques agricoles proposées en France (15 g sa/ha – délai avant récolte (DAR) de 60 jours pour le fourrage de maïs, 90 jours pour les grains de maïs et 42 jours pour le maïs doux) assurent le respect de la LMR européenne de 0,02 mg/kg et l'usage est donc acceptable"*.

Dans le cas du nicosulfuron, six essais résidus ont été réalisés sur maïs (3 dans le nord et 3 dans le sud de l'Europe) en conformité avec les BPA (1 application à la dose de 60 g/ha et 1 application à la dose de 45 g/ha de nicosulfuron). Les résultats de ces essais montrent que ce type d'application permet de respecter la LMR du nicosulfuron de 0,1 mg/kg (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2008b). Cependant, ce dossier précise que *"dans l'éventualité d'un arrêt prématuré de la culture, seule une céréale d'hiver peut être semée en remplacement car cet usage est couvert par l'usage maïs défendu dans la monographie du nicosulfuron. Aucune autre culture ne peut être semée avant le printemps suivant où les résidus dans le sol de nicosulfuron et de ses métabolites seront devenus inférieurs à 0,001 mg/kg"*.

#### 4.5.1.3. Herbicides de la classe C

L'avis de l'AFSSA sur l'ioxynil (nitrile de la classe C3) indique que 18 essais, conduits dans le nord (8 essais) et dans le sud (10 essais) de l'Europe, ont été réalisés sur oignon, espèce naturellement résistante, conformément aux BPA, à savoir 1 application à la dose de 2,5 l/ha de préparation, soit 562,5 g/ha de substance active, avec un DAR de 7 jours. Cet avis indique que *"les niveaux de résidus mesurés dans l'oignon [...] confirment que les BPA revendiquées permettront de respecter la limite maximale de résidus (LMR) européenne de 0,2 mg/kg pour l'oignon"* (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009c). Des résultats analogues ont été obtenus avec l'oignon de printemps et le poireau, traités dans les mêmes conditions, et pour lesquels les résidus détectés sont inférieurs à la LMR européenne de 3 mg/kg.

Les travaux de Cessna (1984) portant sur les triticales au stade 3/4 feuilles traités par de l'octanoate de bromoxynil, à raison de 350 ou 420 g d'équivalent phénol/ha, ont montré la présence de résidus foliaires à la concentration de 5 mg/kg 24 heures après application. En revanche, aucune trace de résidus n'a pu être détectée 21 jours après traitement, suggérant une concentration inférieure à la limite de détection, soit 0,025 mg/kg, y compris au niveau des pailles et des graines (Cessna, 1984).

#### 4.5.1.4. Herbicide de la classe G

L'AFSSA fait état d'études visant à évaluer les niveaux de résidus de glyphosate dans différentes espèces cultivées, en vue de l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché de préparations à base de cet herbicide

(Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2007). Avec une utilisation à la dose de 2160 g/ha sur du blé et de l'orge, les résidus de glyphosate observés sur paille et dans les graines respectent des LMR déjà fixées pour ces cultures, à savoir 5 mg/kg pour le blé et 20 mg/kg pour l'orge, avec un DAR de 7 jours. L'étude des résidus sur cerise et pêche, avec du glyphosate appliqué à la dose de 4320 g/ha, a révélé que les résidus de glyphosate et de son principal métabolite AMPA étaient inférieurs à la limite de détection. Une absence de résidus quantifiables a également été notée sur des kiwis traités à deux reprises par du glyphosate aux doses de 1440 puis de 2880 g/ha 90 jours environ avant récolte. L'usage sur kiwis respecte donc la LMR européenne de 0,1 mg/kg pour sa culture (Anonyme, 2007).

Contrastant avec ces résultats, les travaux de Honegger *et al.* (1986) indiquent qu'une simple application foliaire de glyphosate sur soja (à la dose de 500 g/ha) peut résulter en une accumulation rapide (quelques heures) de 0,3 mM (soit environ 50 mg/kg) dans les tissus racinaires des plantes sensibles à l'herbicide. Ces valeurs sont par ailleurs susceptibles de variations locales ou annuelles. Ainsi, les résidus de glyphosate ont été dosés sur soja après applications aux doses de 450, 900 et 1700 kg/ha entre août et septembre, ce qui correspond à quatre stades de développement de la plante, sur quatre sites au Canada. D'une façon générale, les concentrations de glyphosate et d'AMPA, augmentent avec la concentration d'application et diminuent lorsque le traitement est appliqué aux stades les plus tardifs du développement. Selon les années, les concentrations en résidu glyphosate étaient inférieures à 1 mg/kg sur les quatre sites étudiés, ou se sont établies entre 1 et 19,7 mg/kg selon les sites (Cessna *et al.*, 2000). Une étude similaire menée en Argentine a permis de mettre en évidence des concentrations résiduelles de glyphosate atteignant 4,4 mg/kg dans les feuilles et 1,8 mg/kg dans les grains (Arregui *et al.*, 2004). D'autres auteurs confirment l'augmentation de la concentration du glyphosate et de l'AMPA lors d'application à haute dose, en comparaison d'application faite à des doses basses, mais indiquent que l'application à des stades tardifs conduit à une augmentation de la concentrations des résidus (Duke *et al.*, 2003).

#### 4.5.1.5. Herbicide de la classe H

Des résidus de glufosinate ont été recherchés dans différents organes végétaux à la suite d'une application en post-levée, sur du maïs et du colza transgéniques tous deux tolérant à cet herbicide. Alors que 90% de l'herbicide appliqué ont été lavés par des pluies, 5 à 6% ont été métabolisés pour former du *N*-acetyl-L-glufosinate à 91% dans le colza et 67% dans le maïs, le reste étant constitué de métabolites résultant de la désamination du glufosinate. Ces résidus ont été retrouvés dans les différents organes de la plante sans exception, les plus fortes concentrations se trouvant dans les feuilles et les plus faibles dans les graines (0,07 à 0,3% pour le maïs, 0,4 à 0,6% dans le colza), sans que celles-ci excèdent les valeurs limites autorisées pour le glufosinate (Ruhland *et al.*, 2004).

#### 4.5.1.6. Herbicide de la classe O

Quatorze essais résidus ont été menés sur céréales en respectant les BPA relatives au traitement par le 2,4-D, et une DAR de 90 jours pour le blé de printemps et d'hiver ainsi que pour l'orge d'hiver, et de 60 jours pour l'orge de printemps. Le niveau des résidus observé dans ces cas permet de respecter la LMR de 0,05 mg/kg (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2008c). Sur maïs, et bien que les expérimentations aient été effectuées à des doses inférieures aux BPA (à savoir 1200 g/ha), l'AFSSA considère que "l'ensemble des essais sur maïs permet de proposer une LMR de 0,05 mg/kg conforme à la LMR fixée au niveau européen".

Les travaux d'Andersen *et al.* (2004), effectués sur deux sites différents aux USA, deux années différentes, ont porté sur du soja traité au stade 3 feuilles par des doses subléthales de 2,4D, soit un maximum de 112 g/ha (20% de la dose homologuée sur maïs aux USA, de 560 g/ha). A cette dose, les résidus foliaires mesurés après traitement font ressortir des concentrations de 2,4D variant de 35 à 60 mg/kg quelques heures après application, et de 4 à 18 mg/kg, 6 jours après traitement. Aucune trace de 2,4D au niveau foliaire n'est détectée après 24 jours.

En ce qui concerne le dicamba, l'AFSSA précise que "*13 essais résidus sur maïs (9 au nord et 4 au sud de l'Europe) ont été évalués lors de l'inscription du dicamba à l'annexe I de la directive 91/414/CEE. Le niveau de résidus dans le grain est inférieur à la limite de quantification (de 0,01 mg/kg ou 0,05 mg/kg suivant la méthode d'analyse). Pour l'ensilage, le niveau de résidu maximum est de 0,04 mg/kg*" (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009d). Ce même rapport indique que sept nouveaux essais ont été réalisés sur maïs en respectant les BPA (150 g sa /ha ; DAR de 60 jours pour le maïs fourrager, 90 pour le maïs grain) et ont conduit



à un niveau de résidus inférieur à la limite de quantification ( $< 0,01$  mg/kg), ce qui permet de respecter la LMR européenne de 0,5 mg/kg. Selon les règlements européens, ces données sont extrapolables aux cultures de sorgho, millet et moha.

Par ailleurs, Andersen *et al.* (2004) ont également mesuré des concentrations de résidus foliaires de dicamba sur soja traité par des doses subléthales de cet herbicide, soit un maximum de 56 g/ha (10% de la dose homologuée sur maïs aux USA, de 560 g/ha). Dans ce cas, les résidus mesurés après traitement font ressortir des concentrations de dicamba variant de 21 à 26 mg/kg de soja quelques heures après application, de 7 à 18 mg/kg 6 jours après traitement, et de 2 à 7 mg/kg 12 jours après traitement. Aucune trace de dicamba au niveau foliaire n'est détectée après 48 jours.

#### 4.5.2. Bilan de la section 4.5

La question des résidus d'herbicides intra-plante reste sans doute la section la moins documentée de ce chapitre. En effet, la plupart des documents analysés sont des avis de l'AFSSA relatifs à des demandes d'autorisation de mise sur le marché de produits phytosanitaires, dans lesquels ni les protocoles expérimentaux, ni les valeurs exactes des concentrations de résidus sont données. Curieusement, la littérature scientifique concernant les résidus d'herbicides dans les plantes est très peu fournie. En effet, la très grande majorité des travaux concernant les résidus d'herbicides ont porté, comme indiqué plus haut, soit sur la mise au point de techniques de détection, soit sur l'évaluation de ces résidus dans les ressources eau et sol. Il n'a donc pas été possible de trouver de références qui, par exemple, compareraient les concentrations de résidus d'herbicides détectées dans des variétés rendues tolérantes par expression d'une cible modifiée à celles détectées dans des variétés rendues tolérantes par expression d'une enzyme de détoxification. La seule caractéristique avérée concerne les variétés tolérantes au glyphosate, dans lesquelles, assez logiquement, cet herbicide s'accumule à des doses d'autant plus fortes les concentrations d'herbicide utilisées sont elles-mêmes élevées, et que l'application est tardive dans la saison. Ce qui précède conduit donc les experts à poser un diagnostic de lacune dans les connaissances relatives aux résidus d'herbicides dans les végétaux, et à leur évolution en fonction des différentes pratiques culturales.

## 4.6. Conclusions

Le devenir des herbicides dans les compartiments environnementaux est complexe. Il dépend de leur structure chimique, mais aussi des caractéristiques du milieu récepteur. Les paramètres sont multiples : aux paramètres physiques, chimiques et biologiques de l'environnement naturel s'ajoutent les facteurs climatiques, la période et le mode de traitement, la présence et la nature du couvert végétal.

Les données obtenues au laboratoire renseignent sur le comportement des herbicides dans l'eau, le sol et les systèmes eau-sédiment (durées de demi-vies et nature des métabolites) dans des conditions contrôlées de pH, de température, d'éclairement et sur des systèmes le plus souvent bien caractérisés. Les mesures de laboratoires s'appliquent à intégrer le maximum des paramètres susceptibles d'influencer les réactions, mais elles correspondent inévitablement à des situations particulières. On observe donc une certaine variabilité dans les résultats due à des différences dans les conditions expérimentales (par exemple, pH du sol ou des solutions, nature des constituants du sol, temps de l'expérimentation, avancement de la réaction...). Cela est tout à fait à l'image de la multitude des situations réelles. Les données de la littérature sont assez partielles et ne donnent pas une vue complète du devenir des 8 composés étudiés, 7 étant associés aujourd'hui à des VTH.

Les conclusions molécule par molécule sont les suivantes. Les tableaux 4-3 et 4-4 rassemblent les principales données sur la transformation et l'écotoxicité des composés.

- Le **tribénuron-méthyl** est majoritairement présent sous forme anionique dans le milieu naturel, ce qui favorise sa solubilité dans l'eau et sa mobilité. Il se transforme par hydrolyse en milieu neutre et acide et par hydrolyse et biodégradation en milieu basique. Trois principaux métabolites sont formés. Le tribénuron-méthyl est assez peu persistant, présentant la plus grande  $DT_{50}$  dans les systèmes eau-sédiment (30 jours) et la plus faible dans les eaux acides (1 jour). Ses métabolites sont plus persistants et plus fortement adsorbés sur le sol.

Les modèles numériques de simulation ne prévoient pas de contamination des eaux de surface et souterraines au tribénuron-méthyl supérieure à 0,1 µg/l. Les suivis de contamination des eaux confirment la faible concentration de tribénuron-méthyl dans les eaux de surface. Des données sur le suivi des métabolites en conditions réelles manquent. Le tribénuron-méthyl est assez toxique pour les plantes aquatiques et les algues et modérément toxique pour les abeilles.

- Le **chlorsulfuron** est très majoritairement présent sous forme anionique dans le milieu naturel, ce qui favorise sa solubilité dans l'eau et sa mobilité. Il s'hydrolyse en milieu acide. En milieu basique, la biodégradation est le processus majoritaire mais la  $DT_{50}$  devient très élevée. Sur le terrain, le chlorsulfuron n'est pas ou peu retrouvé dans les eaux de surface et souterraines. Quelle que soit la voie de dégradation, de nombreux métabolites sont formés. Ils ne sont pas suivis par les réseaux de surveillance. Le chlorsulfuron est très toxique pour les plantes aquatiques et les algues.

- La **cycloxydime** est majoritairement présente sous forme anionique dans le milieu naturel, ce qui favorise sa solubilité dans l'eau et sa mobilité. Elle absorbe le rayonnement solaire et est donc susceptible de se photolyser. Elle se transforme en de nombreux métabolites à la fois par hydrolyse en milieu acide, par biodégradation et par photolyse. La cycloxydime est peu persistante, présentant la plus grande  $DT_{50}$  dans les systèmes eau-sédiment (20 jours) et la plus faible dans les sols (<1 jour). Ses 2 principaux métabolites sont également peu persistants, avec des  $DT_{50}$  inférieures à 5 jours dans le sol (conditions réelles).

Le risque de retrouver la cycloxydime ou ses principaux métabolites à une concentration supérieure à 0,1 µg/l dans les eaux souterraines est faible. En revanche, dans le scénario "pire cas" et compte tenu des fortes doses d'application (600 g/ha), une concentration de CD de 6,5 µg/l dans les ruisseaux avoisinants pourrait être atteinte. Cette estimation ne prend pas en compte une éventuelle photolyse et est probablement pessimiste.

Des données sur le suivi de la cycloxydime et de ses métabolites en conditions réelles manquent.

- Le **bromoxynil** (sous sa forme phénolique) est majoritairement présent sous forme anionique dans le milieu naturel, ce qui favorise sa solubilité dans l'eau et sa mobilité. Il absorbe le rayonnement solaire et est donc susceptible de se photolyser. Les principaux métabolites de biodégradation et de photolyse sont identifiés. Le bromoxynil est peu persistant, présentant la plus grande  $DT_{50}$  dans les systèmes eau-sédiment (16 jours) et la

plus faible dans les sols (<1 jour). Ses 2 principaux métabolites sont également peu persistants, avec des  $DT_{50}$  inférieures à 5 jours dans le sol (conditions réelles).

Les données de terrain indiquent que le bromoxynil est peu retrouvé dans les eaux de surface et souterraines. Bien qu'assez peu volatil, le bromoxynil est mesuré dans l'air à des concentrations ne dépassant pas  $0,1 \text{ ng/m}^3$ . Des données sur le suivi de ses métabolites en conditions réelles manquent. Le bromoxynil est toxique pour de nombreux organismes dont les abeilles.

- Le **glufosinate** est un herbicide ionique, utilisé sous forme de sel d'ammonium. Il est assez mobile et subit une réaction de dégradation dans les sols avec formation de deux produits de dégradation principaux. Le glufosinate est résistant à l'hydrolyse et à la photolyse. La dégradation biologique est lente, avec formation de 5 produits de dégradation. Les études montrent un potentiel de contamination des eaux souterraines par un des produits de dégradation (l'acide 3-méthylphosphinopropionique).

- L'**imazamox** est un pesticide sous forme ionique en condition naturelle, pour lequel il n'existe quasiment aucune donnée accessible dans les revues internationales à comité de lecture. L'imazamox est stable à l'hydrolyse, subit une phototransformation assez efficace aboutissant à la formation de 4 produits de dégradation. La biodégradation de l'imazamox est faible. Nous n'avons trouvé aucune donnée sur sa présence dans les eaux en France. L'imazamox est modérément toxique pour les plantes aquatiques et les abeilles.

- Le **glyphosate** est lui aussi sous forme anionique. Sa mobilité varie beaucoup avec la nature du sol du fait, notamment, de sa capacité à former des complexes avec certains constituants et donc à s'immobiliser. Sa dégradation est essentiellement biologique et donne naissance à un seul produit très majoritaire, l'AMPA. Le glyphosate et son produit de dégradation AMPA sont régulièrement détectés dans les eaux superficielles à des doses quantifiables. Ceci est dû d'une part à l'importante utilisation du glyphosate qui est de loin l'herbicide le plus vendu en France et d'autre part à la relative stabilité de l'AMPA. Ils sont jusqu'à présent très peu détectés dans les eaux souterraines, mais il y a un risque d'accumulation de l'AMPA dans les sols pouvant conduire in fine à un lent transfert de cette molécule vers les nappes d'eau. La toxicité du glyphosate fait l'objet d'un débat.

- L'**atrazine** est un cas assez singulier. Bien que son usage soit interdit depuis 2003, cette molécule et ses principaux produits de dégradation sont encore retrouvés dans les eaux de surface et souterraines à des doses quantifiables. Il faut donc en déduire qu'elle s'est accumulée dans les sols desquels elle est extraite progressivement. Pourtant les données cinétiques conduisaient à une durée de vie de la molécule assez limitée. Le comportement de cette molécule n'a donc pas répondu aux prévisions, ce qui incite à la prudence sur ce type d'exercice.

Certaines lacunes sont identifiées : les données sont souvent obtenues sur les matières actives seules, non formulées et en l'absence d'autres produits phytosanitaires qui pourraient éventuellement interférer dans les phénomènes qui interviennent juste après la pulvérisation. La réactivité à la surface des feuilles (premier milieu récepteur) n'est pas considérée, alors que la photolyse peut y être rapide. Les études de devenir et d'écotoxicité des produits de dégradation sont très partielles et nécessiteraient d'être réellement approfondies. Les produits de dégradation mineurs ne sont pratiquement pas considérés alors qu'ils pourraient présenter une toxicité aiguë ou à long terme telles qu'ils induisent un réel danger pour les écosystèmes, même à faible concentration. D'une façon générale, l'écotoxicité se réduit à l'étude des impacts toxiques sur des organismes de référence, il serait nécessaire aussi d'étudier les effets de croissance ou de décroissance de populations à plus long terme.

**Tableau 4-3. Données sur la rétention et la transformation**

| Molécule          | Adsorption sur la matière organique (K <sub>oc</sub> en ml/g) | DT <sub>50</sub> mesurées en laboratoire                    |                    |   | DT <sub>50</sub> mesurées en champ | Produits identifiés<br>Etude sur leurs propriétés |
|-------------------|---|---|--------------------|---|------------------------------------|---|
|                   |   | sol   | eau-sédiment       | eau   |                                    |   |
| Tribénuron-méthyl | 9,8 – 74  | 5-20 j  | 2-30 j             | 1-6 j   | < 10 jours                         | Oui partielle                                     |
| Chlorsulfuron     | 13 – 54   | 6,7-232 j   | 26 j               | 24 j à pH 5 stable à pH 7 ou plus   | 2,5-70 j fonction du sol           | Oui partielle                                     |
| Cycloxydime       | 59  | < 1 j   | 20 j               | Par photolyse < 1 j<br>Par hydrolyse 8 j à pH 5 et > 172 j à pH 7 ou plus |                                    | Oui partielle                                     |
| Bromoxynil        | 108-239   | < 1 j   | 9,6-16 j           | Par photolyse, < 10 h   |                                    | Oui partielle                                     |
| glufosinate       | 10 -1500  | 6-11 j  | 1,4-30 j           | stable  |                                    | Oui partielle                                     |
| Imazamox          | 2 -374  | 12-207 j  | 61-154 j           | Par photolyse, < 6,8 h  | 4-41 j                             | Oui partielle                                     |
| Glyphosate        | 300 et 59000  | valeur moyenne de 2 mois, mais peut être beaucoup plus long | 12 j - 10 semaines | > 35 j par hydrolyse  | 1-130 j<br>AMPA : 76-240 j         | Oui AMPA  |
| Atrazine          | 100   | 28-150 j  | 80 j               | Par hydrolyse, 86 j   | 6-108 j                            | oui   |

**Tableau 4-4. Données de toxicité sur des organismes de référence**

| Molécule             | Plantes aquatiques  | Algues   | Invertébrés aquatiques                                  | Poissons  | Vers de terre                          | abeilles   |
|----------------------|---|--|---|---|--|--|
| Tribénuron-méthyl    | 0,0024-0,11 mg/l<br>CE <sub>50</sub> = 0,0056 mg/l<br><i>Lemna gibba</i>  | CE <sub>50</sub> =0,021 mg/l<br><i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> * | CE <sub>50</sub> 120 mg/l<br><i>Daphnia magna</i>       | CL <sub>50</sub> =738 mg/l<br><i>Oncorhynchus mykiss</i>  | > 1000 mg/kg<br><i>Eisenia foetida</i> | DL <sub>50</sub> >9,1 µg/abeille orale, >98,4 µg/abeille contact                     |
| Chlorsulfuron        | CE <sub>50</sub> =0,46 µg/l<br><i>Lemna gibba</i>   | CE <sub>50</sub> =50 µg/l<br><i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>      | CE <sub>50</sub> =371 mg/l<br><i>Daphnia magna</i>      | CL <sub>50</sub> =250 mg/l<br><i>Oncorhynchus mykiss</i>  | > 750 mg/kg<br><i>Eisenia foetida</i>  | DL <sub>50</sub> > 25 µg/abeille   |
| Cycloxydime          |   | CE <sub>50</sub> = 32 mg/l<br><i>Chlorella sp.</i>                       | CE <sub>50</sub> =32 mg/l<br><i>Daphnia magna</i>       | CL <sub>50</sub> = 220 mg/l<br><i>Oncorhynchus mykiss</i>   | > 500 mg/kg<br><i>Eisenia foetida</i>  |  |
| Bromoxynil phenol    | CE <sub>50</sub> =0,033 mg/l<br><i>Lemna gibba</i>  | CE <sub>50</sub> =0,65 mg/l<br><i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>    | CE <sub>50</sub> =12,5 mg/l<br><i>Daphnia magna</i>     | CL <sub>50</sub> =8,8 mg/l<br><i>Oncorhynchus mykiss</i>  | 45 mg/kg<br>Espèce non indiquée        | DL <sub>50</sub> =5 µg/abeille orale<br>DL <sub>50</sub> =150 µg/abeille contact     |
| Glufosinate-ammonium | CE <sub>50</sub> = 1,47 mg/l<br><i>Lemna gibba</i>  |  | CE <sub>50</sub> =560-1000 mg/l<br><i>Daphnia magna</i> | CL <sub>50</sub> = 7,5 mg/l<br><i>Americamysis bahia</i>  | > 1000 mg/kg<br><i>Eisenia foetida</i> | DL <sub>50</sub> > 600 µg/abeille orale<br>DL <sub>50</sub> > 345 µg/abeille contact |
| Imazamox             | CE <sub>50</sub> >0,011 mg/l<br><i>Lemna gibba</i><br>CE <sub>50</sub> >0,037 mg/l<br><i>Raphidocelis subcapitata</i> | CE <sub>50</sub> >0,037 mg/l<br><i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>   | CE <sub>50</sub> >122 mg/l<br><i>Daphnia magna</i>      | CL <sub>50</sub> >122 mg/l<br><i>Oncorhynchus mykiss</i>  | > 900 mg/kg<br><i>Eisenia foetida</i>  | DL <sub>50</sub> > 40 µg/abeille orale<br>DL <sub>50</sub> > 58 µg/abeille contact   |
| Glyphosate           | CE <sub>50</sub> = 12 mg/l<br><i>Lemna gibba</i>  | CE <sub>50</sub> = 4,4 mg/l<br><i>Scenedesmus sp.</i>                    | CE <sub>50</sub> = 40 mg/l<br><i>Daphnia magna</i>      | CL <sub>50</sub> = 38 mg/l<br><i>Oncorhynchus mykiss</i><br>CL <sub>50</sub> = 40 mg/l<br><i>Americamysis bahia</i> | > 480 mg/kg<br><i>Eisenia foetida</i>  | DL <sub>50</sub> > 100 µg/abeille orale<br>DL <sub>50</sub> > 100 µg/abeille contact |

\* *Pseudokirchneriella subcapitata* = ex. *Selenastrum capricornutum*

On peut s'attendre à retrouver dans les eaux de surface les herbicides très solubles dans l'eau et se transformant lentement car ils ont alors le temps de rejoindre les points d'eaux (glyphosate, chlorsulfuron, imazamox). Pour ce qui est de la contamination des eaux souterraines, les molécules les plus susceptibles de contaminer sont celles très solubles dans l'eau qui se transforment lentement et qui s'adsorbent peu sur la matière organique du sol (chlorsulfuron, imazamox, atrazine). Par ailleurs, on pourrait aussi s'attendre à retrouver dans les milieux aquatiques les produits de dégradation des herbicides se transformant vite, surtout si ces produits sont stables (AMPA, déséthyl-atrazine, un des produits de dégradation du glufosinate). Les mesures de contamination des eaux de surface et des eaux souterraines en France par les herbicides sont le plus souvent conformes aux données de laboratoire et aux prévisions.

- Le **tribénuron-méthyl**, le **chlorsulfuron**, le **bromoxynil** et le **glufosinate** sont peu détectés dans les eaux. Les très faibles quantités de tribénuron-méthyl et de chlorsulfuron utilisées jusqu'à présent expliquent que ces molécules soient peu retrouvées dans l'environnement.
- L'**imazamox** et la **cycloxydime** ne sont pas ou très peu suivis en France. Aux USA et au Brésil, l'imazéthapyr, autre herbicide de la famille des imidazolinones, est retrouvé dans les eaux de surface.
- Malgré son interdiction depuis 2003, l'**atrazine** et la **déséthyl-atrazine** font encore partie des molécules détectées dans les eaux de surface et des plus quantifiées dans les eaux souterraines. Les paramètres cinétiques ne prédisaient pas une aussi longue durée de vie dans l'environnement pour l'atrazine.
- Le **glyphosate** et son métabolite **AMPA** qui est stable sont très fréquemment détectés dans les eaux superficielles et font partie des molécules les plus quantifiées. Le glyphosate est de loin la molécule la plus vendue donc la plus utilisée, ce qui explique ce résultat.
- Bien qu'assez peu volatil, le **bromoxynil** est détecté dans l'air.

Pour la grande majorité des herbicides étudiés, les produits de transformation ne sont pas suivis, ce qui est aussi une lacune.

La contamination des différents compartiments environnementaux par les herbicides est un problème multiparamétrique dont l'étendue est difficile à prévoir avec certitude. Les méthodes de simulation existantes ont le mérite de donner des ordres de grandeur mais elles ont des limites. Elles sont basées sur des représentations simplifiées de l'environnement et ne rendent pas compte de la complexité du milieu réel. Sur le plan de la réactivité, seuls les phénomènes les plus classiques sont étudiés, les combinaisons de mécanismes de dégradation, les interactions potentielles entre polluants ou les effets d'adjuvants sont peu étudiés. En ce qui concerne la réactivité chimique, des interférences entre molécules pourraient avoir lieu conduisant par exemple à une modification des  $DT_{50}$  ou des photoproduits. Au niveau de la toxicité des effets synergiques ou au contraire antagonistes sont éventuellement possibles. Ceci constitue un vaste champ d'étude. Sur le plan de l'étoxicité, les informations ne sont également que très partielles. Elles ne concernent que les effets toxiques sur des organismes de référence. Il serait aussi utile d'examiner les effets à plus long terme sur la diversité des espèces, leur croissance et/ou leur décroissance. Il est certes plus difficile d'estimer les risques d'exposition chroniques à de faibles doses de polluants que les risques aigus à court terme sur de fortes expositions (Barr et al., 1999).

Enfin, les produits de dégradation ne sont pas assez pris en compte dans les évaluations. Abstraction faite de ces réserves, certaines molécules utilisées sur VTH, comme celles de la famille des imidazolinones et des cyclohexanediones, sont des herbicides très efficaces utilisés à plus faible concentration par traitement que les herbicides sur cultures conventionnelles. Etant données qu'elles sont notées comme présentant un EIQ du même ordre, elles conduisent jusqu'à présent à une diminution de l'impact environnemental. Signalons enfin que le comportement singulier de l'atrazine, herbicide lourdement utilisé par le passé, montre justement que le devenir n'est pas aussi prévisible que l'on pourrait le penser. Ce composé s'est accumulé de façon importante dans les sols du fait d'une utilisation massive et ne s'est pas comporté comme prévu. Ce cas d'école montre qu'il faut rester prudent en matière de prévision pour le cas d'un herbicide dont l'utilisation deviendrait importante.

## Références bibliographiques citées

### Sections 4.1 à 4.4

- Ahel M., Scully Jr F.E., Hoigné J., Giger W. (1994). Photochemical degradation of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates in natural waters. *Chemosphere* 28(7): 1361-1368.
- Anton F.A., Cuadra L.M., Gutierrez P., Laborda E., Laborda P. (1993). Degradational behavior of the pesticides glyphosate and diflufenburon in water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 51(6): 881-888.
- Atkinson R., Guicherit R., Hites R.A., Palm W.U., Seiber J.N., De Voogt P. (1999). Transformations of pesticides in the atmosphere: A state of the art. *Water, Air, and Soil Pollution* 115(1-4): 219-243.
- Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I., Voltz, (éditeurs) M. (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport: 64 p.
- Barr D.B., J.R. Barr, W.J. Driskell, R.H. Hill, D.L. Ashley, D.L. Needham, S.L. Head, Sampson E.J. (1999). Strategies for biological monitoring of exposure for contemporary-use pesticides. *Toxicol Ind Health* 15: 168-179.
- Barriuso E., Houot S. (1996). Rapid mineralization of the s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biology and Biochemistry* 28(10-11): 1341-1348.
- Bartsch K., Tebbe C. (1989). Initial steps in the degradation of phosphinothricin (glufosinate) by soil bacteria. *Applied And Environmental Microbiology* 55: 711-716.
- Battaglin W.A., Furlong E.T., Burkhardt M.R., Peter C.J. (2000). Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rivers, reservoirs and ground water in the Midwestern United States, 1998. *The Science of The Total Environment* 248(2-3): 123-133.
- Baxter J., Cummings S.P. (2008). The degradation of the herbicide bromoxynil and its impact on bacterial diversity in a top soil. *Journal of Applied Microbiology* 104(6): 1605-1616.
- Bazot S., Lebeau T. (2009). Effect of immobilization of a bacterial consortium on diuron dissipation and community dynamics. *Bioresource Technology* 100: 4257-4261.
- Bedos C., Cellier P., Calvet R., Barriuso E., Gabrielle B. (2002). Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomie* 22(1): 21-33.
- Bedos C., Rousseau-Djabri M.F., Loubet B., Durand B., Flura D., Briand O., Barriuso E. (2010). Fungicide Volatilization Measurements: Inverse Modeling, Role of Vapor Pressure, and State of Foliar Residue. *Environmental Science & Technology* 44(7): 2522-2528.
- Berger B.M., Janowitz K., Menne H.J., Hoppe H.H. (1998). Comparative study on microbial and chemical transformation of eleven sulfonylurea herbicides in soil. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 105(6): 611-623.
- Bhattacharjee A.K., Dureja P. (2002). Light-induced transformation of tribenuron-methyl on glass, soil, and plant surface. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 37(2): 131-140.
- Bhattacharjee A.K., Dureja P. (1999). Light-induced transformations of tribenuron-methyl in aqueous solution. *Pesticide Science* 55(2): 183-188.
- Bockstaller C. (2004). Elaboration et utilisation des indicateurs. Exemple de I-Phy. Estimation des risques environnementaux des pesticides, (Barriuso E., ed.), INRA, Paris: 75-86.
- Bonny S. (2008). Les cultures transgéniques tolérantes à un herbicide permettent-elles de réduire l'usage des pesticides ? Le cas du soja et du maïs aux Etats-Unis. *Innovations agronomiques* 3: 193-212.
- Bonny S. (2011). Les cultures tolérantes à certains herbicides : adoption, impacts et développement d'adventices résistantes. In "Biotechnologies végétales : Environnement, alimentation, santé" Agnès Ricroch, Yvette Dattée et Marc Fellous (eds), Vuibert: 18 p
- Borggaard O.K., Gimsing A.L. (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest management science* 64(4): 441-56.

- Bottaro M., Frascarolo P., Gosetti F., Mazzucco E., Giatiotti V., Polati S., Pollici E., Piacentini L., Pavese G., Gennaro M.C. (2008). Hydrolytic and photoinduced degradation of tribenuron methyl studied by HPLC-DAD-MS/MS. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 19(8): 1221-1229.
- Brignon J.M. (2005). Nonylphenols et Ethoxylates, Données technico-économiques sur les substances chimiques en France, Ineris: 24 p. [http://rsde.ineris.fr/fiches/fiche\\_nonylphenol.pdf](http://rsde.ineris.fr/fiches/fiche_nonylphenol.pdf)
- Brookes G., Barfoot P. (2011). GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996-2009: 173p.
- Calvet R., Barriuso E., Benoit P., Bedos C., Charnay M.P., Y. C. Eds (2005). Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales., (Agricoles E.F., ed.), Paris, 637 p.
- Carabias-Martinez R, R. Rodriguez-Gonzalo, E. Fernandez-Laespada, Roman F.J.S.S. (2000). Evaluation of surface- and ground-water pollution due to herbicides in agricultural areas of Zamora and Salamanca (Spain). *Journal of Chromatography A* 869(1-2): 471-480.
- Carlisle S.M., Trevors J.T. (1988). Glyphosate in the environment. *Water, Air, and Soil Pollution* 39(3-4): 409-420.
- Carvalho G., Marques R, Lopes AR, Faria C, Noronha JP, Oehmen A, Nunes OC, MA. R. (2010). Biological treatment of propanil and 3,4-dichloroaniline: kinetic and microbiological characterisation. *Water research* 44: 4980-4991.
- Caselli M., Ponterini G., Vignali M. (2001). Irradiation-wavelength dependent photochemistry of the bichromophoric sulfonyleurea chlorsulfuron. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 138(2): 129-137.
- Clark J.M., Kenna M.P. (2001). *Handbook of Pesticide Toxicology*: 203-241.
- COFRAC (2011). Comité Français d'ACréditation, <http://www.cofrac.fr>.
- Coquet Y., Barriuso E. (2002). Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. *Agronomie* 22(4): 389-398.
- DASS (2009). Teneurs en pesticides des eaux souterraines et superficielles en Sarthe, données 2002-2007.: 53 p.
- Devers M., Rouard N., Martin-Laurent F. (2008). Fitness drift of an atrazine-degrading population under atrazine selection pressure. *Environmental Microbiology* 10(3): 676-684.
- EFSA (2004). Peer review of the pesticide risk assessment of tribénuron-méthyl, 15: 1-52.
- EFSA (2005). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glufosinate, 27: 1-81.
- EFSA (2008). Conclusion on the peer review of chlorsulfuron, EFSA Scientific Report, 201: 1-107.
- EFSA (2010). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance cycloxydim, 8: 1-73.
- El Sebai T., Devers M., Lagacherie B., Rouard N., Soulas G., Martin-Laurent F. (2010). Diuron mineralisation in a Mediterranean vineyard soil: impact of moisture content and temperature. *Pest Management Science* 66(9): 988-995.
- Ermakova I.T., Kiseleva N.I., Shushkova T., Zharikov M., Zharikov G.A., Leontievsky A.A. (2010). Bioremediation of glyphosate-contaminated soils. *Applied Microbiology and Biotechnology* 88(2): 585-94.
- European Commission (2002a). Commission working document, Final version, Review report for the active substance Imazamox: 24 p.
- European Commission (2002b). European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General Directorate E - Food Safety: plant health, animal health and welfare, international questions E1 - Plant health. Review report for the active substance glyphosate: 56 p.
- European Commission (2004). Review report for the active substance bromoxynil-Appendix I, EU-Plant Health: 103p.
- Fairchild J.F., Ruessler D.S., Haverland P.S., Carlson A.R. (1997). Comparative Sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to Sixteen Herbicides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 32(4): 353-357.
- Feng J.C., Thompson D.G. (1990). Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed: 2. Persistence in foliage and soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38(4): 1118-1125.
- Feng J.C., Thompson D.G., Reynolds P.E. (1990). Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed: 1. Aquatic residues and off-target deposit assessment. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 38: 1110-1118.
- Grover R., Waite D.T., Cessna A.J., Nicholaichuk W., Irvin D.G., Kerr L.A., Best K. (1997). Magnitude and persistence of herbicide residues in farm dugouts and ponds in the Canadian prairies. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16(4): 638-643.

- Grunewald K., Schmidt W., Unger C., Hanschmann G. (2001). Behavior of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in soils and water of reservoir Radeburg II catchment (Saxony/Germany). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 164(1): 65-70.
- Gu L.F., Jiang J.D., Li X.H., Ali S.W., Li S.P. (2007). Biodegradation of ethametsulfuron-methyl by *Pseudomonas* sp SW4 isolated from contaminated soil. *Current Microbiology* 55(5): 420-426.
- Gustafson D.I. (1989). GROUNDWATER UBIQUITY SCORE - A SIMPLE METHOD FOR ASSESSING PESTICIDE LEACHABILITY. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8(4): 339-357.
- Harir M., Rommberger M., A. Gaspar, D. Martens, A. Kettrup, M. El Azzouzi, Schmitt-Kopplin P. (2007). Characterization of imazamox degradation by-products by using liquid chromatography mass spectrometry and high-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 389: 1459-1467.
- Hazen J. (2000). Adjuvant-terminology, classification and chemistry. *Weed technology* 14: 773.
- Hernando M., De Vettori S, Martínez Bueno MJ, AR. F.-A. (2007). Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. *Chemosphere* 68: 724-730.
- Hill B.D., Miller J.J., Harker K.N., Byers S.D., Inaba D.J., Zhang C. (2000). Estimating the relative leaching potential of herbicides in Alberta soils. *Water Quality Research Journal of Canada* 35(4): 693-710.
- Holtze M., Sorensen S., Sorensen J., Aamand J. (2008). Microbial degradation of the benzonitrile herbicides dichlobenil, bromoxynil and ioxynil in soil and subsurface environments--insights into degradation pathways, persistent metabolites and involved degrader organisms. *Environmental Pollution* 154: 155-168.
- Ibanez M., Pozo O. J., Sancho J. V., Lopez F. J., . H.F. (2005). Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1081: 145-155.
- James T.K., Holland P.T., Rahman A., Lu Y.R. (1999). Degradation of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and triasulfuron in a high-organic-matter volcanic soil. *Weed Research* 39(2): 137-147.
- Junghans M., T. Backhaus, M. Faust, M. Scholze, Grimme L.H. (2003). Toxicity of Sulfonylurea Herbicides to the Green Alga *Scenedesmus vacuolatus*: Predictability of Combination Effects. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71: 585-593.
- Karpouzias D.G., Singh B.K. (2006). Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis. *Advances in microbial physiology* 51: 119-85.
- Konstantinou I.K., Zarkadis A. K., A. A.T. (2001). Photodegradation of Selected Herbicides in Various Natural Waters and Soils under Environmental Conditions. *J. Environ. Qual.* 30: 121-130.
- Kotoulasyka E., Eleftherohorinos I.G., Gagianas A.A., Sficas A.G. (1993). Phytotoxicity and persistence of chlorsulfuron, metsulfuronmethyl, triasulfuron and tribenuron-methyl in 3 soils. *Weed Research* 33(5): 355-367.
- Kreuger J., Adielsson S. (2008). Monitoring of sulfonylurea herbicides in stream water draining intensively cultivated areas in southern Sweden during a 9-year period (1998-2006). *Ekohydrologi* 103: 51 p.
- Lickfeldt D.W., Branham B.E. (1995). SORPTION OF NONIONIC ORGANIC-COMPOUNDS BY KENTUCKY BLUEGRASS LEAVES AND THATCH. *Journal of Environmental Quality* 24(5): 980-985.
- Linders J., Mensink H., Stephenson G., Wauchope D., Racke K. (2000). Foliar interception and retention values after pesticide application. A proposal for standardized values for environmental risk assessment. *Pure and Applied Chemistry* 72(11): 2199-2218.
- Lund-Hoie K., Friestad H.O. (1986). Photodegradation of the herbicide glyphosate in water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 36(5): 723-729.
- Ma J.P., Wang Z., Lu P., Wang H.J., Waseem Ali S., Li S.P., Huang X. (2009). Biodegradation of the sulfonylurea herbicide chlorimuron-ethyl by the strain *Pseudomonas* sp. LW3. *FEMS Microbiology Letters* 296(2): 203-9.
- Machado F., Collin L., Boule P. (1995). PHOTOLYSIS OF BROMOXYNIL (3,5-DIBROMO-4-HYDROXYBENZONITRILE) IN AQUEOUS-SOLUTION. *Pesticide Science* 45(2): 107-110.
- Mamy L. (2004). Comparaison des impacts environnementaux des herbicides à large spectre et des herbicides sélectifs: caractérisation de leur devenir dans le sol et modélisation. Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 333 p
- Mamy L., Barriuso E. (2005). Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops. *Chemosphere* 61(6): 844-855.



- Mamy L., Barriuso E., Gabrielle B. (2008a). Evaluer les risques environnementaux des pesticides. Exemple du désherbage des cultures résistantes ou non au glyphosate. *Innovations Agronomiques* 3: 121-143.
- Mamy L., Gabrielle B., Barriuso E. (2008b). Measurement and modelling of glyphosate fate compared with that of herbicides replaced as a result of the introduction of glyphosate-resistant oilseed rape. *Pest Management Science* 64(3): 262-275.
- Mann R., Bidwell J. (1999). The toxicity of glyphosate and several glyphosate formulations to four species of southwestern Australian frogs. *Arch Environ Contain Toxicol* 36: 193-199
- McCarty L.S., Borgert C.J. (2006). Review of the toxicity of chemical mixtures: Theory, policy, and regulatory practice. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 45(2): 119-143.
- Miller J.J., Foroud N., Hill B.D., Lindwall C.W. (1995). HERBICIDES IN SURFACE RUNOFF AND GROUNDWATER UNDER SURFACE IRRIGATION IN SOUTHERN ALBERTA. *Canadian Journal of Soil Science* 75(1): 145-148.
- Nomura N.S., Hilton H.W. (1977). The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. *Weed Research* 17: 113-121.
- Nyström B., Björnsäter B., Blanck H. (1999). Effects of sulfonylurea herbicides on non-target aquatic micro-organisms: Growth inhibition of micro-algae and short-term inhibition of adenine and thymidine incorporation in periphyton communities. *Aquatic Toxicology* 47(1): 9-22.
- ONEMA (2010). Base nationale des données de ventes des distributeurs (BNV-d)
- Pampulha M., Oliveira A. (2006). Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms. *Curr Microbiol* 53: 238-243.
- Pampulha ME, Ferreira MA & Oliveira A (2007) Effects of a phosphinothricin based herbicide on selected groups of soil microorganisms. *J Basic Microbiol* 47: 325-331.
- Pingault N. (2007). Améliorer la qualité de l'eau :Un indicateur pour favoriser une utilisation durable des produits phytosanitaires. Atelier OCDE, 19 – 21 mars 2007, Washington, MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE: 10p.
- Ralebitso RK, Senior E, van Verseveld HW (2002) Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments. *Biodegradation* 13:11–19
- Reus J., Leendertse P., Bockstaller C., Fomsgaard I., Gutsche V., Lewis K., Nilsson C., Pussemier L., Trevisan M., van der Werf H., Alfarroba F., Blumel S., Isart J., McGrath D., Seppala T. (2002). Comparison and evaluation of eight pesticide environmental risk indicators developed in Europe and recommendations for future use. *Agriculture Ecosystems & Environment* 90(2): 177-187.
- Riise G. (1994). ASSOCIATION OF TRIBENURON-METHYL WITH COLLOIDAL AND PARTICULATE MATERIALS. *Science of The Total Environment* 152(1): 91-99.
- Roberts T.R., David H.H. (1998). Part one. Herbicides and Plant growth regulators, *Metabolic pathways of agrochemicals*, (Roberts T., ed.), Royal Society of Chemistry.
- Roy D.N., Konar S.K., Banerjee S., Charles D.A., Thompson D.G., Prasad R. (1989). PERSISTENCE, MOVEMENT, AND DEGRADATION OF GLYPHOSATE IN SELECTED CANADIAN BOREAL FOREST SOILS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37(2): 437-440.
- Rueppel M.L., Brightwell B.B., Schaefer J., Marvel J.T. (1977). METABOLISM AND DEGRADATION OF GLYPHOSATE IN SOIL AND WATER. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25(3): 517-528.
- Sarmah A.K., Kookana R.S., Alston A.M. (1998). Fate and behaviour of triasulfuron, metsulfuron-methyl, and chlorsulfuron in the Australian soil environment: A review. *Australian Journal of Agricultural Research* 49(5): 775-790.
- Sarmah A.K., Kookana R.S., Alston A.M. (1999). Degradation of chlorsulfuron and triasulfuron in alkaline soils under laboratory conditions. *Weed Research* 39(2): 83-94.
- Sarmah A.K., Kookana R.S., Duffy M.J., Alston A.M., Harch B.D. (2000). Hydrolysis of triasulfuron, metsulfuron-methyl and chlorsulfuron in alkaline soil and aqueous solutions. *Pest Management Science* 56(5): 463-471.
- Schiavon M. (1980). Contribution à l'étude du mouvement et de la dégradation de l'atrazine dans deux sols agricoles drainés. Interaction matière organique-pesticide. Thèse de Doctorat, Université de Nancy : INPL, 193p.
- Si Y, Wang S, Zhou J, Hua R & Zhou D (2005) Leaching and degradation of ethametsulfuron-methyl in soil. *Chemosphere* 60: 601-609.
- SOeS (2010). Service de l'observation et des statistiques-Les pesticides dans les milieux aquatiques ; données 2007.

- Souza Caldas S., R. Zanella, Primel E.G. (2011). Risk Estimate of Water Contamination and Occurrence of Pesticides in the South of Brazil, *Herbicide and environment*: 471-493.
- Spliid N.H., Køppen B. (1998). Occurrence of pesticides in Danish shallow ground water. *Chemosphere* 37(7): 1307-1316.
- Strek H.J. (1998a). Fate of chlorsulfuron in the environment. 1. Laboratory evaluations. *Pesticide Science* 53(1): 29-51.
- Strek H.J. (1998b). Fate of chlorsulfuron in the environment. 2. Field evaluations. *Pesticide Science* 53(1): 52-70.
- Tao L., Yang H. (2011). Fluroxypyr biodegradation in soils by multiple factors. *Environmental monitoring and assessment*. 175: 227-238.
- Ter Halle A., Wiszniowski J., Richard C. (2007). Phototransformation of pesticides on plant leaves: the case of sulcotrione. *Communications in agricultural and applied biological sciences* 72(2): 45-52.
- University of Hertfordshire (2011). Atrazine (REF: G 30027). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- University of Hertfordshire (2011). Bromoxynil (Ref: ENT 20852). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- University of Hertfordshire (2011). Chlorsulfuron (Ref: DPX 4189). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- University of Hertfordshire (2011). Cycloxydime (Ref: BAS 517H). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- University of Hertfordshire (2011). Glufosinate (Ref: HOE 39866). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- University of Hertfordshire (2011). Glyphosate (Ref: MON 0573). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- University of Hertfordshire (2011). Imazamox (Ref: BAS 720H). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- University of Hertfordshire (2011). Tribenuron-methyle (Ref: DPX L5300). In "Pesticide Properties DataBase (PPDB)". <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>
- Van der Werf H.M.G., Zimmer C. (1998). An indicator of pesticide environmental impact based on a fuzzy expert system. *Chemosphere* 36: 2225-2249.
- Vera M., L. Lagomarsino L, M. Sylvester, G.L. Pérez , P. Rodríguez , H. Mugni, R.Sinistro, M. Ferraro, C. Bonetto, H. Zagarese, Pizarro H. (2010). New evidences of Roundup (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 19: 710-721.
- Wackett L.P., Sadowsky M.J., Martinez B., Shapir N. (2002). Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: from enzymes to field studies. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58(1): 39-45.
- Wang X, Liu X, Wang H & Dong Q (2007) Utilization and degradation of imazaquin by a naturally occurring isolate of *Arthrobacter crystallopoietes*. *Chemosphere* 67: 2156-2162.
- Yao Y., Tuduri L., Harner T., Blanchard P., Waite D., Poissant L., Murphy C., Belzer W., Aulagnier F., Li Y.F., Sverko E. (2006). Spatial and temporal distribution of pesticide air concentrations in Canadian agricultural regions. *Atmospheric Environment* 40(23): 4339-4351.
- Yun C., H. Hasegawa, H. Nanamiya, T Terakawa, Tozawa Y. (2009). Novel bacterial N-acetyltransferase gene for herbicide detoxification in land plants and selection maker in plant transformation. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 73: 1000-1006.
- Zamy C., Mazellier P., Legube B. (2004). Hydrolysis and photolysis of two organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions: Kinetics and by products. *Journal Europeen d'Hydrologie* 35(1): 47-58.

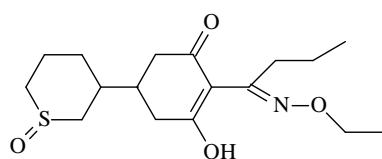
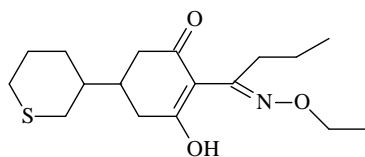
## Section 4.5

Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2007). Avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation à base de glyphosate, destinée au traitement des zones agricoles (Freeland) produite par la société Dow Agrosiences, AFSSA, AMM n°2000305.

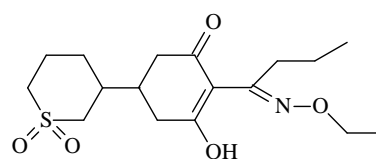
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2008a). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation PEAK, à base de prosulfuron, produite par la société SYNGENTA AGRO S.A.S, AFSSA, dossier n° 2007-3800.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2008b). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation NISSHIN PREMIUM 6 OD à base de nicosulfuron, produite par la société ISK Biosciences Europe S.A, AFSSA, dossier n° 2007-0152.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2008c). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation U46D à base de 2,4-D, produite par la société NUFARM SAS. Afssa, dossier 2006-0103- U46D, AFSSA, AMM n° 6500402.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009a). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation PULSAR 40 à base d'imazamox, de la société BASF AGRO S.A.S, AFSSA, dossier n° 2008-0026.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009b). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'extension d'usage majeur pour la préparation EXPRESS SX à base de tribénuron-méthyle, de la société DuPont Solutions (France), AFSSA, dossier n° 2008-0624.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009d). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation CASPER à base de prosulfuron et de dicamba, produite par la société SYNGENTA AGRO S.A.S, AFSSA, dossier n° 2007-4222.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009c). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation TOTRIL, à base d'ioxynil, de la société Bayer CropScience France, AFSSA, dossier n°2007-1341, AMM n° 7000391.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2010a). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation ALLIE DUO à base de metsulfuron-méthyl et de thifensulfuron-méthyl, de la société DuPont Solutions (France) S.A.S, AFSSA, dossier n° 2007-0409.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2010b). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché pour la préparation CLINCHER, à base de cyhalofop-butyl de la société DOW AGROSCIENCES S.A.S, AFSSA, AMM n° 9900114, dossier n° 2007-4433.
- Andersen S.M., Clay S.A., Wrage L.J., Matthees D. (2004). Soybean foliage residues of dicamba and 2,4-D and correlation to application rates and yield. *Agronomy Journal* 96(3): 750-760.
- Arregui M.C., Lenardon A., Sanchez D., Maitre M.I., Scotta R., Enrique S. (2004). Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest Management Science* 60(2): 163-166.
- Cessna A.J. (1994). Residues of the herbicides MCPA and bromoxynil in postemergence-treated triticale (x-triticosecale). *Weed Technology* 8(3): 586-590.
- Cessna A.J., Darwent A.L., Townley-Smith L., Harker K.N., Kirkland K.J. (2000). Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in canola seed following preharvest applications. *Canadian Journal of Plant Science* 80(2): 425-431.
- Duke S.O., Rimando A.M., Pace P.F., Reddy K.N., Smeda R.J. (2003). Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(1): 340-344.
- Honegger J.L., Brooks J.M., Anderson E.J., Porter C.A. (1986). Glyphosate transport in plants. In *Phloem transport*, (Cronshaw J., ed.), Liss, New-York: 609-618.
- Ruhland M., Engelhardt G., Pawlizki K. (2004). Distribution and metabolism of D/L-, L- and D-glufosinate in transgenic, glufosinate-tolerant crops of maize (*Zea mays* L ssp *mays*) and oilseed rape (*Brassica napus* L var *napus*)(dagger). *Pest Management Science* 60(7): 691-696.

## Annexe : Les substances actives étudiées et leurs produits de dégradation

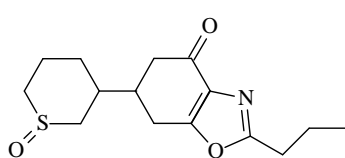
### Cycloxydime (classe A)



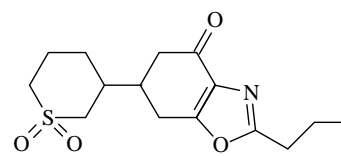
CD1



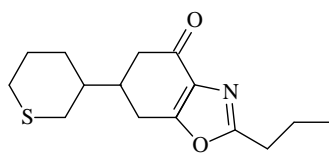
CD2



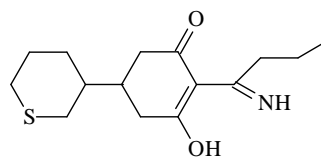
CD3



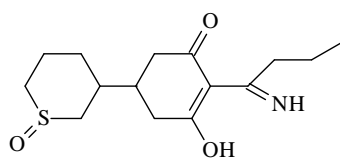
CD4



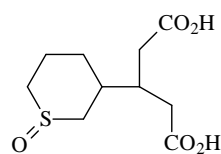
CD5



CD6

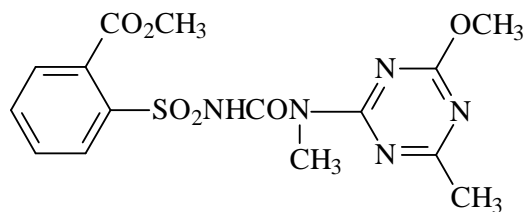


CD7

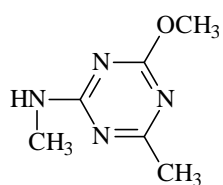
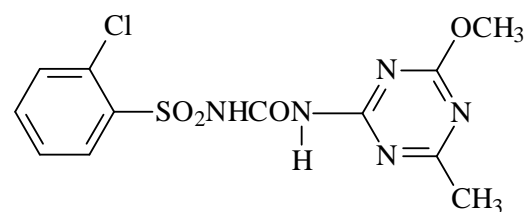


CD8

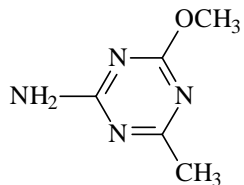
**Tribénuron-méthyl (classe B – sulfonyl-urées)**



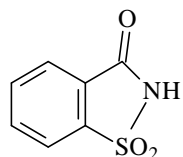
**Chlorsulfuron (classe B – sulfonyl-urées)**



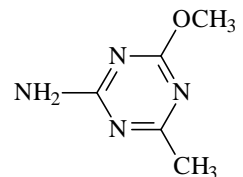
**TM1**



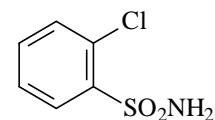
**TM2**



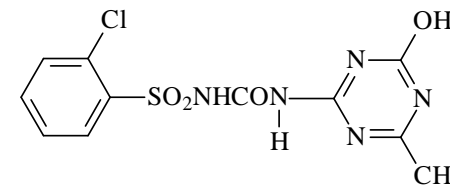
**TM3**



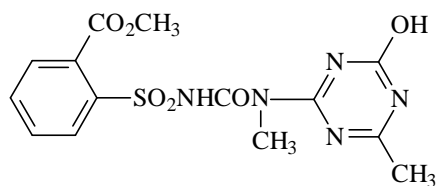
**CS1**



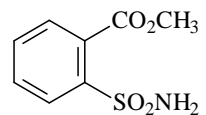
**CS2**



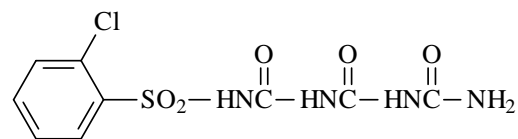
**CS3**



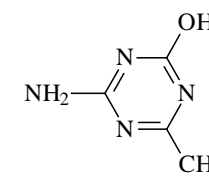
**TM4**



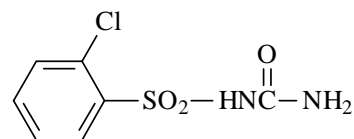
**TM5**



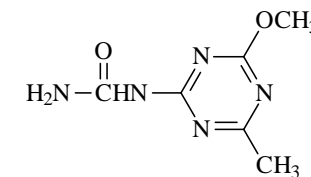
**CS4**



**CS5**

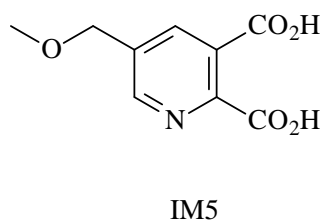
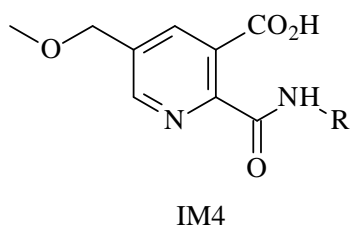
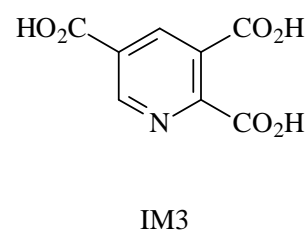
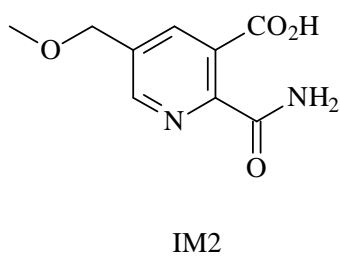
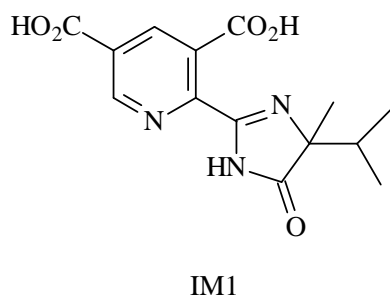
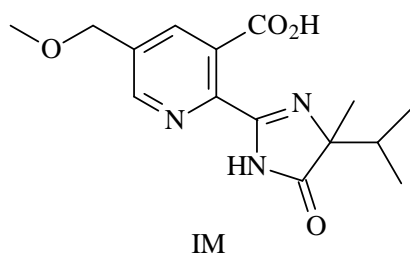


**CS6**

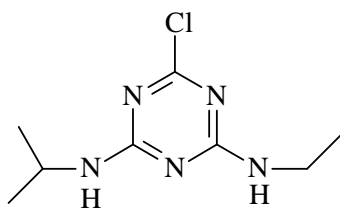


**CS7**

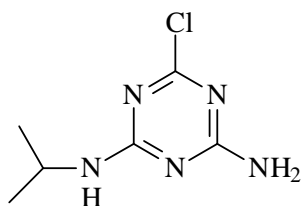
Imazamox (classe B – imidazolinones)



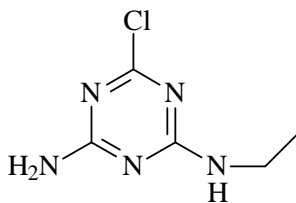
### Atrazine (classe C1)



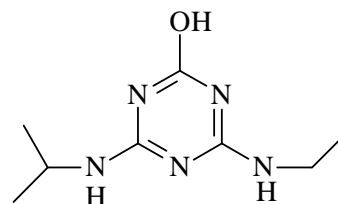
Atrazine



déséthyl-atrazine

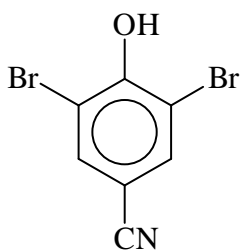


déisopropyl-atrazine

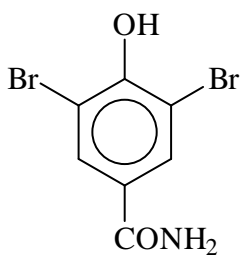


hydroxy-atrazine

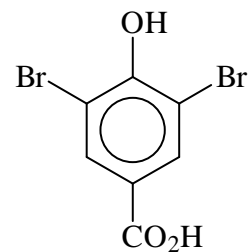
### Bromoxynil (classe C3)



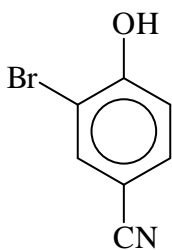
**BX**



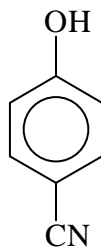
**BX1**



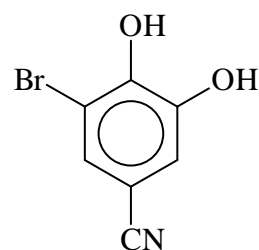
**BX2**



**BX3**

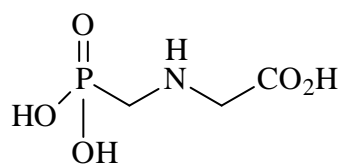


**BX4**

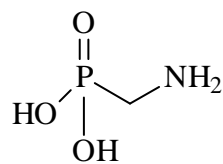


**BX5**

### Glyphosate (classe G)

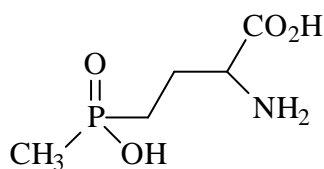


GP

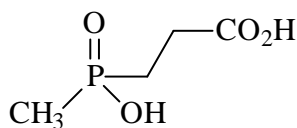


AMPA

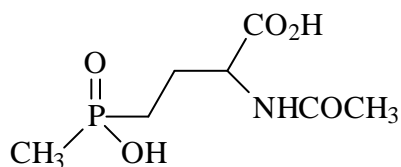
### Glufosinate (classe H)



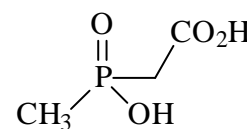
Glu



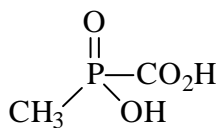
MPP



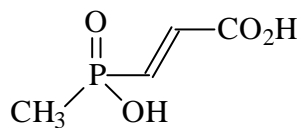
NAG



MPA



MPF



MPA2



## Chapitre 5.

# Conditions économiques, juridiques et sociales au développement des VTH

**Coordinateur :**

Christophe Charlier

**Contributeurs :**

Marc Barbier

Christophe Charlier

François Coleno

Stéphane Lemarié

Thierry Marteu

Mai-Anh Ngo

## Sommaire

|   |            |
|---|------------|
| Introduction.....   | 330        |
| <b>5.1. L'adoption des VTH : facteurs explicatifs, marchés et cadre juridique.....</b>  | <b>332</b> |
| <b>5.1.1. L'analyse économique des facteurs d'adoption des VTH .....</b>  | <b>333</b> |
| 5.1.1.1. La quantification de l'intérêt de l'adoption d'une semence TH.....   | 333        |
| 5.1.1.2. Eléments pris en compte dans le choix d'adoption d'une semence TH et impact de l'adoption : facteurs et conséquences pécuniaires ..... | 335        |
| 5.1.1.3. Facteurs d'adoption non pécuniaires et changements des pratiques.....  | 338        |
| 5.1.1.5. La réception des cultures transgéniques et des VTH par les agriculteurs : un éclairage sociologique .....                              | 345        |
| 5.1.1.6. Conclusion.....  | 346        |
| <b>5.1.2. Les stratégies d'offre des VTH.....</b>   | <b>346</b> |
| 5.1.2.1. Les acteurs incités à développer des VTH.....  | 347        |
| 5.1.2.2. Les pratiques de licence sur les caractères TH.....  | 348        |
| 5.1.2.3. Les ventes liées ou groupées entre VTH et herbicide.....   | 349        |
| 5.1.2.4. La tarification des VTH.....   | 349        |
| 5.1.2.5. Synthèse .....   | 351        |
| <b>5.1.3. Protection juridique de l'innovation variétale et mise sur le marché des VTH.....</b>   | <b>352</b> |
| 5.1.3.1. La mise sur le marché des variétés TH : entre logique de prévention et de précaution selon le procédé d'obtention.....                 | 352        |
| 5.1.3.2. Les VTH et l'"appropriation du vivant" .....   | 354        |
| <b>5.2. Coexistence des filières et responsabilité : éclairages économique et juridique .....</b>   | <b>368</b> |
| <b>5.2.1. Coût de la coexistence entre variétés .....</b>   | <b>368</b> |
| 5.2.1.1. L'intérêt de la coexistence pour les différentes catégories d'acteurs et l'impact sur l'utilisation des technologies .....             | 369        |
| 5.2.1.2. La mise en place de la coexistence sur le territoire.....  | 370        |
| 5.2.1.3. Les conséquences et l'organisation de la coexistence dans les chaînes d'approvisionnement..  | 371        |
| 5.2.1.5. Conclusion.....  | 372        |
| <b>5.2.2. L'analyse juridique de la traçabilité, de la responsabilité et de l'étiquetage .....</b>  | <b>373</b> |
| 5.2.2.1. La traçabilité .....   | 373        |
| 5.2.2.2. La responsabilité .....  | 374        |
| 5.2.2.3. L'étiquetage.....  | 377        |
| <b>5.2.3. Conclusion.....</b>   | <b>377</b> |
| <b>5.3. Un regard sociologique sur différents aspects de l'innovation TH .....</b>  | <b>379</b> |
| 5.3.1. L'amorce d'une contestation sur les VTH obtenues par mutagenèse.....   | 380        |
| 5.3.2. Appréhender la mise en cause de la mutagenèse à l'aune des débats sur les biotechnologies.....   | 381        |
| 5.3.3. Dynamiques sociales et cognitives du monde de la recherche agronomique en France .....   | 382        |
| 5.3.4. Conclusions .....  | 383        |

|   |            |
|---|------------|
| <b>5.4. Conclusions .....</b>                         | <b>385</b> |
| <b>Références bibliographiques citées .....</b>       | <b>388</b> |
| <b>Annexe. Mesures d'accompagnement des VTH .....</b> | <b>396</b> |

## Introduction

Les cultures de variétés tolérantes aux herbicides (VTH) connaissent un essor très important dans le monde (voir chapitre 1). Cet essor est expliqué par le développement d'une innovation biotechnique visant une simplification des systèmes de culture en proposant des variétés caractérisées par une propriété de tolérance à un herbicide. Certaines de ces VTH sont des variétés obtenues par transgénèse alors que d'autres sont le fruit d'autres pratiques comme les voies classiques d'introgression de mutations spontanées ou induites (mutagenèse). De nouvelles variétés pourront aussi résulter d'un processus d'amélioration fondé sur l'exploitation du mécanisme moléculaire de recombinaison homologe (voir chapitre 2).

Le 30 juillet 2011, à l'appel du mouvement des Faucheurs Volontaires, des manifestants ont arraché dans l'Isère des plants de tournesol obtenus par mutagenèse pour alerter le public sur ce qu'ils considèrent être des OGM. Il n'appartient pas aux sciences humaines et sociales (SHS) de trancher le débat sur le statut juridique (tel que défini par la directive 2001/18/CE) auquel ces semences peuvent être assimilées ou de clore la dispute sur les définitions de ce que peut recouvrir la catégorie 'organisme génétiquement modifié'. Les SHS peuvent par contre éclairer le régime sociotechnique sous-tendu par les VTH en répondant aux questions suivantes. Pourquoi les VTH sont-elles adoptées par les agriculteurs ? Quelles sont les caractéristiques des marchés sur lesquels elles s'échangent ? Comment fonctionne le marché du trait génétique TH ? Comment les firmes semencières peuvent-elles développer leur stratégie d'offre à la fois sur le marché des semences et sur le marché des traitements phytosanitaires ? Quels avantages peuvent-elles tirer de cette situation ? Comment la propriété intellectuelle de ces variétés est-elle protégée ? Avec quelles conséquences sur la société ? Le développement de ces cultures est-il encadré juridiquement ? Si un encadrement existe pour une partie d'entre-elles, quelles sont les conséquences de ces réglementations sur le choix des agriculteurs et sur l'organisation de l'espace agricole ? Si les VTH sont assimilées par une partie de la société aux OGM et qu'un débat social sur l'opportunité de leur développement devait émerger, quels enseignements peut-on tirer du débat sur les OGM ?

Pour instruire toutes ces questions, la faiblesse des résultats de recherche en SHS se saisissant des VTH comme objet d'étude est telle que le travail d'expertise est rendu difficile. Que ce soit, en effet, pour la sociologie, le droit ou l'économie, disciplines représentées dans ce chapitre, les VTH ne sont pas en tant que tel un objet d'étude dans la littérature académique au moment où nous écrivons. Au mieux peuvent-elles être appréhendées à travers une littérature traitant des OGM, et en particulier des OGM tolérants aux herbicides (OGM TH). Cette littérature, peu abondante, concerne en outre des espaces juridiques, socio-économiques et géographiques différents, où les écarts entre les réglementations sont notables. Néanmoins il a semblé pertinent de réaliser une synthèse des connaissances existantes en mobilisant un regard parfois prospectif.

Le chapitre va tout d'abord considérer la demande et l'offre de VTH dans une première partie. Il se concentrera ainsi sur les facteurs d'adoption des VTH dans la décision des agriculteurs en faisant état des travaux économiques sur cette question. Toujours d'un point de vue économique, il abordera ensuite l'étude des stratégies des firmes qui offrent simultanément une VTH et l'herbicide associé. Cette offre de produits complémentaires se fait sur deux marchés distincts (celui des variétés et celui des pesticides), sur lesquels les firmes ont un pouvoir de marché qu'elles peuvent faire jouer parce que la propriété industrielle des semences et des herbicides est protégée. Si la protection des herbicides par le brevet est classique, celle des semences est très particulière et mérite d'être éclairée. L'étude de ce dernier point permettra de clore la première partie.

La deuxième partie du chapitre traite de la problématique de la coexistence des filières, abordée tant du point de vue économique que du point de vue des éléments de droit qui l'encadrent. Traiter de la coexistence n'est pas immédiat et peut sembler trop centré sur les OGM. Deux éléments cependant suscitent notre intérêt pour cette question. Il existe tout d'abord des VTH GM pour lesquelles ces règles de coexistence devraient s'appliquer si elles devaient être développées sur le territoire européen. Ensuite, la question suivante qu'il nous semble difficile d'écarter à ce stade du débat social sur les VTH se pose : si les VTH devaient être distinguées de leurs homologues non-TH, soit parce qu'elles sont regardées comme des OGM, soit parce qu'elles sont considérées comme posant des problèmes (éthiques, sanitaires ou environnementaux) similaires à ceux posés par les OGM, que se passerait-il alors pour l'organisation des marchés et pour l'exercice de la liberté de choix des consommateurs et des producteurs ? La réponse à cette question passe inévitablement par l'étude de la problématique de la coexistence. Cette partie du chapitre s'intéressera ainsi dans un premier temps aux exigences de la coexistence et à leur mode de gestion. Cette gestion apparaîtra comme très sensible aux options

réglementaires qui ont été choisies, de sorte que l'étude de ce cadre juridique sera proposée dans un deuxième temps.

La troisième partie présente le cadre sociologique dans lequel le débat sur les VTH se développe. Dans les limites du cadre fixé par la commande, elle indique comment le débat social naissant sur les VTH est fondamentalement marqué par la controverse sur l'innovation agronomique fondée sur le recours à des plantes transgéniques. Cette étude expose ainsi comment le débat sur les OGM a achoppé sur des positions bloquées et une conflictualité qui a conduit à différents procès et décisions de justice. Si cette question des enseignements du débat sur les OGM nécessite l'utilisation de la littérature sociologique qui a éclairé celui-ci, la question de l'ancrage du débat sur les VTH dans le débat OGM suppose un travail interprétatif qui ne peut être développé directement à partir de cette littérature. Cette dernière est en effet antérieure à l'apparition du débat sur les VTH non-OGM qui n'a pas encore, lui, suscité de littérature propre. Ce travail peut paraître inhabituel dans le cadre d'une expertise, mais il est nécessaire pour que l'étude des dimensions sociétales à l'œuvre y soit également intégrée.

## 5.1. L'adoption des VTH : facteurs explicatifs, marchés et cadre juridique

La demande et l'offre de VTH comme biens économiques du secteur de l'agrofourniture, ainsi que le cadre juridique qui permet à celles-ci d'exister, sont au centre de cette première partie.

La demande de semences de VTH est appréhendée dans un premier temps à travers l'étude des facteurs d'adoption du paquet technologique formé par la semence et la prescription d'un herbicide, et de pratiques d'usage de cet herbicide dans la décision des agriculteurs. Il s'agit ici de faire état des travaux académiques qui ont tenté de cerner ce qu'attendent les agriculteurs du trait TH et ce qu'ont été les impacts effectifs de l'adoption des VTH. Cette étude montrera que les enjeux de l'adoption se situent comme on peut l'attendre au niveau du revenu des agriculteurs, mais qu'ils sont aussi liés aux changements des pratiques agricoles. Un facteur important sera le coût de la technologie. Celui-ci est évidemment très sensible aux prix des semences et de l'herbicide. Or ces prix dépendent du degré de concurrence des marchés sur lesquels semence et herbicide sont échangés. Le problème de la structure de l'offre sur ces marchés est ainsi avancé et est étudié dans un second temps.

Les VTH ont cette particularité de devoir être utilisées de manière complémentaire à l'herbicide auquel elles sont tolérantes : l'achat de ces variétés comme semence prescrit l'usage d'un herbicide. Les firmes de l'agrochimie présentes à la fois sur le marché des semences, et des pesticides peuvent dans un tel contexte développer des stratégies de commercialisation du trait TH ou des semences et de l'herbicide tout à fait originales par rapport à une situation où deux firmes différentes interviendraient séparément sur les marchés concernés. L'étude de cette situation proposée dans la section 5.1.2 montre comment les stratégies des firmes de l'agrochimie vont dépendre du pouvoir de marché qu'elles détiennent sur ces différents marchés. Les questions de l'incitation à développer les VTH, de l'accès au trait TH pour les semenciers qui n'en sont pas les propriétaires et de la pratique de ventes liées VTH-herbicide associée pourront alors être envisagées. Les conséquences de ce pouvoir de marché sur les prix des semences TH seront enfin explorées. L'exercice possible d'un pouvoir de marché par les offreurs apparaîtra tout à fait central dans cette section. Or celui-ci n'apparaît que si les VTH constituent des innovations protégées. L'étude du/des mode(s) juridique(s) de protection des VTH et du trait TH est ainsi suscitée et abordée dans un troisième temps.

La troisième section envisagera ainsi les cadres juridiques de la protection des VTH. Ces variétés présentent une innovation génétique (le trait TH) qui leur permet d'être un objet du droit de la propriété intellectuelle. L'étude montre comment cette protection peut être obtenue à travers la soumission des VTH aux droits des obtentions végétales et du brevet d'invention. La cohabitation de ces deux modalités de droit de propriété permet de protéger à la fois le trait et la variété, même si ces deux éléments peuvent paraître indissociables d'un premier abord. Cette simultanéité de deux régimes de protection n'est cependant pas sans incidence sur les intérêts des obtenteurs et des inventeurs. L'enchevêtrement des prérogatives sur une même plante et la gestion des dépendances deviennent alors des questions très délicates qui seront ainsi placées au cœur de cette section.

La littérature utilisée dans les deux premières sections est principalement de type académique, anglo-saxonne pour l'essentiel, peu abondante et publiée dans des revues scientifiques spécialisées dans le champ de l'économie agricole, utilisant majoritairement des données américaines sur les cultures OGM TH. C'est en effet aux Etats-Unis (mais aussi en Amérique du Sud et au Canada) que ce type de culture a connu l'essor le plus important à partir de 1996. Un point commun à ces travaux sera de considérer la littérature sur les OGM TH pour l'intérêt que présente le trait TH plutôt que pour le mode d'obtention (transgénèse) de ces VTH. Dans la première section, c'est la caractéristique TH qui est importante pour la question des facteurs d'adoption, et non les propriétés du mode d'obtention. Dans la section 5.1.2, la question essentielle est l'exploration du lien entre deux marchés par les offreurs qui apparaît avec les VTH. La section juridique s'appuiera sur une littérature assez restreinte de type académique ayant trait aux questionnements développés dans la doctrine juridique par les VTH en France.

### 5.1.1. L'analyse économique des facteurs d'adoption des VTH

*Christophe Charlier*

Deux grandes voies connexes sont explorées pour envisager dans l'analyse économique la question de "l'impact" des cultures GM TH sur les agriculteurs. Une première voie, "quantitative", a cherché à quantifier "l'intérêt" de l'adoption d'une semence TH pour l'agriculteur. Dans cette littérature, "l'intérêt" a pu être défini de différentes manières : en faisant référence aux rendements des cultures, ou à la profitabilité de l'activité, au revenu d'exploitation de l'agriculteur... Une deuxième voie, plus "qualitative", a cherché à éclairer les changements des pratiques qui accompagnent le choix d'une semence TH. La question de la gestion des adventices ou encore celle du non-labour ont par exemple (et en particulier) été explorées dans cette approche. La première voie correspond à ce que l'on attend de prime abord d'une étude d'impact. La seconde présente le grand intérêt d'introduire d'autres facteurs explicatifs de la décision d'adopter des cultures TH.

Cette manière d'envisager l'intérêt/le désintérêt des cultures TH est issue d'un paradoxe révélé très rapidement dans la littérature, au moins en ce qui concerne le soja GM TH (Fernandez-Cornejo et al. 2002, Sonka 2003). Les évaluations des cultures GM TH réalisées aux USA de manière expérimentale tout d'abord, et en conditions d'activité réelle ensuite, se sont en effet révélées contradictoires : l'amélioration des rendements et la baisse des coûts de production que pronostiquait le premier type d'études n'ont pas été attestées par la seconde catégorie de travaux. Or, parallèlement, ce type de culture a connu un essor remarquable sur le territoire américain. Il devenait donc difficile d'expliquer ce développement grâce aux rendements ou à la profitabilité. La question qui s'est inévitablement posée a alors été de savoir s'il existait d'autres variables que les rendements et les coûts sur lesquelles les cultures GM TH auraient un impact et qui expliqueraient ainsi leur adoption par les agriculteurs.

En essayant de répondre à ces questions liées, la littérature économique va éclairer les canaux par lesquels les cultures GM TH ont un impact sur l'activité des agriculteurs. D'une manière générale, les études sont peu nombreuses et disparates quant à la méthodologie utilisée, à ce qu'elles mesurent effectivement et au type de cultures concernées. Elles sont par contre principalement centrées sur le cas des Etats-Unis, même si ce ne sont pas toujours les mêmes Etats qui sont concernés. Une autre littérature, plus limitée, développe le même questionnement en envisageant plus particulièrement le cas de pays en développement. Le choix a été fait dans ce travail de privilégier les études publiées dans des revues à comité de lecture. Des rapports de l'US Department of Agriculture (USDA) et pour la Commission Européenne ont cependant été utilisés lorsque cela été nécessaire.

La contribution est organisée de la façon suivante. Dans une première section, quelques remarques d'ordre méthodologique sont présentées. La deuxième section présente les facteurs d'adoption ayant trait directement au profit des agriculteurs. La troisième s'attache à la présentation de facteurs d'adoption et de modifications de pratiques, appelés non pécuniaires dans la littérature économique, c'est-à-dire relevant de caractéristiques qui ne sont pas directement attachées à la fonction de profit ou évaluables en termes monétaires. Les travaux récents montrent qu'une menace importante à la pérennité de l'innovation que forment les VTH apparaît avec l'expansion de la résistance à l'herbicide de certaines adventices. Ils font ainsi écho aux travaux en agronomie mettant en avant ce résultat (voir chapitre 3, section 3.2). La quatrième section fera alors état des travaux économiques ayant trait aux mesures d'accompagnement pour faire face au problème de la résistance à l'herbicide. La cinquième section donne enfin un éclairage sociologique de la question de l'adoption des VTH. La sixième section conclut.

#### 5.1.1.1. La quantification de l'intérêt de l'adoption d'une semence TH

La quantification de l'intérêt de l'adoption d'une semence GM TH (ou de n'importe quelle autre technique agricole) n'est pas une opération simple (Bonny 2002; Kaphengst et al. 2010). La référence au rendement dans les travaux sur lesquels s'appuie cette note est omniprésente. Si cette référence est attendue, elle est cependant insuffisante.

La recherche de rendements plus élevés peut tout d'abord ne pas être l'objectif d'adoption. Un exemple souvent cité dans la littérature (voir plus bas) correspondant à cette situation est le choix d'une semence TH dans le but d'éviter un contrôle des adventices passant par le labour répété afin de gérer un problème d'érosion des sols. Un autre exemple peut être le choix d'une semence TH pour pouvoir désherber plus facilement (lorsque la terre est

mise en culture initialement par exemple), quitte à revenir sur une semence non TH après, une fois le désherbage effectué (voir Fok 2010 et Fok et al 2010 dans le cas du soja TH au Brésil où cette pratique porte le nom de « rodizio »). Toujours dans la même ligne, la facilité d'utilisation d'un herbicide plutôt que de plusieurs est aussi souvent avancée. Enfin, la recherche de rendement peut ne pas être une variable explicative du choix d'une semence TH lorsque la disponibilité de la terre agricole n'est pas une contrainte.

L'augmentation du rendement ne signifie pas forcément ensuite augmentation du profit, or on peut attendre que ce soit celui-ci qui soit déterminant dans la décision d'adoption d'une semence. Le coût des semences et le coût des traitements phytosanitaires doivent en effet être pris en compte afin de pouvoir trancher sur la question de l'augmentation des profits. Dans une vision plus large de l'objectif de l'agriculteur, le bénéfice d'une réduction du temps de travail doit aussi être pris en compte, avec éventuellement des conséquences directes comme le bénéfice du travail hors de la ferme (cas des pays développés) ou comme l'augmentation du taux de scolarité lorsque la réduction du temps de travail concerne le travail des enfants (cas des pays en développement). Il en va de même pour la prise en compte du bénéfice issu d'une réduction d'autres inputs : utilisation des machines, essence, etc.

La référence à la marge brute ou à la rentabilité permet de prendre en compte les différents coûts et de les mettre en perspective aux rendements (qui augmentent les recettes). Cependant, lorsque le travail n'est pas payé (entreprise familiale, travail de management...), son coût n'apparaîtra pas. De même, les coûts et bénéfices environnementaux (même s'ils peuvent concerner à terme l'agriculteur) ne seront pas pris en compte : bénéfice d'une moindre érosion des sols ; coût de l'apparition d'adventices résistantes à l'herbicide utilisé (voir par exemple le cas du "Horseweed" résistant au glyphosate étudié par Hanson et al. (2009) dans une région de la Californie), etc.

La comparaison des marges brutes, si elle peut être faite, n'a pas forcément grand sens car elle repose implicitement sur des hypothèses peu réalistes. En effet, pour pouvoir affirmer que la culture d'un OGM TH est plus intéressante que la culture d'un équivalent non-OGM, ou encore que la culture de tel OGM est plus intéressante que la culture de tel autre OGM (maïs Bt vs maïs TH par exemple) sur la base de la comparaison des marges brutes, il est nécessaire de faire l'hypothèse que la différence observée dans les marges ne s'explique que par le type de culture retenu (voir les remarques de Fulton et Keyowski 1999 sur ce point). Que dire alors d'une différence de productivité "naturelle" des sols ? Ou encore, d'une différence de qualité de la main d'œuvre, ou de sa capacité à mettre en œuvre un processus de production novateur ? Dans la même ligne, que dire de l'influence d'aléas climatiques ? etc. Bonny (2008) note par exemple à propos du soja que l'écart de marge entre une variété GM TH et une variété conventionnelle est difficile à quantifier car les coûts de production varient fortement d'une exploitation à l'autre, mais aussi parce que les prix des semences, des herbicides et de l'output lui-même ont varié au cours du temps (sur ces variations, voir Gianessi, 2008).

Pour pouvoir traiter de ces biais inévitables, il est nécessaire de raisonner par rapport à un scénario idéal servant de norme, de mesurer ensuite les écarts entre la réalité et la norme et de pouvoir isoler la contribution de chaque facteur de production à ces écarts. Dans cette voie, Gouse et al. (2009) proposent de raisonner sur les inefficacités des systèmes de production en calculant tout d'abord les écarts entre une frontière efficace des possibilités de production matérialisant la production obtenue lorsque tous les facteurs de production sont employés de manière optimale (sans gaspillage d'aucune sorte) et la frontière des possibilités de production observée. A l'aide d'un modèle économétrique, ils isolent ensuite chaque facteur explicatif des écarts observés entre le scénario idéal et le scénario réel. L'application de cette méthode par Gouse et al. (2009) au maïs TH cultivé dans trois régions d'Afrique du Sud permet d'obtenir le résultat selon lequel le choix du maïs TH augmenterait l'efficacité de la production de 10%, alors que la conclusion aurait été de 85% si le seul critère du rendement avait été retenu.

La référence à la compétitivité des secteurs agricoles qui dépasse la simple productivité aurait pu être utilisée pour appréhender l'impact des cultures TH (voir Latruffe, 2010). De même, d'autres critères pourraient être retenus (permettant de prendre en compte les coûts et bénéfices externes en particulier - voir Charlier et Valceschini, 2010). On passerait alors à une analyse coût-bénéfice des cultures TH qui n'est pas envisagée dans les travaux référencés ci-dessous.



## 5.1.1.2. Eléments pris en compte dans le choix d'adoption d'une semence TH et impact de l'adoption : facteurs et conséquences pécuniaires

### 5.1.1.2.1. Les premières études sur données américaines

La perspective d'obtenir un profit plus élevé est considéré comme un facteur d'adoption d'une nouvelle technologie comme peuvent l'être les VTH. Le profit peut augmenter car la recette totale augmente (à coût total inchangé). Le prix de vente de la denrée agricole produite et les rendements sont ici déterminants. Le profit peut enfin augmenter parce que le coût total de production baisse (à recette totale inchangée). La modification des pratiques et le prix des inputs sont dans cette perspective les éléments décisifs.

#### *Les facteurs d'adoption rattachés à la recette totale*

Les premières études montrent sans surprise que toute baisse du prix de l'output jouerait comme un frein à l'adoption. Le fait cependant que la denrée agricole principale concernée ici, le soja TH, soit utilisée dans la consommation animale, et qu'aucun blocage des consommateurs américains n'ait été constaté, ont eu pour conséquence de faire disparaître ce point particulier des études sur les facteurs d'adoption. Finger et al. (2009) soulignent dans le cas de l'Argentine l'importance de la réaction des consommateurs dans le choix des producteurs de se tourner vers la technologie TH OGM : l'existence de consommateurs enclins à consommer OGM forme un cadre permettant, à l'évidence, le développement de ce type de culture.

Côté recette, ce sont donc les rendements qui ont retenu l'attention. Pour Klotz-Ingram et al. (1999), par exemple, les deux premières raisons avancées à l'adoption de semence TH sont l'"augmentation des rendements grâce à l'amélioration du désherbage" pour 76,3% des adoptants et un coût plus limité des traitements chimiques pour 18,9% des adoptants. Les résultats (dont la qualité est limitée par le petit nombre d'observations) des premières études (Carpenter et Gianessi, 1999; Klotz-Ingram et al., 1999), se rejoignent pour insister sur le fait que l'augmentation des rendements n'est pas toujours constatée.

Un rapport de l'Economic Research Service de l'USDA (Fernandez-Cornejo et Caswell, 2006) notera, pour expliquer que l'augmentation des rendements n'a pas forcément été au rendez-vous des premières expériences, que le gène TH n'a pas, initialement, été introduit dans les cultivars aux rendements les plus élevés. Le rapport montrera cependant que pour les années 2000 à 2003, la raison principale (avancée par plus de 60% des agriculteurs américains quel que soit le type de culture) de se tourner vers des semences TH était l'augmentation de rendement, suivie par la recherche d'une flexibilité du travail (mais dans une moindre mesure : pour moins de 20% des adoptants pour les différents types de culture) et enfin par le coût plus petit des traitements chimiques (11% pour le coton et le maïs TH et 17% pour le soja).

Marra et al. (2002) ont proposé une revue des premières études (en faisant référence à des études de types très différents : articles académiques, rapports, groupes d'étude, etc.) montrant l'intérêt des cultures TH et Bt. Leur conclusion est que ces cultures permettent généralement (quelques exceptions sont toutefois présentées) un profit moyen plus élevé et une utilisation de pesticides plus faible que les cultures conventionnelles. Si la méthodologie utilisée peut être questionnée (juxtaposition de différentes études avec présentation des valeurs minimales et des valeurs maximales observées et calcul de la moyenne sans se soucier de l'homogénéité méthodologique des différents travaux), l'attention portée à la rentabilité et à l'utilisation d'intrants chimiques est à souligner. Ce sont en effet les critères ayant retenu l'attention de cette première génération d'études.

#### *Les facteurs d'adoption rattachés au coût total*

Les études de Carpenter et Gianessi (1999) et Klotz-Ingram et al. (1999) montrent que les gains en termes de coût du contrôle des adventices seraient appréciables.

Tout d'abord, une flexibilité dans la mise en œuvre du contrôle des adventices serait à mettre à l'actif des cultures TH du fait de l'utilisation d'un seul herbicide et d'une technique d'application plus aisée, avec une période de traitement plus longue et une moindre rémanence dans le temps. Cette gestion plus facile des adventices se traduit en un coût de production plus faible. Cette idée est largement développée dans les premières études (voir Bonny, 2002, qui analyse les premières revues de littérature). Gianessi (2008) indique par exemple qu'au début des années 1990 aux Etats-Unis, avant l'introduction des OGM TH, 23% des surfaces plantées en soja étaient traitées avec plus de quatre herbicides différents (et 28% avec plus de trois).

#### **Encadré 5-1. L'article de Fernandez-Cornejo et al. 2002**

*Dans ce premier groupe de travaux, l'article de Fernandez-Cornejo et al. (2002) se dégage comme un article important tant du point de vue du questionnement que de la méthodologie utilisée (voir aussi les deux rapports pour l'USDA : Fernandez-Cornejo et McBride, 2002; Fernandez-Cornejo et Caswell, 2006). Dans cette étude, les auteurs utilisent les données de l'enquête ARMS de l'USDA pour l'année 1997 concernant le soja TH et proposent une étude économétrique basée sur un modèle de maximisation du profit afin de mettre en évidence les variables significatives pour la décision d'adopter la technologie TH. Les variables explicatives envisagées sont très diverses : la taille de l'exploitation, le niveau d'éducation de l'exploitant, le prix des semences, la pratique de labour, etc. Les résultats de l'étude montrent que les rendements sont positivement mais faiblement affectés par l'adoption de semences TH et que l'impact de celle-ci sur le profit n'est pas significatif. Une question apparaît alors centrale suite à ces conclusions : comment expliquer l'adoption large et croissante de la technologie TH si celle-ci n'a que peu d'impact sur les rendements et qu'aucun impact significatif sur les profits n'est révélé ?*

Fernandez-Cornejo et al. (2002) montrent que la substitution du glyphosate aux autres désherbants peut être expliquée par un double phénomène : l'adoption de la technologie TH d'une part, et la baisse du prix de ce désherbant par rapport aux prix des autres d'autre part. Ce dernier argument touche à la diminution du coût total de production via la baisse du prix du traitement phytosanitaire. Le brevet protégeant le glyphosate est arrivé à échéance en 2000 aux Etats-Unis, autorisant la production de génériques qui s'est accompagnée d'une baisse de 40% du prix de ce désherbant entre 1999 et 2005 (Gianessi, 2008). Bonny (2002, 2008) note cependant que la réaction des firmes de l'agrochimie a été de baisser les prix des autres désherbants (voir section 5.1.2.4), baisses comprises entre 20 et 40% selon Gianessi, 2008, de sorte que la réduction des coûts des traitements (Sonka, 2003) a bénéficié à l'ensemble des producteurs (de soja dans les études de l'auteur). En reprenant les données de Gianessi (2008), nous pouvons conclure que le prix relatif du glyphosate par rapport aux prix des autres herbicides a baissé, favorisant ainsi l'adoption des semences TH.

Le coût total n'est cependant pas résumé par le seul coût de l'intrant chimique. Bonny (2002, 2008) souligne qu'il est nécessaire de prendre en compte le coût de la semence GM comparativement au coût des semences conventionnelles (voir section 5.1.2.4). Le surcoût de la semence GM qui apparaît ici joue comme un frein à l'adoption. A titre d'exemple, les résultats du questionnaire sur les raisons de l'adoption par les cultivateurs de soja dans l'Etat du Delaware utilisé par Bernard et al. (2004b) montrent que ce surcoût constitue un frein pour 65,5% des non-adoptants.

Si la littérature a ainsi été orientée sur l'explication d'un paradoxe : forte adoption des semences TH dans une situation où l'augmentation des rendements n'est pas très forte, voire inexistante (voir Kaphengst et al., 2011 pour une étude récente), notons que ce paradoxe semble propre à la culture du soja et qu'il n'a pas été révélé pour certains couples soja-pays comme l'Argentine (Kaphengst et al., 2011) et la Roumanie (Brookes, 2005), constate ainsi l'augmentation des rendements et de la profitabilité pour cette culture du fait de l'amélioration notable que la technologie TH représente dans le contrôle des mauvaises herbes par rapport à ce qui était pratiqué jusque-là avec des semences conventionnelles). Brookes et Barfoot (2008) soulignent d'autre part que l'augmentation du revenu des agriculteurs a été constatée dans le cas du coton TH (Fernandez-Cornejo et Caswell, 2006) du colza TH (voir aussi pour cette culture Gusta et al., 2011, qui font état des premières études sur le colza ayant des conclusions allant dans ce sens au Canada), ainsi que dans le cas du maïs TH. Ces conclusions sont réitérées par Brookes et Barfoot (2009). L'annexe 1 des auteurs permettant de décomposer l'augmentation du revenu des agriculteurs montre que dans le cas des Etats-Unis pour le soja, maïs et coton TH, l'augmentation du revenu n'est pas expliquée par l'augmentation des rendements mais par la baisse des coûts de production. La baisse des coûts de production ainsi que l'augmentation des rendements expliqueraient par contre l'augmentation du revenu des agriculteurs américains (comme canadiens) cultivant le colza TH. Le rapport de Fernandez-Cornejo et Caswell (2006) souligne quant à lui l'augmentation des rendements dans le cas du coton TH (utilisant des données de 2002).

#### **5.1.1.2.2. Etudes récentes sur données américaines**

Les études récentes ont répondu au problème central soulevé initialement par Fernandez-Cornejo et al. (2002) en essayant d'amener des résultats plus fins sur la comparaison des rendements et de la profitabilité des cultures TH et conventionnelles. Elles remettent ensuite en cause l'idée d'une baisse incontestable des coûts de la

gestion des adventices suite à l'apparition de mauvaises herbes résistantes aux herbicides utilisés avec les VTH transgéniques.

#### *Rendements et coût*

Dans une revue de la littérature récente, Gianessi (2008) fait état de la baisse des coûts et de l'augmentation des rendements en distinguant les résultats dans les cas du soja, du maïs et du coton. Bernard et al. (2004a, b) montrent, à partir d'une étude économétrique sur des données de 1999 concernant les cultivateurs de soja de l'Etat du Delaware, une diminution du coût du contrôle des adventices suite à l'adoption de semences TH (seuil de 5%) et, dans une moindre mesure, une augmentation des rendements (seuil de 10%). Toutefois, la baisse significative des coûts observée pour le contrôle des adventices révélée par cette étude et la mauvaise qualité du modèle expliquant la variation des rendements ( $R^2$  faible) montrent qu'une explication possible de la forte adoption des cultures TH (pour le soja au moins) serait à rechercher non pas dans la volonté qu'auraient les agriculteurs d'obtenir des rendements plus importants mais dans la facilité du contrôle des adventices qu'autoriseraient les cultures TH.

Gusta et al. (2011) ont étudié l'impact de l'adoption du colza TH (Clearfield®, Liberty Link® et Roundup Ready®) au Canada (Alberta, Saskatchewan et Manitoba) à partir d'un échantillon de 571 agriculteurs. Leurs résultats principaux montrent que pour 60,3% des répondants l'adoption du colza TH a facilité la gestion des mauvaises herbes et que la gestion de la résistance des mauvaises herbes aux herbicides est la même suite à l'adoption pour 43,8% (plus difficile pour 23,4%). Le coût de contrôle des repousses de colza serait resté constant de 1996 à 2006 pour 73% des agriculteurs interrogés. L'étude montre qu'en moyenne, les recommandations de rotation des cultures (semier une fois du colza tous les 4 ans sur une parcelle) ne sont pas respectées : les agriculteurs enquêtés sèment en moyenne du colza tous les 3,5 ans. Les auteurs estiment que ce résultat tendrait à montrer que le colza n'est pas problématique pour les profits réalisés avec les cultures qui suivent. Dans la même perspective, les auteurs ont essayé d'évaluer, dans une initiative originale, le bénéfice du colza TH pour l'année qui suit immédiatement celle de la culture de la VTH. Ce bénéfice, qui est rapporté par 44% des répondants, serait dû à l'amélioration de la gestion des adventices en  $t + 1$  dans les champs ayant été ensemencés en colza TH en  $t$ . Les économies estimées varient en fonction de l'herbicide (le Roundup® est rapporté comme le plus performant de ce point de vue) mais montrent que les études qui ignorent cette "externalité" dans le temps sous-estiment le revenu procuré par le colza TH. Pour les auteurs de cette étude, le bénéfice de cette "externalité" représenterait entre 19% et 28% du bénéfice net total de la nouvelle technologie.

#### *La baisse des coûts remise en question par les mauvaises herbes résistantes aux herbicides*

Le problème de l'apparition d'adventices résistantes au glyphosate ou autres désherbants a rapidement été soulevé dans une littérature récente (voir Chapitre 3, section 3.2). Ce problème est considéré à travers la difficulté qu'il pose pour les agriculteurs dans le contrôle des adventices (alors qu'il aurait pu être considéré comme un problème environnemental). Il est vu comme l'origine de réduction des bénéfices (Hurley et al., 2009b), ou encore comme nécessitant un changement des pratiques dans la gestion des adventices afin d'envisager le développement des cultures TH à long terme ayant recours à la mécanisation et à l'introduction de nouveaux herbicides (Duke et Powles 2008).

Benbrook (2009) recense les 5 pratiques suivantes qui ont été développées pour faire face aux mauvaises herbes résistantes aux herbicides : application d'herbicides additionnels, augmentation des taux d'application de l'herbicide utilisé avec la semence TH, augmentation du nombre d'applications, labour, désherbage manuel. Pour Benbrook (2009), ceci occasionne une augmentation du coût de production, résultat permettant à l'auteur de pronostiquer une baisse des surfaces cultivées en HT.

Hurley et al. montrent à la suite d'une enquête (Hurley et al. (2009), en coopération avec Monsanto) que 59% des cultivateurs de coton, 54% des cultivateurs de soja, et 48% des cultivateurs de maïs interrogés se disent concernés par ce problème.

Dans un article récent, Frisvold et Reeves (2010) font une revue de la littérature agro-économique sur ce point, qui montre que ce problème de résistance aux herbicides des mauvaises herbes est suffisamment important pour que la question de la pérennité de la technologie VTH GM soit posée.

L'étude de Gusta et al. (2011) sur le colza au Canada montre *a contrario* que la résistance des mauvaises herbes aux herbicides n'est pas devenue un problème pour les agriculteurs (seuls 23,4% des agriculteurs enquêtés font

état de difficultés accrues). Un discours très optimiste existe aussi à l'égard du problème des mauvaises herbes résistantes aux herbicides, pointant l'innovation en matière d'herbicide et de semences TH comme une solution (Green et al., 2008).

### 5.1.1.2.3. Propos d'étape

Quels sont les enseignements que l'on peut tirer de cette première série de travaux sur les facteurs d'adoption et l'impact des OGM TH ?

- L'augmentation des rendements suite à l'adoption n'est pas forcément constatée, surtout dans les premières études. Cette conclusion cependant est sensible au type de culture et à l'aire géographique considérée.
- Le surcoût des semences OGM TH est un frein à l'adoption.
- L'attitude des consommateurs n'a pas vraiment été perçue par les agriculteurs comme une variable sensible pour la maximisation du profit<sup>1</sup>.
- Les études s'accordent pour souligner les économies de coûts du contrôle des adventices engendrées par l'adoption des OGM TH du fait d'une plus grande flexibilité dans le travail (moins de passages d'herbicides, et passage en post-levée) et d'une baisse du prix des herbicides.
- Ces économies sont remises en cause dans certaines études récentes du fait de l'apparition de mauvaises herbes résistantes à l'herbicide associé aux semences TH.

### 5.1.1.3. Facteurs d'adoption non pécuniaires et changements des pratiques

Pour expliquer l'engouement pour les cultures TH (le constat de la forte augmentation des surfaces plantées d'OGM TH étant maintenu), les études ont essayé de mesurer l'impact d'autres critères que le seul rendement et l'économie de coût, critères dits "non pécuniaires", dans la décision des agriculteurs d'adopter une semence TH. Ces facteurs sont *a priori* assez hétérogènes. Ils peuvent tout d'abord concerner des caractéristiques des exploitations agricoles concernées : la taille de l'exploitation, l'âge de l'exploitant, etc. Ils peuvent être des caractéristiques qui différencient les agriculteurs par rapport à l'adoption. Lorsque ceux-ci sont averses à l'égard du risque, toutes les caractéristiques de l'adoption qui les assureraient implicitement contre le risque de perte peuvent être considérées comme une autre série de facteurs non pécuniaires à l'adoption. Nous avons pu dans la section 5.1.1.2 insister sur la meilleure gestion des adventices qui serait autorisée, au moins pour les premières études, par l'adoption des OGM TH. Un changement qualitatif du type de travail apparaîtrait ainsi. Dans ce cadre, les études ont essayé de savoir si ce changement était lié avec l'adoption du non-labour. Enfin, un corolaire de l'amélioration de la gestion des adventices est un gain de temps pour les agriculteurs. Or le temps concerné ici peut être celui de l'agriculteur ou du ménage agricole et n'est donc pas rémunéré, sortant donc du cadre strict de la fonction de profit. Cette économie de temps qui peut être un facteur explicatif de l'adoption de semence TH sera ainsi ici considérée au titre des facteurs non pécuniaires.

#### 5.1.1.3.1 Les caractéristiques des exploitations agricoles adoptantes

##### *La taille de l'exploitation*

Les résultats concernant le facteur "taille de l'exploitation" ne sont pas identiques selon le type de culture envisagé<sup>2</sup>. Fernandez-Cornejo et McBride (2002) montreront que la taille de l'exploitation est facteur explicatif de l'adoption du maïs TH, mais n'apparaît pas significatif dans le cas du soja TH. L'explication portée à ce constat pointe la différence des taux d'adoption (moins grand dans le cas du maïs TH). Bernard et al. (2004a, b) trouvent ensuite que la taille de l'exploitation constitue une variable qui affecte de manière positive la probabilité d'adoption du soja TH (seuil de 5%).

---

<sup>1</sup> Rappelons que ces études concernent pour l'essentiel l'agriculture nord-américaine.

<sup>2</sup> Dans le cas du soja TH cultivé en Argentine, un effet taille de l'exploitation semble à l'œuvre et distingue les premiers agriculteurs adoptants des adoptants plus récents. Voir Encadré 5-2 plus bas

### *Le niveau d'éducation*

Le même constat que pour la taille de l'exploitation est avancé pour le facteur "éducation" par Fernandez-Cornejo et McBride (2002), alors que le facteur "expérience professionnelle" affectera positivement l'adoption du maïs comme du soja TH.

Les travaux de Bernard et al. (2004a, b) montrent que le niveau d'éducation influencerait positivement le rendement des cultures TH (seuil de 1%) et la baisse des coûts (seuil de 10%). L'utilisation des nouvelles techniques informatiques de communication (NTIC) constitue aussi une variable affectant de manière positive la probabilité d'adoption du soja TH (seuil de 5%). Il est important de noter cependant que l'étude ne concerne qu'un seul type de culture (soja) et qu'un seul Etat<sup>3</sup>. L'échantillon sur lequel elle se base est petit (116 points) comparé aux échantillons des autres études et il a été construit à partir des réponses des agriculteurs à un questionnaire des auteurs. Enfin, un biais (qualifié de "léger") est repéré par les auteurs en faveur de la représentation des grandes exploitations dans leur échantillon.

#### **5.1.1.3.2. Facteurs permettant une meilleure gestion des risques**

Dans un rapport pour le *Center for Integrated Pest Management* (commande de Monsanto) construit à partir d'une enquête statistique portant sur des données de 2003, Marra et al. (2004) montrent qu'à côté de facteurs renvoyant à la rentabilité, des facteurs non pécuniaires comme la sécurité des travailleurs, l'impact sur l'environnement (moindre toxicité et moindre persistance du glyphosate), ainsi que des facteurs de flexibilité (travail du sol minimal, utilisation moindre des machines, etc.) sont pris en compte dans le choix de la technologie TH par les producteurs de soja américains.

Plus récemment, une étude de Hurley et al. (2009) montre (à partir d'une enquête téléphonique auprès d'agriculteurs américains utilisant des semences TH coton, soja, maïs ; 22 Etats, 1205 réponses) que la protection contre les pertes de rendement et la qualité du contrôle des adventices apparaissent comme deux facteurs explicatifs dominants, suivis par des considérations de santé et des considérations environnementales, alors que l'attention aux coûts vient en troisième position.

Bonny (2002, 2008) note que la flexibilité d'utilisation des herbicides complémentaires aux semences TH se traduit en sécurité économique dans la gestion du désherbage : une plus longue période de possibilité de réalisation de traitement diminue le risque d'intervenir trop tard lorsque les conditions météorologiques empêchent de traiter à la période adéquate (Bullock et Nitsi, 2001). La possibilité d'application en post-levée permet aussi à l'agriculteur d'attendre de connaître le niveau du problème des adventices et de prendre une décision de désherbage la plus adéquate (Hennessy et Saak, 2003).

Fernandez-Cornejo et McBride (2002) montrent que l'adoption de contrat, qui sécurise le débouché pour la production, le prix, et donne accès à une expertise et une information, apparaît comme un moyen de gérer le risque. La présence de tels contrats affecte positivement l'adoption du soja TH, sans jouer de rôle particulier dans l'adoption de maïs TH.

Les conclusions des études auxquelles il a été fait référence jusque-là dans la présente section ont été tirées à partir de données d'exploitations agricoles qui pratiquent déjà les cultures GM TH. Un autre type d'étude propose à travers un questionnaire de placer des agriculteurs d'une aire géographique n'ayant pas adopté les cultures GM TH dans la situation d'adoptants potentiels et de recenser les facteurs favorisant à leurs yeux l'adoption. Dans une étude menée en Suisse, Schweiger (2010) fait ainsi état de quatre facteurs statistiquement significatifs pour l'adoption potentielle du maïs TH ou du colza TH : la part de maïs dans les terres, le revenu de l'agriculteur, la charge de travail estimée au champ plus réduite et l'adoption d'OGM TH par les voisins. L'auteur insiste sur ce dernier facteur pour souligner l'importance manifeste de "l'environnement social" dans le choix d'adoption des producteurs. Le risque de se retrouver comme adoptant isolé serait ainsi un frein à l'adoption. Une autre interprétation pourrait être que les agriculteurs anticipent les coûts de la mise en œuvre de la coexistence. Ceux-ci ne sont pas certains, mais dépendent en grande partie du type de culture développé sur les exploitations voisines. Cette interprétation n'est pas envisagée dans l'article et rien ne permet de l'affiner (l'environnement réglementaire européen n'est pas pris en compte par l'auteur).

---

<sup>3</sup> Gianessi (2008) note que l'Etat du Delaware n'était pas pris en compte dans l'enquête ARMS 1997 utilisée par Fernandez-Cornejo et al. (2002).

### 5.1.1.3.3. La relation entre adoption de culture TH et adoption d'un travail du sol minimal

Les études essayant d'expliquer le choix des semences TH sur des bases plus qualitatives qu'en faisant référence aux rendements, profits, etc., considèrent que l'adoption de semence TH constitue un changement technologique (désherbant différent, pratiques de travail du sol éventuellement différentes, etc.). Sur cette base, le but des études est de savoir si ce changement technologique est lié (corrélation simple) avec d'autres changements technologiques, voire, s'il engendre et/ou s'il est engendré (causalité) par d'autres changements technologiques.

L'"autre technologie" principalement étudiée est le non-labour (*conservative tillage*). Le lien entre la technologie TH et le "travail du sol simplifié" se trouve dans le contrôle des adventices : un contrôle plus aisé par l'adoption de la technologie TH permettrait de se tourner vers une simplification du travail du sol, ou encore, l'incitation à adopter le non-labour dans certaines régions des Etats-Unis où l'érosion forte favoriserait l'adoption de semences TH (régions qualifiées de HEL pour "*highly erodible land*").

La question "simple corrélation ou causalité" a un enjeu tout à fait important d'un point de vue économique : si l'adoption de semence TH implique l'adoption du non-labour parce qu'elle offre une autre manière de contrôler les adventices, alors elle participe indirectement : à la lutte contre l'érosion des sols, à l'amélioration de l'infiltration de l'eau dans les sols, au maintien de la fertilité, à la séquestration du carbone, à la baisse de la consommation de certains inputs (travail, essence, machines), etc. En bref, l'adoption d'une technologie TH aurait des enjeux environnementaux (ici positifs, voir Brookes et Barfoot, 2008, 2010) indirects représentés en analyse économique par le concept d'"effets externes" positifs. En outre, si ces enjeux environnementaux sont pris en compte dans la décision d'adoption, la question des autres facteurs explicatifs de l'adoption d'une semence TH se retrouverait posée de manière connexe. Notons cependant que cette orientation vers le non-labour (Bernard et al., 2004a, b) préexistait à l'introduction des VTH GM.

Dans une étude économétrique utilisant des données de seize Etats américains producteurs de coton TH (64 points par année et par Etat<sup>4</sup>) sur la période 1997-2002<sup>5</sup>, Frisvold et al. (2009) ont apprécié la dépendance (ou l'indépendance) de l'adoption de semences TH et de l'adoption du non-labour. Ils s'inscrivent dans une littérature qui jusque-là n'avait envisagé la question de la corrélation des deux technologies que dans le cadre de données en coupe pour plusieurs Etats américains ou de série temporelle pour un Etat américain.

Le modèle développé se présente comme un système à deux équations simultanées permettant de tester l'hypothèse que la diffusion d'une technologie peut influencer la diffusion de l'autre technologie. Une configuration particulière des paramètres structurels (à estimer à partir des données) correspond à l'indépendance des développements des deux technologies, semences TH et non-labour. Le test statistique rejettera cette hypothèse (au seuil de 0,1%) de sorte que l'hypothèse de la corrélation des diffusions des deux technologies sera retenue : le paramètre de régression associé à la variable non-labour dans l'équation explicative de l'adoption du coton TH est positive et significative (au seuil de 0,1%) et le paramètre de régression associé à la variable coton TH dans l'équation explicative de l'adoption du coton TH est elle aussi positive et significative (au seuil de 0,1%). Frisvold et al. (2009) retrouvent ainsi le résultat de la complémentarité des deux technologies mis en avant par la littérature économique dans des contextes méthodologiques différents (et plus simples) : en explorant des données en coupe pour plusieurs Etats américains ou des séries temporelles pour un Etat américain (voir Trigo et Cap, 2003, et les références citées par Frisvold et al., 2009, p. 250).

Le cadre formel retenu permet aussi aux auteurs d'explorer la causalité de l'adoption d'une technologie sur l'adoption de l'autre technologie. Sur ce point, leurs résultats montrent tout d'abord que l'hypothèse selon laquelle la variable "adoption de la semence TH" est une exogène dans l'équation de "l'adoption du non labour" est rejetée. Le choix d'une semence TH n'est donc pas une variable explicative significative de l'adoption d'un travail du sol minimal dans le cadre d'étude retenu par les auteurs. Les résultats montrent ensuite que l'hypothèse selon laquelle la variable adoption du non-labour est une exogène dans l'équation de "l'adoption de la semence TH" est acceptée (au seuil de 5%). L'adoption du non-labour est donc une variable explicative significative du choix de l'adoption d'une semence TH, toujours dans le cadre d'étude retenu par les auteurs.

---

<sup>4</sup> Les données utilisées sont celles du *Conservation Technology Information Center's (CTIC)* et d'autres sources.

<sup>5</sup> Les auteurs pointent un problème de données manquantes pour les années 1999 et 2001.

L'étude de Frisvold et al. (2009) met en avant d'autres résultats. Le prix de l'output (coton) influence positivement l'adoption des deux technologies mais ne peut être considéré comme une variable significative que pour l'adoption de la semence TH. Le prix relatif du glyphosate par rapport aux prix des autres herbicides influence positivement l'adoption des deux technologies (conformément à l'intuition), mais n'est cependant pas significatif. Le % de la surface plantée effectivement moissonnée (permettant de prendre en compte le risque économique) influence positivement et significativement l'adoption de semence coton TH. Enfin, la présence de zone HEL où des incitations réglementaires à la pratique du non-labour existent a un impact positif et significatif sur l'adoption de cette technologie.

Barnejee et al. (2009) ont aussi proposé une étude de la dépendance/indépendance de l'adoption de semences TH et de l'adoption d'un travail du sol minimal avec une approche différente de celle de Frisvold et al. (2009), utilisant des données en coupe concernant tous les producteurs de coton faisant plus de 1000 \$ de recette avec cette culture pour l'année 2003 (utilisation de la base de données ARMS de l'USDA, 1253 points). Leurs résultats montrent que l'adoption d'une semence TH n'est pas une variable significative de l'adoption du non-labour et que réciproquement, l'adoption du non-labour n'est pas une variable significative de l'adoption d'une semence TH. La différence des résultats peut provenir de l'échantillon utilisé pour l'étude comme de la méthodologie : en effet, Barnejee et al. (2009) considèrent des données en coupe de sorte qu'ils placent le choix d'adoption des technologies à un moment donné du temps, alors que Frisvold et al. (2009) considèrent ce choix non seulement dans l'espace mais aussi dans le temps.

Ces études étant récentes, il est probable que d'autres recherches considérant d'autres zones géographiques et/ou d'autres VTH GM soient publiées à l'avenir sur cette thématique de la causalité. Gusta et al. (2011) abordent cette question pour le cas du colza au Canada. Les auteurs constatent la corrélation forte entre semences TH et non-labour mais n'envisagent pas la question de la causalité, remarquant simplement que ces technologies ont "co-évolué". Notons enfin que même si les OGM TH ne sont pas cultivés en France, la problématique de la corrélation entre VTH et non-labour peut y être tout à fait intéressante, dans la mesure où la pratique de non-labour y est en expansion (Agreste Primeur, 2008, voir Annexe du chapitre 3). Elle concerne 1/3 des cultures annuelles en 2006 (alors qu'elle ne concernait que 21% des surfaces en 2001). Pour le blé dur, le non-labour représente 58% des surfaces cultivées dès 2001 (mais ne progresse pas entre 2001 et 2006). Agreste Primeur (2008) note qu'il est plus adopté dans les grandes exploitations (de plus de 400 hectares) et qu'il est plus propice à la rotation des cultures. Enfin, qu'il rend le problème de la gestion des mauvaises herbes tout à fait sensible. Celle-ci se traduit par un recours accru aux herbicides (0,3 passage supplémentaire avec un herbicide par rapport aux agriculteurs labourant les sols en moyenne et pour toutes cultures confondues) plutôt qu'à un désherbage mécanique (légèrement plus observé pour les cultures annuelles en non-labour, avec un peu plus de 7% en 2006, que pour les mêmes cultures avec labour).

#### **5.1.1.3.4. La distinction du travail à la ferme et du travail en dehors de la ferme**

Dans sa revue de littérature distinguant les cas du soja, du maïs et du coton, Gianessi (2008) insiste dans chaque cas sur la modification des pratiques culturales en montrant comment celles-ci se traduisent par des économies de temps pour l'agriculteur. Pigott et Marra (2008) reprennent cette idée d'économie de temps et proposent de considérer théoriquement le problème de l'adoption des OGM TH grâce à la maximisation de l'utilité de l'agriculteur (où ce problème de temps peut apparaître).

Fernandez-Cornejo et al. (2005) ont tenté de montrer que la flexibilité révélée de la technique TH était un motif important dans la décision d'adopter ou pas la technologie. Dans ce cadre, leur travail s'appuie sur l'hypothèse selon laquelle une meilleure gestion des adventices autorisée par la technologie TH devrait se traduire par une réduction du temps de travail de supervision. Le temps ainsi dégagé peut alors être orienté vers une activité extérieure à la ferme (*off-farm*) de manière à augmenter le revenu du ménage agricole. L'hypothèse se base sur une observation de l'USDA montrant qu'en moyenne le revenu des agriculteurs américains ayant fait le choix de la technologie TH est supérieur au revenu des agriculteurs restant sur la technologie conventionnelle et que c'est la composante non-agricole (*off-farm*) de ce revenu qui est particulièrement sensible dans cette comparaison (Tableau 5-1).

**Tableau 5-1.** Composition du revenu des agriculteurs ayant adopté ou non une VTH

|                                    | Adopters | Non adopters | Difference |
|------------------------------------|----------|--------------|------------|
| Household income from farming \$/Y | 14150    | 12140        | 2010       |
| Off-farm household income \$/Y     | 52903    | 41340        | 11563      |
| Total household income \$/Y        | 67053    | 53480        | 13573      |

Source USDA, données présentées in Fernandez-Cornejo et al. (2005) concernant les cultivateurs américains de soja pour l'année 2000.

La simple comparaison des revenus moyens ne permet pas cependant d'attribuer les différences observées au choix d'adopter la technologie TH. Pour évaluer la part du choix de l'adoption de la technologie TH dans l'explication de cette différence de revenu, Fernandez-Cornejo et al. (2005) ont développé un modèle économétrique dans lequel les relations testées sont tirées d'un modèle théorique présentant la quantité de travail d'un ménage d'agriculteurs comme la solution d'un programme de maximisation de l'utilité sous contraintes de revenu, de temps et de technologie. Les données utilisées sont celles de l'enquête ARMS de l'USDA pour l'année 2000 (2258 points en provenance de 17 Etats producteurs de soja). Les résultats montrent en particulier que le choix de l'adoption de la technologie TH n'a pas d'incidence significative sur le revenu total des cultivateurs de soja, ni sur la composante "agricole" de celui-ci. En revanche, elle influence positivement et de manière significative la composante "non agricole" du revenu des agriculteurs. L'élasticité du revenu "non-agricole" avec la probabilité d'adoption du soja TH est évalué à +0,843 (et +0,643 pour le revenu total). Ce qui signifie que si la probabilité d'adoption augmente de 10%, le revenu "non agricole" augmente de 8,4%. Entre autres résultats, les auteurs ont montré que le revenu non agricole des cultivateurs de soja augmente avec la taille de l'exploitation (mesurée par la surface cultivée) jusqu'à un certain point (se situant au-dessus de la taille moyenne de l'échantillon) pour décroître ensuite.

Gardner et al. (2009) ont affiné cette idée en travaillant directement sur la quantité de travail des ménages d'agriculteurs dégagée suite à l'adoption de la technologie TH et en faisant attention notamment à l'adoption d'une technologie de non-labour. L'étude économétrique est construite à partir de l'enquête ARMS de l'USDA (années 2001, 2002 et 2003). En considérant que le temps de travail des ménages correspond au temps de travail non payé, les résultats montrent en particulier que l'adoption du soja TH engendre une réduction du travail de 14,5% (statistiquement significative). De même, l'adoption d'une technique de non-labour par les cultivateurs de soja TH engendre une réduction de 37,5% du travail (statistiquement significative).

Ces résultats récents montrent l'intérêt économique de l'économie de temps révélée au titre des "critères non pécuniaires" dans la décision d'adoption des semences TH par les études précédentes. Cette économie de temps de travail (que ce travail soit payé ou pas) peut aussi être interprétée comme une augmentation de la compétitivité (voir le rapport OCDE rédigé par Latruffe, 2010) du secteur agricole considéré, sans qu'il soit nécessaire de la traduire en termes de revenu pour l'agriculteur. Aucun des travaux cités cependant ne l'envisage explicitement sous cet angle important.

### 5.1.1.3.5 Les considérations environnementales

Les considérations environnementales sont particulières. Si elles sont à juste titre non pécuniaires (en tant qu'externalités, les atteintes à l'environnement ne sont pas d'emblée évaluées en termes monétaires et n'apparaissent pas dans la fonction de profit de l'agriculteur), elles ne sont pas forcément des facteurs explicatifs de l'adoption (sauf à considérer que tous les agriculteurs soient attentifs à la préservation de l'environnement). C'est donc sans surprise que les considérations environnementales dans le choix de cultures TH apparaissent comme marginales dans les premières études (elles seraient importantes pour seulement 0,9% des adoptants chez Klotz-Ingram et al., 1999). Cependant, l'impact environnemental de l'adoption des cultures TH a surtout été appréhendé à travers l'impact du glyphosate (voir chapitre 4). Or le débat naissant présenté dans la section 5.1.1.2 à propos du développement de mauvaises herbes résistantes aux herbicides a des implications immédiates sur les quantités d'herbicides utilisées, problème intéressant directement les agriculteurs.

Les premières études réalisées sur les conséquences de l'adoption des semences TH ont rapidement conclu qu'un des effets notoires consistait en la baisse des quantités d'herbicide épandues (Fernandez-Cornejo et al., 2002; Fernandez-Cornejo et Caswell, 2006; Kleter et al., 2007) et en la substitution d'un herbicide moins toxique et



moins permanent dans l'environnement à des herbicides plus problématiques de ces points de vue. Bonny (2002, 2008) souligne cependant la difficulté de conclure en la moindre toxicité lorsque celle-ci est appréciée à partir de plusieurs aspects qui devraient être synthétisés dans un indice qui n'est pas élaboré pour tous les herbicides.

En reprenant les données de l'USDA, Benbrook (2009) souligne que le taux d'application par an du glyphosate a triplé pour le coton depuis 1996, doublé pour le soja et augmenté de 39% pour le maïs. En termes de poids, l'augmentation moyenne annuelle du glyphosate appliqué sur le coton TH est de 18,2%, 9,8% pour le soja TH et 4,3% pour le maïs TH. Inversement, Benbrook (2009) note que les quantités moyennes d'herbicides appliquées par hectare sur les cultures conventionnelles correspondantes n'ont cessé de baisser depuis 1996. Ceci est attribué par l'auteur à la mise au point de nouvelles matières actives plus efficaces. Notons que la simple comparaison des quantités trouve ici ses limites et que l'utilisation d'un indice de toxicité trouve toute son importance. En utilisant un tel indice, l'indice EIQ (Environmental Impact Quotient), Kleter et al. (2007) concluront à partir d'une revue de la littérature à la diminution de l'impact environnemental des cultures GM TH. Dans une autre revue de la littérature traitant de la question de la diminution de l'emploi des herbicides suite à l'adoption d'OGM où la question de ces indicateurs de toxicité est centrale, Bonny (2008) conclut que le soja TH aux États-Unis est un peu plus consommateur d'herbicide que le soja conventionnel, alors que c'est l'inverse pour le maïs TH. L'utilisation d'un indice pour tenir compte des impacts environnementaux et toxicologiques lui permet de montrer que la toxicité globale des herbicides utilisés pour le soja a diminué avec la diffusion des cultures GM TH jusqu'en 2001, pour remonter ensuite. Une tendance à la baisse à partir de 1997 est par contre rapportée pour le cas du maïs.

#### 5.1.1.3.6. Propos d'étape

Quels sont les enseignements que l'on peut tirer de cette deuxième série de travaux sur les facteurs d'adoption et l'impact des OGM TH ?

- La taille de l'exploitation impacte différemment la décision d'adoption en fonction du type de culture considéré.
- Des résultats contradictoires ressortent aussi pour le niveau d'éducation. L'expérience professionnelle et la capacité à utiliser les NTIC semblent être de meilleures variables explicatives.
- Les facteurs ayant trait à la gestion des risques ne doivent pas être sous-estimés. Ces risques sont cependant de nature très différentes : dans la gestion des adventices, dans l'évolution des prix, l'environnement social...
- Les études s'accordent pour mettre en avant une corrélation entre adoption de VTH et adoption d'un travail simplifié du sol. Ce résultat semble insensible au type de culture. La causalité de l'adoption d'une technologie sur l'adoption de l'autre n'est par contre pas fermement établie.
- De même, l'accent mis sur l'économie de temps de travail semble unanime. Le temps de travail économisé peut être utilisé en-dehors de l'exploitation agricole pour obtenir un revenu supplémentaire.
- Les premières études se sont accordées pour souligner la baisse en quantité des herbicides ainsi que leur moindre toxicité suite à l'adoption de semences GM TH. Les analyses récentes montrent cependant que les quantités utilisées sont à la hausse, alors que les conclusions sur la toxicité au final des épandages restent pour l'instant controversées.

#### **Encadré 5-2. Les facteurs d'adoption du soja TH en Argentine**

*La période d'introduction du soja TH (comme des autres OGM) en Argentine a été d'une manière générale une période de grands changements pour l'agriculture de ce pays (Trigo et Cap, 2003). L'intensification de l'agriculture et l'augmentation des surfaces cultivées en céréale au détriment de celle dédiées à l'élevage est une caractéristique des années 1990 dans l'économie argentine. L'ouverture de cette économie et la politique menée de déréglementation ont engendré une baisse du coût du capital qui a accompagné le développement du non-labour. La tendance à la baisse de la population employée dans le secteur agricole s'est retournée, et l'accroissement de la productivité apparente du travail a pu être constatée dans ce secteur.*

*A son introduction en 1996, le soja TH représente moins de 1% de la surface totale cultivée en soja. Sept années*

suffiront pour atteindre la part de 90% (15 ans ont été nécessaires aux Etats-Unis pour atteindre le même résultat). Pour Trigo et Cap (2003), la raison principale de ce développement est la baisse des coûts de production (estimée à 20 \$ par hectare) engendrée par une meilleure gestion des mauvaises herbes. Les dépenses en énergie sont ici principalement visées, ainsi que la baisse du coût de l'herbicide. Trigo et Cap (2003) soulignent aussi qu'un facteur institutionnel important explicatif de ce développement est le cadre juridique de protection des variétés végétales UPOV-78 adopté par l'Argentine, qui ne permet pas la brevetabilité des gènes et des variétés végétales et qui permet aux agriculteurs de conserver une partie de leur récolte pour la replanter (un descriptif de l'évolution de la réglementation argentine en matière de protection des variétés végétales est donné par Kesan et Gallo, 2005). Ce phénomène étant loin d'être marginal (Kesan et Gallo, 2005), la concurrence ainsi introduite sur un marché de type oligopolistique a été responsable d'une baisse du prix des semences. A plus long terme, cette situation est interprétée comme contre-incitative pour l'innovation, ce qui concerne non seulement les firmes innovatrices mais aussi les agriculteurs (Kesan et Gallo, 2005; Lence et Hayes, 2005).

Pour Trigo et Cap (2003), les bénéfices cumulés de l'introduction du soja TH en Argentine reviennent principalement aux agriculteurs (Qaim et Traxler, 2005, parviennent au même résultat) :

Adoption of RR soybean—evolution of the distribution of benefits.

| Year  | Benefits to growers (million US\$) |            |          | Benefits to suppliers (million US\$) |        |        | Total benefit |
|-------|------------------------------------|------------|----------|--------------------------------------|--------|--------|---------------|
|       | Costs                              | Production | Total    | Glyphosate                           | Seed   | Total  |               |
| 1996  | 50.22                              | 91.43      | 141.65   | 28.89                                | 8.01   | 36.9   | 178.54        |
| 1997  | 95.91                              | 214.86     | 310.76   | 47.76                                | 16.71  | 64.46  | 375.23        |
| 1998  | 145.99                             | 306.29     | 452.27   | 56.17                                | 24.71  | 80.89  | 533.17        |
| 1999  | 186.06                             | 594.57     | 780.63   | 74.62                                | 37.62  | 112.24 | 892.87        |
| 2000  | 214.25                             | 875.18     | 1,089.43 | 93.37                                | 49.54  | 142.92 | 1,232.35      |
| 2001  | 234.79                             | 1,469.76   | 1,704.55 | 164.27                               | 87.16  | 251.44 | 1,955.99      |
| Total | 927.22                             | 3,552.08   | 4,479.30 | 465.09                               | 223.75 | 688.85 | 5,168.15      |

Source : Trigo et Cap (2003).

Le couplage du soja TH et de la pratique du non-labour s'est développé en Argentine, en particulier dans la Pampas où les problèmes d'érosion sont très forts. Brookes et Barfoot (2009) rapportent que la proportion de la production de soja se faisant sans labour ou avec un travail de la terre minimal est passée de 34% en 1996 à 90% en 2005. Cette conjugaison (facilitée par une baisse du coût du capital spécifique) s'est traduite par une baisse des coûts du travail de la terre et par la possibilité de cultiver durant la même année deux céréales (Trigo et Cap, 2003). Pour Brookes et Barfoot (2009) une des raisons de l'augmentation du revenu des agriculteurs argentins ayant adopté du soja TH provient de cette possibilité. Les auteurs notent qu'en 2007, 30% du soja cultivé était ainsi précédé d'une autre céréale alors que cette part n'était que de 8% en 1996. Ceci aurait contribué à une augmentation cumulée des revenus comprise entre 1,1 milliard et 4,4 milliards de \$ entre 1996 et 2007.

Dans une étude récente, Finger et al. (2009) ont essayé de distinguer les motifs d'adoption des premiers agriculteurs adoptant de soja TH (early adopters) en 1996 des motifs d'adoption des agriculteurs ayant adopté le soja TH après 1996 (late adopters) à partir d'une enquête réalisée dans les régions (partidos) de Pergamino et de Salto au Nord-est de Buenos Aires. Leurs résultats montrent tout d'abord que l'âge et l'expérience des agriculteurs ne les distinguent pas dans le comportement d'adoption. Les early adopters exploitaient en moyenne 1804 ha, alors que les late adopters n'exploitaient en moyenne que 316 ha en 1996. Un effet taille de l'exploitation serait ainsi à l'œuvre. La source d'information sur l'opportunité d'adoption utilisée par les early adopters sont les firmes semencières, alors que les late adopters utilisent plus les contacts avec des agriculteurs ayant déjà adopté. Les organisations d'agriculteurs et les sources institutionnelles n'ont que peu été utilisées dans cette perspective. C'est l'anticipation d'une gestion plus simple de la culture et d'un coût des herbicides plus faible qui forme les premiers déterminants de la décision d'adoption des early adopters comme des late adopters. La perspective de pouvoir coupler soja TH et non-labour est aussi tout à fait essentielle dans le choix d'adoption. Sans surprise, l'anticipation de pouvoir "vendre la production sans problème" joue un plus grand rôle dans la décision des late adopters. La perspective de rendements plus élevés joue par contre plus dans la décision d'adoption des early adopters. Inversement, les late adopters sont plus sensibles à l'augmentation du prix des loyers de la terre. L'étude montre que certaines variables explicatives sont corrélées. C'est le cas en particulier de l'adoption du non-labour et de l'anticipation de la possibilité d'une double moisson blé-soja, de la facilitation de la gestion de la culture et de la réduction du coût de l'herbicide, ou encore de l'observation des avantages chez les voisins et de l'augmentation du prix du loyer de la terre. Enfin, notons que Finger et al. (2009) ne font pas état de préoccupation particulière à l'égard de la résistance des mauvaises herbes à l'herbicide.

### 5.1.1.5. La réception des cultures transgéniques et des VTH par les agriculteurs : un éclairage sociologique

Marc Barbier

Les travaux en sciences sociales sur la réception par les agriculteurs des VTH ou des OGM sont peu nombreux en France, ceci par construction, du fait de la quasi absence de cultures transgéniques, tandis que les VTH non transgéniques ne sont pas étudiées en tant que telles. Il faut dès lors se reporter à des travaux réalisés ailleurs en Europe.

Ainsi, les travaux sur la propension d'agriculteurs danois à adopter des VTH GM (Lassen and Sandoe, 2009) ont montré que celle-ci est loin d'être abordée sous l'angle d'une alternative concernant la seule question de l'adoption d'une variété pour sa profitabilité marginale. Dans cette étude, les motivations à l'adoption de ces entrepreneurs sont explicitées par des discours mettant en avant très nettement des dimensions de productivité (effet direct sur les coûts marginaux), mais il est fait état également de la compatibilité et de l'intégration des VTH GM avec les autres activités de l'exploitation, les auteurs soulignent la nécessité d'une approche en termes de politique régionale de l'usage de ces variétés tout autant que la prise en compte d'un attachement au "champ propre", valeurs manifestant une esthétique du paysage et une qualité de "bon manager" de l'espace. Ces travaux comme ceux de Burton (2004) viennent apporter des connaissances importantes sur les valeurs symboliques attachées au bon exercice de la profession d'agriculteur dans un régime productiviste. Sans nécessairement rejoindre le plaidoyer des tenants d'un post-productivisme en matière de protection intégrée des cultures (Ammann, 2008), il s'agit donc de concevoir l'adoption des VTH dans le cadre de ce régime, avec l'influence ou la nécessité d'un travail de conseil pour consolider les démarches d'adoption de VTH, comme cela a été suggéré à la suite d'un travail de recherche-intervention en Australie (Llewellyn and Pannell, 2009). L'étude de la décision d'adoption des VTH dans ce cas, rejoint les travaux standards sur la diffusion des innovations (Rogers, 1962) : minorité de primo-adopteurs, effets de la structure relationnelle du milieu professionnel dans la diffusion par "contagion" liée aux réseaux de proximité géographique ou de dialogues professionnels, disponibilité de la technique et rôle déterminant des médiateurs et conseillers.

D'autres travaux réalisés au Canada ont porté sur les savoirs des agriculteurs en matière d'évaluation des bénéfices et des impacts de colzas TH du point de vue des risques au niveau de la gestion de l'exploitation (Mauro and McLachlan, 2008). L'adoption de colza TH est marquée notamment par le fait que les agriculteurs y associent une dimension de gestion du risque de flux de gènes et perçoivent la nécessité de gérer la sécurité environnementale attendue d'eux sur le plan réglementaire. Ces travaux indiquent (1) l'importance de l'information apportée en matière d'évaluation à partir des savoirs issus de la pratique, (2) les effets positifs de l'expérience des professionnels pour limiter les problèmes de gestion et les effets de la taille de l'exploitation, ainsi que les problèmes liés à la répétition des cultures de colza TH. Les conclusions de cette étude pointent clairement la nécessité d'une approche plus "holistique" des problèmes de gestion, qui conduit à pointer à nouveau l'importance de considérer les bénéfices et les impacts à différents niveaux d'échelle (système de culture, système d'exploitation, paysage agricole ou même territoire régional).

Les deux types de travaux précédents indiquent que l'adoption de VTH GM incluent des facteurs sociaux relatifs au fait que les agriculteurs "conventionnels" situent l'usage des VTH dans des savoirs pratiques incluant leur position de professionnel tant sur le plan de la gestion des risques que des valeurs qu'ils attachent à l'esthétique paysagère des champs "bien tenus".

Mais tous les adopteurs potentiels de VTH ne sont pas nécessairement des agriculteurs dits conventionnels. Quelques travaux récents en sociologie des professions indiquent la structuration d'un mouvement autour de techniques culturales simplifiées, affirmant notamment une meilleure conservation des sols associée au sans-labour (Goulet, 2008). Ce mouvement, que l'on trouve porté par une référence à l'intensification écologique (Griffon, 2006), conduit à des expérimentations conduites par les professionnels eux-mêmes et suscite l'intérêt de certaines coopératives agricoles françaises ; il conduit aussi à des interrogations au sein de l'appareil de recherche et de développement agricole pour aborder l'évaluation du bénéfice de ces techniques culturales simplifiées, notamment quand elles sont connues pour être associées à des OGM TH dans d'autres pays. Ce qui se joue avec le développement des techniques de conservation des sols indique le caractère stratégique de la recomposition de segments professionnels autour de modèles d'agriculture alternative et écologiquement durable en rupture avec le régime productiviste mais sans pour autant faire le choix d'une conversion à l'agriculture

biologique. Cela permet de situer l'importance que prend l'affirmation de la place des VTH dans des modèles productifs liés à des régimes d'innovation qui vont au-delà d'un centrage sur la création variétale. L'affirmation des bénéfices apportés par les VTH au motif d'une contribution à la réduction de l'usage des herbicides peut aller dans le sens d'une plus grande durabilité, qu'il reste cependant à fonder sur un usage beaucoup plus raisonné des herbicides pour atteindre les objectifs du plan Ecophyto 2018 (Darmency, 2010).

Pour finir, soulignons que le soutien à ce type d'innovation variétale rencontre aussi les critiques qui sont adressées à l'usage des pesticides de manière générale ou à la présence de résidus de pesticides dans les produits alimentaires, ainsi qu'aux problèmes de santé environnementale liés aux épandages et aux problèmes encore émergents de santé au travail dans l'agriculture. Sur ces questions entérinées par le Grenelle de l'Environnement, les travaux socio-historiques sur les pesticides (Boudia et Jas, 2007) apportent un éclairage critique sur la réalité d'une invisibilité des risques liés à l'usage des pesticides depuis la généralisation de leur emploi en lien avec le progrès agricole des trente glorieuses. Aussi la question de la réception des VTH est aussi une réception qui contient peu ou prou les questions que se posent les agriculteurs et les filières sur l'usage des pesticides. L'adoption des VTH est aussi constituée, pour les agriculteurs, par les questions liées aux risques que présentent leurs usages, moins de pesticide ne signifie pas plus de pesticide et les dimensions sanitaires restent pendantes.

### 5.1.1.6. Conclusion

L'adoption des semences OGM TH aux Etats-Unis n'est pas la conséquence de l'augmentation des rendements et des profits des agriculteurs qui en résulterait, au moins pour ce qui est de la culture du soja. Cette technologie améliore par contre le contrôle des adventices, permet une plus grande flexibilité dans la gestion de l'herbicide (passage en post-levée, un seul herbicide, moindre toxicité) sur une période de temps plus grande mettant les agriculteurs à l'abri d'aléas climatiques. Elle est d'autre part liée à la pratique de non-labour. L'adoption des semences OGM TH a cependant un impact ambigu sur le coût de production des agriculteurs: si l'augmentation de la flexibilité, la meilleure gestion des adventices et le non-labour se traduisent par une diminution des coûts de production, l'augmentation du prix des semences les affecte positivement. Le temps épargné (moins de labour, gestion plus simple...) permet d'orienter une partie du temps de travail des agriculteurs concernés vers des activités extra-agricoles et d'augmenter ainsi leur revenu (résultat mis en évidence dans le contexte de l'agriculture nord-américaine). Au regard de ces points positifs, on comprend que des études récentes pointent le développement de la résistance des mauvaises herbes aux herbicides comme un sujet de préoccupation important pour les agriculteurs. Car au fond nous avons ici un élément capable de remettre en cause les économies de coût et de temps dans la gestion des adventices qui sont la clé de voute de ce système technologique. L'étude des mesures d'accompagnement nécessaires à l'introduction de VTH montre que la rotation de cultures qui ne sont pas tolérantes au même herbicide est une voie envisageable. Conclure sur son efficacité demande toutefois des travaux spécifiques supplémentaires. Enfin nous noterons, comme le souligne dans un rapport récent la Commission au Parlement Européen et au Conseil (European Commission 2011), que d'une manière générale les études que nous avons utilisées ont été menées à l'échelle de l'exploitation agricole et ne concernent pas les incidences plus générales d'ordre socioéconomique sur le reste des filières agroalimentaires.

### 5.1.2. Les stratégies d'offre des VTH

*Stéphane Lemarié*

La particularité des VTH est de créer un lien de demande sur deux marchés : celui des semences et celui des pesticides (et plus spécifiquement les herbicides). En effet, un agriculteur qui utilise une VTH sera incité à utiliser l'herbicide auquel la variété est tolérante, et cela en remplacement d'herbicides conventionnels. Comme nous le verrons dans la section 5.1.2.3, les firmes qui développent les caractères TH ont des droits de propriétés sur ces caractères, mais éventuellement aussi sur les semences et/ou les herbicides complémentaires. Ces droits de propriété permettent aux firmes innovantes de dégager des profits par l'exercice d'un pouvoir de marché<sup>6</sup>. Du point de vue économique, ces pouvoirs de marchés ont d'un côté un effet négatif parce qu'ils limitent en partie

---

<sup>6</sup> Le pouvoir de marché se définit comme la capacité d'une firme à influencer le prix auquel son produit est mis en marché ou le prix auquel elle achète ses inputs.

l'accès à l'innovation, et d'un autre côté un effet positif parce qu'ils incitent les acteurs économiques à investir en recherche.

L'objectif de cette section est d'étudier dans quelle mesure le contexte des VTH modifie les incitations à innover et l'exercice du pouvoir de marché sur ce type d'innovation. L'analyse va être décomposée en quatre points complémentaires : (i) quelles sont les firmes qui sont le plus incitées à développer ce type de variété ? (ii) quelles sont les conditions d'accès au caractère TH pour les semenciers qui ne détiennent pas le droit de propriété sur ce caractère ? (iii) observe-t-on des pratiques de ventes liées entre les VTH et les herbicides complémentaires ? (iv) comment sont déterminés les prix des VTH ? Les deux premières questions portent plus particulièrement sur le fonctionnement du marché des caractères TH. Les deux dernières étudient l'effet du lien de demande créé par les VTH sur le fonctionnement des marchés des semences et des herbicides.

Les questions soulevées ici ne sont pas spécifiques au secteur des semences et se retrouvent dans la littérature générale en économie industrielle sur les ventes liées et les relations verticales. Cette littérature montre que les stratégies des firmes et les impacts de ces stratégies dépendent de la structure industrielle. Les travaux qui seront présentés appliquent ces modèles généraux en prenant en compte les principales spécificités de l'agrofourmiture. Ces travaux font tous références au cas des variétés GM, mais compte tenu de la question qui est traitée ici, ces résultats ont une portée générale sur l'ensemble des VTH.

Une limite importante à l'analyse des stratégies d'offre de VTH porte sur le déficit de données, ou du moins l'impossibilité d'accéder à celles-ci. S'il existe des enquêtes officielles sur les usages d'inputs par les agriculteurs (ex : enquête "pratiques culturales"), il n'existe pas d'enquêtes aussi complètes et facilement accessibles sur les stratégies de ventes liées ou les relations verticales entre firmes<sup>7</sup>.

### 5.1.2.1. Les acteurs incités à développer des VTH

Just et Hueth (1993) partent du constat que les premières variétés transgéniques présentent des innovations sur des caractères de protection des plantes qui entrent en concurrence avec les pesticides utilisés avec des variétés conventionnelles. L'objectif de leur analyse est d'étudier les incitations d'une firme à développer des caractères par transgenèse, selon qu'elle est présente ou non sur le marché des pesticides. A partir d'un modèle théorique, ces auteurs montrent que les incitations à développer des caractères de tolérance à un herbicide sont plus fortes si la firme commercialise également l'herbicide complémentaire. En effet, cette firme a ainsi l'avantage de contrôler les prix des deux produits (le caractère TH et l'herbicide), ce qui lui permet de dégager un meilleur profit par rapport à deux firmes indépendantes. En termes économiques, cette situation permet d'atténuer le problème de double marge<sup>8</sup>. Les auteurs analysent également les incitations d'une firme à développer un caractère qui se substitue à l'usage d'un pesticide (e.g. insecticide). Des résultats qualitativement différents sont alors obtenus<sup>9</sup>, montrant bien que le cas des VTH est assez spécifique. Cette publication réalisée avant l'introduction des OGM avait un certain caractère visionnaire. En effet, avec le recul, nous pouvons vérifier que les caractères TH ont été plutôt développés par des firmes présentes sur le marché des herbicides<sup>10</sup> (Monsanto, Bayer, BASF et DuPont).

En complément de cette analyse, notons que le point critique pour ces firmes était également d'acquérir certaines compétences fondamentales sur les biotechnologies liées à la transgenèse. Ces firmes devaient donc disposer d'importantes capacités de financement de programmes de recherche sur des technologies tout à fait nouvelles, ce qui était le cas pour les leaders de l'agrochimie et certaines startups. De ce point de vue, la focalisation sur un type de caractère en particulier a sans doute été plutôt secondaire. En effet, qu'il s'agisse d'une résistance aux

---

<sup>7</sup> Les éventuels procès sur des pratiques anticoncurrentielles peuvent apporter des éléments empiriques intéressants. L'analyse détaillée de ces matériaux est une recherche en soi, qui dépasse le cadre de cette expertise.

<sup>8</sup> Une double marge apparaît lorsque deux monopoles sont en position de vendre des produits complémentaires ou lorsque deux monopoles se succèdent sur une chaîne logistique. La double marge apparaît si les firmes pratiquent des tarifs linéaires (prix fixe par unité vendue). Dans ce cas, les interactions entre ces deux monopoles conduisent à une situation pire qu'une situation où les deux monopoles seraient intégrés dans un seul (i.e. les quantités vendues sur le marché sont plus faibles).

<sup>9</sup> Les incitations économiques à développer une résistance à un insecte sont plus fortes pour une firme ne détenant pas d'insecticides car cette firme ne cannibalise pas ses propres ventes. Ces incitations peuvent être supérieures à l'optimum social du fait que, dans la situation initiale (avant développement du caractère), la firme externe ne dégage pas de profit alors que le surplus social est déjà positif du fait de l'existence d'insecticides.

<sup>10</sup> La tolérance au glufosinate (Bayer) a été initialement développée par PGS, mais cette société a été rapidement rachetée par AgrEvo (maintenant Bayer) qui commercialisait l'herbicide. La tolérance à une imidazolinone a été initialement développée par Cyanamid (racheté par BASF) qui commercialisait également l'herbicide.

insectes ou d'une tolérance à un herbicide, la diffusion d'OGM conduit à d'importantes substitutions sur le marché des pesticides. Par exemple, la diffusion très rapide du soja tolérant au glyphosate aux Etats-Unis a conduit à une réduction drastique du marché des herbicides sélectifs sur soja, conduisant à d'importantes pertes pour les leaders sur ce marché au milieu des années 1990 (Gianessi et Carpenter, 2000).

### 5.1.2.2. Les pratiques de licence sur les caractères TH

Le marché des semences sur une espèce donnée est généralement très segmenté. Par conséquent, la diffusion du caractère TH nécessite qu'il soit introduit dans une large gamme de variétés de semences. Les firmes qui détiennent les brevets sur les caractères TH sont très souvent présentes sur le marché des semences. Deux questions importantes sont posées ici : ces firmes ont-elles intérêt à commercialiser le caractère TH uniquement par leur filiale semencière ou ont-elles intérêt à accorder des licences non exclusives<sup>11</sup> à tous les semenciers ? Quel est l'impact de ces licences sur les gammes de produits proposées par les semenciers ? Les résultats présentés ici caractérisent les situations où un caractère génétique est protégé par brevet et peut être introduit dans un certain éventail de variétés de semences si une licence est signée. Cette situation n'est donc pas spécifique aux seuls caractères TH.

L'exclusivité dans les licences qui sont accordées sur un caractère TH dépend des modalités de paiement définies dans les accords de licence. Lorsque le détenteur du caractère TH a une filiale semencière et lorsque le paiement est en partie proportionnel à la quantité vendue (tarif en partie linéaire), le détenteur du brevet a intérêt à accorder une licence non exclusive pour permettre une bonne diffusion du caractère (Sandonis et Fauli-Oller, 2006; Lemarié, 2005). Il convient cependant de remarquer que ce résultat sur les licences non exclusives est obtenu lorsque les semenciers ont des parts de marché relativement "équilibrées". Ce résultat est confirmé par les données sur le soja aux Etats-Unis, puisque Shi et al. (2009) montrent que 75% des ventes de semences GM TH sont réalisées par des firmes non intégrées.

La deuxième interrogation porte sur l'impact des accords de licence concernant le caractère TH sur les gammes de produits des semenciers. En particulier, existe-t-il un risque que les VTH remplacent complètement les variétés non-TH, réduisant ainsi les possibilités de choix des agriculteurs ? Cette question est particulièrement importante dans le cas du soja aux Etats-Unis, puisque plus de 90% de la surface est semée avec des variétés GM tolérantes au glyphosate. Desquilbet et al. (2009) montrent qu'il existe encore actuellement une offre de semence de soja non-TH aux Etats-Unis. Néanmoins, comme ce marché est segmenté, il est possible que cette offre de semence conventionnelle soit très réduite, voire inexistante sur certains segments. L'analyse (théorique) de Baghdasaryan et al. (2010) montre cependant qu'à court terme, cette disparition d'une offre de semence non-TH ne devrait pas causer de manque à gagner majeur. En effet, le semencier est plutôt incité à offrir les deux types de semence pour mieux discriminer entre les différents agriculteurs. Autrement dit, dès lors que les agriculteurs font face à des problèmes de protection des cultures d'ampleur assez variable, il y aura de bonnes chances qu'au moins certains semenciers proposent des semences non-TH. L'absence d'une offre de semence non-TH ne peut se produire que sur des segments de marché où la demande pour ce type de semence est assez réduite parce que les agriculteurs font tous face à des problèmes de désherbage assez importants.

Deux remarques amènent cependant à modérer ce dernier résultat sur les gammes de produits. En premier lieu, il est possible que certaines clauses dans les contrats de licence sur les caractères TH incitent les semenciers à réduire leur offre de semence non-TH même si la demande pour ce type de semence est significative. Il est néanmoins très difficile de vérifier la validité de cette hypothèse car les contrats de licence sont confidentiels. En second lieu, cette analyse s'intéresse aux effets à court terme en supposant que la demande de semence par les agriculteurs est bien établie. A plus long terme, l'enjeu est d'étudier si la réduction de l'offre de semence non-TH peut conduire à un abandon des recherches sur ce type de semence. Sur ce point, tout laisse penser que le risque est réduit si les schémas de sélection génétique sont organisés de telle sorte que l'amélioration génétique est faite sur du matériel de base conventionnel, l'introduction du caractère TH étant faite lors des dernières étapes de la sélection (sortie variétale). En revanche, ce risque à long terme est important si les semenciers décident d'introduire le caractère TH dans l'essentiel du matériel de base qui est travaillé dans leur schéma d'amélioration des plantes.

---

<sup>11</sup> En termes économiques, une licence exclusive à une filiale en aval est une pratique de forclusion.

### 5.1.2.3. Les ventes liées ou groupées entre VTH et herbicide

Une VTH ne présente d'intérêt que si elle est utilisée en combinaison avec l'herbicide associé. Une telle situation favorise des pratiques de ventes liées ou de ventes groupées. On ne dispose pas de données d'enquête pour savoir l'étendue de ces pratiques. Il semble néanmoins que ces pratiques sont assez peu fréquentes. Nous montrons ici que deux types de pratiques peuvent apparaître selon les droits de propriété sur les produits, les effets économiques de ces pratiques étant très différents.

Notons en préalable que les deux produits couvrent des marchés différents : une VTH est spécifique à une culture et une certaine zone de production, alors que l'herbicide peut être utilisé sur plusieurs cultures et dans plusieurs zones de production. Dans un tel contexte, deux pratiques sont possibles : une pratique de vente liée conditionnant l'achat d'une VTH à l'achat d'un herbicide complémentaire<sup>12</sup> ou une pratique de vente groupée entre les deux produits. Ces deux pratiques présentent un intérêt dans des configurations différentes.

La pratique de vente liée peut présenter un intérêt pour une firme détenant le droit de propriété sur un caractère TH mais pas de droit de propriété sur l'herbicide complémentaire. La vente liée permet alors à la firme de limiter la concurrence sur l'herbicide complémentaire. Une telle pratique est donc contraire au droit de la concurrence. Le cas de la tolérance au glyphosate illustre bien cette situation, puisque Monsanto détient les brevets sur le caractère TH alors que le brevet sur le glyphosate a expiré depuis plus de dix ans. Une pratique de vente liée permettrait à Monsanto de limiter la concurrence de la part d'herbicides génériques concurrents au RoundUp ® (produit commercial de Monsanto contenant le glyphosate). D'après Hennessy et Hayes (2000), des cas de ventes liées ont été observés aux Etats-Unis sur la tolérance au glyphosate à la fin des années 90, mais plusieurs décisions de justice ont mis fin à ces pratiques. Dans les faits, on observe que le RoundUp ® est plus largement vendu que les produits génériques concurrents. Cela s'explique en partie par le fait que Monsanto offre une meilleure garantie<sup>13</sup> sur l'efficacité de la tolérance au glyphosate si l'agriculteur a utilisé le RoundUp ®. Les problèmes de concurrence sont ici réduits car cette pratique n'interdit pas à l'agriculteur d'utiliser un produit générique concurrent au RoundUp ®.

Une pratique de vente groupée peut présenter un intérêt pour une firme détenant le droit de propriété sur un caractère TH et sur l'herbicide complémentaire. Une telle firme pourrait envisager une vente groupée mixte par laquelle le caractère TH et l'herbicide seraient vendus soit de façon séparée, soit en package<sup>14</sup>. L'objectif d'une telle pratique est de mieux discriminer entre les différents agriculteurs. Une telle pratique ne pose généralement pas de problème de concurrence, et peut conduire à un accroissement du surplus économique global. Dans les faits, ces pratiques ne semblent pas avoir été mises en œuvre. Une explication possible tient au fait que la quantité de glyphosate utilisée est assez variable selon les cas, rendant ainsi assez compliquée la définition d'un package. Il n'est pas impossible néanmoins que certains distributeurs d'intrants agricoles appliquent cette pratique au niveau local pour certaines VTH.

### 5.1.2.4. La tarification des VTH

Comme nous venons de le voir, la VTH et l'herbicide associé sont généralement vendus séparément. Plusieurs travaux en économie agricole ont étudié la tarification des VTH dans le cas de la tolérance au glyphosate. En revanche, la tarification des autres types de VTH et celle de l'herbicide complémentaire ont été très peu étudiées.

La très large diffusion du caractère de tolérance au glyphosate explique en grande partie la focalisation de la littérature sur ce caractère TH. Rappelons que le brevet sur le glyphosate a expiré il y a plus de dix ans, ce qui a conduit à l'entrée de produits génériques concurrents. Le prix défini par Monsanto pour le RoundUp ® a donc été réduit et contraint par les prix des concurrents génériques. La marge sur la vente de RoundUp ® étant limitée, Monsanto a donc cherché à dégager une marge principalement sur le caractère de tolérance au glyphosate. Ces gains sur le caractère TH ont été réalisés par la vente de VTH par les filières semencières de Monsanto, et aussi par les revenus des licences accordées aux autres semenciers pour commercialiser des VTH.

---

<sup>12</sup> Conditionner à l'inverse l'achat d'herbicide à l'achat d'une VTH n'aurait pas d'intérêt puisque cela limiterait fortement les usages possibles de l'herbicide.

<sup>13</sup> Par ce type de garantie, le fournisseur indemnise l'agriculteur dans le cas où le produit utilisé n'a pas la performance annoncée par le fournisseur.

<sup>14</sup> Une pratique de vente groupée pure par laquelle VTH et herbicide ne seraient vendus que de façon groupée n'aurait pas d'intérêt ici compte tenu du très large éventail d'usage de l'herbicide.

Aux USA, Shi et al. (2009, 2010) ont étudié les déterminants du prix des VTH à partir de données d'enquête auprès d'agriculteurs entre 2000 et 2007. Les auteurs disposent de données sur le prix de chaque variété, les caractères transgéniques qu'elle contient et l'entreprise de semence qui l'a développée. Dans le cas du soja (Shi et al. 2009), l'enquête montre que l'écart entre les deux types de semence est resté assez stable dans le temps, la VTH étant en moyenne 50% plus cher que la semence conventionnelle. Les prix des deux types de semence ont cependant augmenté de 30% entre 2000 et 2007<sup>15</sup>. L'analyse économétrique montre que cette inflation s'explique en particulier par l'accroissement de la concentration sur le secteur des semences. Dans le cas du maïs (Shi et al. 2010), l'analyse est compliquée par le fait que les variétés peuvent cumuler plusieurs caractères transgéniques, dont celui de tolérance au glyphosate. Lorsque l'effet de chaque caractère sur le prix de la semence est décomposé, l'analyse économétrique montre que le supplément de prix pour un caractère TH diminue quand il est combiné avec un autre caractère. Par exemple, la tolérance au glyphosate et la résistance à la pyrale augmentent respectivement le prix de la semence (par hectare) de 10,6 \$ et 28,1 \$ lorsque ces caractères sont seuls, mais de 32,3 \$ lorsqu'ils sont combinés, soit une réduction de 6,4 \$ par rapport aux caractères pris séparément. Comme pour le soja, l'enquête montre que le prix de la semence a aussi nettement augmenté entre 2000 et 2007, cette inflation s'expliquant en partie par la plus grande concentration de l'offre de semences.

La tolérance au glyphosate est aussi très largement utilisée en Argentine. A la différence des Etats-Unis, ce caractère n'est pas breveté, si bien que les semenciers n'ont pas besoin de signer de licence avec Monsanto pour intégrer ce caractère dans leur semence. Qaim et Traxler (2005) montrent à partir de données d'enquête que le prix de la semence certifiée est néanmoins supérieur de 30% pour les VTH par rapport à la semence certifiée conventionnelle. Ce supplément de prix est faible en comparaison des Etats-Unis, mais néanmoins substantiel. Ces auteurs expliquent que même si les semenciers peuvent avoir accès gratuitement au caractère TH, ils se sont engagés de façon volontaire à verser des royalties à Monsanto pour maintenir de bonnes relations et avoir un accès aux futures innovations génétiques.

Le cas du colza au Canada est assez intéressant parce que plusieurs caractères TH coexistent sur le marché (Gusta et al. 2011) : 44% pour la tolérance au glyphosate (part des semences vendues), 40% pour la tolérance au glufosinate et 10% pour la tolérance à l'imidazolinone. Le supplément de prix sur la semence est de 37,5 \$/ha pour la tolérance au glyphosate. Ce supplément de prix est nul pour les caractères de tolérance au glufosinate et à l'imidazolinone, ces deux matières actives étant encore protégées par brevet.

En complément de ces résultats tirés de données d'enquête, plusieurs analyses ont tenté d'évaluer *ex ante* la tarification qui pourrait être pratiquée dans des pays où les VTH ne sont pas encore utilisées. Les auteurs supposent généralement que les gains des agriculteurs liés à l'adoption d'une VTH sont hétérogènes. Dans les deux travaux présentés ici, les auteurs utilisent des informations sur la distribution du niveau de dépense actuelle en désherbage pour construire la distribution des gains potentiels liés aux VTH et en conséquence la demande pour cette VTH<sup>16</sup>. Le prix de la VTH est calculé en supposant que la firme détentrice du caractère TH maximise le profit qu'elle tire du supplément de prix dégagé sur la semence. Dans le cas du colza en France, Desquibet et al. (2002) estiment un supplément de prix sur la semence de 50 €/ha<sup>17</sup>. Dans le cas de la betterave en Europe, Dillen et al. (2009) estiment un supplément de prix sur la semence de 95 €/ha si ce prix est contraint à être uniforme sur toute l'Europe, et compris entre 50 et 147 €/ha si ce prix peut être différent selon les pays (le prix pour la France étant alors de 87 €/ha). L'hétérogénéité des surcoûts de semence VTH entre pays est liée en grande partie à l'hétérogénéité actuelle des dépenses de désherbage<sup>18</sup>.

Concernant le glyphosate, le seul herbicide qui en contenait était le RoundUp® de Monsanto, jusqu'à l'expiration de son brevet en 2000, amorçant la diminution de son prix. En parallèle, le prix moyen des autres herbicides a également diminué entre 1997 et 2005 du fait de la concurrence des VTH résistantes aux glyphosate (Figure 5-

---

<sup>15</sup> En valeur absolue, le coût de la semence de soja en 2007 était en moyenne de 55 \$/ha pour la semence conventionnelle et de 85 \$/ha pour la semence tolérante au glyphosate.

<sup>16</sup> Il est généralement supposé que l'adoption de la VTH n'a pas d'effet sur le rendement. Pour un prix donné de la VTH, la demande est simplement égale à la somme des parcelles sur lesquelles le gain est supérieur au prix de la VTH.

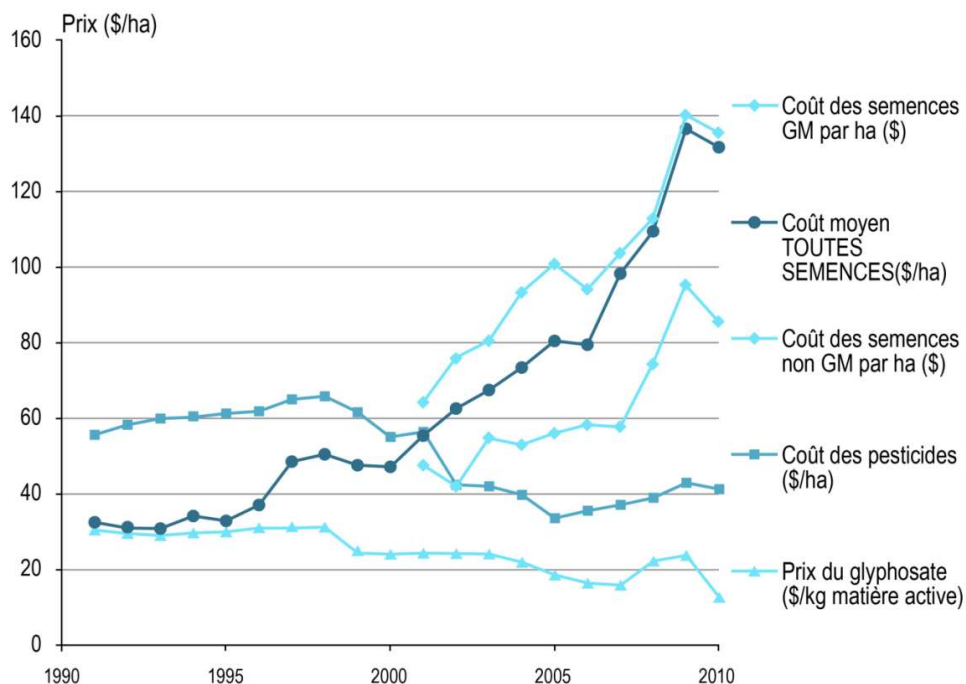
<sup>17</sup> Cette estimation s'appuie sur des données de dépenses de désherbage de colza pour l'année 1999, dont la moyenne est de 80€/ha. Le coût de l'herbicide complémentaire à la VTH est supposé égal à 15 ou 30€/ha selon le nombre de passage. Les coûts de coexistence dans le cas où la VTH serait OGM ne sont pas pris en compte.

<sup>18</sup> Par exemple, le surcoût de la semence VTH serait de 50 €/ha en Irlande où les dépenses actuelles de désherbage sont en moyenne de 93 €/ha. Le surcoût de la semence VTH serait de 147 €/ha en Autriche où les dépenses moyennes actuelles sont des 311 €/ha. En France, les dépenses moyennes actuelles sont de 150 €/ha.



1). En effet, la diffusion des variétés RR® dès 1996 a conduit à une réduction généralement très importante des ventes d'herbicides sélectifs utilisés jusque-là. De ce fait, les firmes agrochimiques qui produisaient ces herbicides ont diminué leurs prix pour limiter leurs pertes de marché. Dans un premier temps, tous les producteurs américains de soja ont donc vu le coût des traitements herbicides diminuer. Néanmoins, à partir de 2005-2007 en revanche, le prix des herbicides contenant du glyphosate a connu de fortes fluctuations en lien avec l'évolution des quantités produites (Bonny 2011).

**Figure 5-1.** L'évolution du coût des semences et des pesticides sur Soja (Source, Bonny 2011)



### 5.1.2.5. Synthèse

La mise en marché des VTH change le contexte de l'offre de semence et d'herbicides. Un lien de demande est créé entre la VTH et l'herbicide auquel la variété est tolérante. Par ailleurs, si le caractère TH est protégé par un droit de propriété, il peut alors se créer un marché de licences sur ce caractère. De nouvelles pratiques commerciales peuvent émerger dans ce contexte, certaines pouvant poser des problèmes de concurrence. Les analyses montrent néanmoins que ces problèmes sont faibles lorsqu'on considère les pratiques effectivement mises en œuvre dans le cas des VTH : les licences sont généralement non exclusives, les gammes de produits sont assez larges et les ventes liées entre VTH et herbicide sont limitées. On retiendra néanmoins que l'évidence empirique est souvent difficile à établir car très peu de données sont disponibles ou accessibles sur ces pratiques.

A côté de ces effets de court terme et assez directement liés aux VTH, deux effets économiques de long terme et plus indirects sont étudiés. Tout d'abord l'introduction des VTH se déroule dans un contexte général d'accroissement de la concentration dans le secteur des semences dont les causes sont multiples. Aux Etats-Unis il est établi que cette concentration accrue a contribué à une augmentation des prix des semences (à caractéristique identique) pour le soja et le maïs. Par ailleurs, un engouement important pour certains caractères TH pourrait conduire à un abandon des recherches sur des solutions alternatives basées sur des semences conventionnelles et moins rémunératrices pour les firmes de l'agrofourmiture.

Les analyses des prix des semences montrent que les prix des VTH sont plus élevés que les semences conventionnelles équivalentes (i.e. sans le caractère TH). Ce supplément de prix, qui peut représenter jusqu'à 50% du prix de la semence, est plus important lorsque le caractère TH est protégé par brevet et lorsque les agriculteurs font face à des problèmes de désherbage importants (ex : soja et colza en Amérique du Nord).

### 5.1.3. Protection juridique de l'innovation variétale et mise sur le marché des VTH

Thierry Marteu

En droit communautaire, les variétés végétales sont définies comme un *"ensemble végétal d'un taxon botanique du rang le plus bas connu qui (...) peut être défini par l'expression des caractères résultant d'un certain génotype ou d'une certaine combinaison de génotypes (lui conférant par exemple une résistance à un herbicide), distingué de tout autre ensemble végétal par l'expression d'au moins un desdits caractères, et considéré comme une entité eu égard à son aptitude à être reproduit conforme"*<sup>19</sup>. Les plantes qui les composent relèvent de la catégorie des choses consommables, fongibles ou corps certains, susceptibles de faire l'objet d'un droit de propriété (matérielle et immatérielle) et dotées d'une valeur économique.

Une variété végétale présentant le trait de tolérance aux herbicides est également une entité à laquelle on peut associer un certain nombre de "valeurs" non marchandes. Cette "valeur" peut consister en un apport d'ordre scientifique. Elle peut aussi consister en sa "compatibilité" avec l'impératif de protection de l'environnement (réduction des intrants) et de la biodiversité, en son innocuité pour l'homme.

L'ordre juridique doit donc tendre vers un équilibre entre ces valeurs portées par cet organisme biologique, à l'aune d'un enjeu de santé, de la promotion du progrès économique, agronomique et social et de l'évolution des connaissances scientifiques. C'est la raison pour laquelle il convient toujours d'étudier et d'interpréter la règle de droit à travers le prisme de la finalité que le législateur lui a assigné.

En substance, les VTH sont des objets de droit au cœur d'une articulation délicate entre les différents intérêts en présence (obtenteurs, agriculteurs, consommateurs, environnement...). Les VTH sont, d'une part, des objets de droit à travers la propriété matérielle qu'elles induisent, lorsqu'il s'agit notamment d'encadrer leur mise sur le marché. Elles sont aussi une source de responsabilités en raison des dommages qu'elles peuvent causer aux personnes ou aux choses. D'autre part, les VTH recèlent en leur sein une innovation génétique leur conférant le trait de tolérance à un herbicide. Aussi, dans leur dimension immatérielle, sont-elles un objet du droit de la propriété intellectuelle, à travers leur soumission aux droits des obtentions végétales et du brevet d'invention.

Dans le cadre de cette ESCo, nous avons cherché à identifier les controverses et/ou questionnements évoqués par la doctrine juridique essentiellement française portant sur les VTH en tant que telles. Le constat est le suivant : le trait de tolérance à un herbicide n'est pas en soi un "centre d'intérêts" pour les juristes. Il n'est pas actuellement un critère discriminant justifiant le développement d'une recherche ciblée et structurée. Pour cette raison, nous avons été conduits à développer certaines réflexions personnelles dans le cadre de cette expertise.

En effet, la question des VTH est souvent abordée à la périphérie d'une problématique plus générale, à savoir celle de l'appropriation du "vivant" par les droits de propriété intellectuelle. Et nous avons fait le choix de concentrer la plus grande partie de nos développements sur ce point (section 5.1.3.2). Pour autant, nous avons pu identifier d'autres interrogations en liaison avec les procédures d'autorisation de mise sur le marché (AMM) de ces variétés, plus particulièrement en présence d'une VTH issue d'un processus de mutagenèse. En effet, en ce domaine, les règles de droit applicables aux VTH relèvent tantôt du droit "commun"<sup>20</sup>, lorsqu'elles ne se présentent pas sous la forme d'un "OGM", tantôt d'un corps de règles spécifiques, lorsqu'il s'agit d'une VTH obtenue par transgénèse (section 5.1.3.1.).

#### 5.1.3.1. La mise sur le marché des VTH : entre logique de prévention et de précaution selon le procédé d'obtention

Au niveau national, la matière est dominée par un corpus normatif peu compatible avec l'impératif de lisibilité du droit (Anvar, 2008). En raison de l'enchevêtrement de normes techniques, de concepts scientifiques et de procédures d'enregistrement distinctes, le droit "de la production et de la commercialisation" des variétés

---

<sup>19</sup> Nous avons retenu la définition proposée par le règlement communautaire du 27 juillet 1994 instituant un régime de protection communautaire des obtentions végétales.

<sup>20</sup> On entend par droit "commun", l'obligation qui est faite à tous les obtenteurs d'inscrire leur variété au "catalogue". Cette procédure est, en substance, une réelle procédure d'autorisation de mise sur le marché.

végétales est d'une densité rarement égalée. Cette difficulté se double de l'adjonction de "couches normatives" issues du droit de l'UE et du droit commun (conventions internationales)<sup>21</sup>.

S'il n'est pas question d'embrasser l'ensemble de cette réglementation, ce qui ne présenterait guère d'intérêt, il nous est apparu pragmatique d'extraire certaines réflexions menées par quelques auteurs afin de les rattacher au domaine de l'expertise.

Ainsi, nous avons pu isoler une réflexion menée par un auteur relevant que la procédure d'inscription au catalogue des variétés, véritable AMM en tant que telle, ne prévoyait aucune procédure d'évaluation des risques sanitaires ou environnementaux des variétés candidates à l'inscription, contrairement à ce qui est imposé par les textes en matière d'"OGM" où la logique de précaution domine.

*"Hormis le cas particulier d'AMM pour les OGM (...), aucune raison de dangerosité du produit, de risque pour la santé ou pour l'environnement n'est évoquée"* (Anvar, 2008).

En effet, la procédure d'enregistrement au catalogue des variétés végétales consiste exclusivement en un tri des variétés sur la base de critères "qualitatifs". Cette AMM est délivrée sous réserve de remplir les critères DHS : distinction, homogénéité et stabilité. Cette sélection est renforcée pour les espèces utilisées en grande culture qui doivent remplir deux autres critères portant sur la valeur agronomique et technologique de la variété (VAT).

Cette inscription au Catalogue obligatoire pour l'ensemble des variétés végétales ne doit donc pas être confondue avec l'AMM utilisée pour la mise sur le marché des VTH GM qui porte sur l'événement de transformation (donc schématiquement sur l'information génétique en tant que telle) et s'ajoute à l'inscription au Catalogue.

A la lumière des interrogations soulevées actuellement par la mutagenèse dirigée, certains auteurs s'interrogent sur la légitimité d'une telle distinction. Comme cela a pu être souligné, *"la question de l'application du régime juridique "OGM" à ces techniques (la sélection assistée par marqueurs ou la mutagenèse dirigée) reste à certains égards obscure. Les transgénèses internes à l'espèce correspondront à la définition de l'OGM et relèveront de son régime juridique mais d'autres formes de sélection non incluses dans l'annexe I B de la directive 2001/18 y échapperont. Ainsi, alors que la biologie synthétique constitue sans doute la technique la plus aléatoire de toutes, elle ne relève pas clairement du champ d'application de ce texte car elle n'implique pas d'insertion à l'intérieur d'un organisme hôte, élément qui semble caractériser la définition des OGM. Le 3) de l'annexe IA de la directive évoquant les "techniques de fusion" ou d'hybridation pourrait quant à lui renvoyer à cet assemblage, mais ce sont les techniques de fusion cellulaire que le texte vise en l'occurrence, ce qui ne comprend pas les assemblages de la biologie synthétique. C'est dire si la directive 2001/18 du 12 mars 2001 devra être rapidement adaptée d'une manière ou d'une autre à ces évolutions"* (Hermitte et al., 2009).

La question posée en filigrane par ces auteurs porte sur le maintien de certaines VTH non-GM sous le giron du droit commun ("simple" inscription au catalogue) ou de leur "requalification" en OGM afin de les soumettre à un processus similaire d'évaluation des risques écologiques et sanitaires ancré dans une logique de précaution.

Anvar (2008) relève néanmoins qu'une surveillance biologique du territoire est instituée par les dispositions du Code rural en matière de VTH GM et non GM.

En effet, les questions phytosanitaires sont régies par des dispositions du Code rural et s'appliquent à toute commercialisation du végétal qu'il s'agisse de variétés inscrites au Catalogue ou non. Aux termes de l'article L. 251-1. I du Code rural, "les végétaux, y compris les semences, (...) et les supports de cultures composés en tout ou partie d'organismes génétiquement modifiés disséminés dans l'environnement ou mis sur le marché, font l'objet d'une surveillance renforcée effectuée par les agents chargés de la protection des végétaux".

Le Code rural précise que la surveillance biologique du territoire a pour objet de s'assurer de l'état sanitaire et phytosanitaire des végétaux et de suivre l'apparition éventuelle d'effets non intentionnels des pratiques agricoles sur l'environnement. Elle relève de la compétence des agents chargés de la protection des végétaux ou s'effectue sous leur contrôle.

Ces missions sont dévolues à des agents habilités : "Si un ou des lots de produits végétaux, d'origine végétale (...) présente ou est susceptible de présenter un danger pour la santé publique, la sécurité des consommateurs ou l'environnement, les agents mentionnés à l'article L. 250-2 peuvent ordonner la destruction, la consignment,

---

<sup>21</sup> Comme nous l'avons déjà signalé, nous avons pris le parti de cantonner le champ de notre analyse au droit français et européen, en raison de sa plus facile accessibilité et des délais impartis pour cette expertise qui rendaient délicate une analyse tournée vers l'international.

le retrait ou le rappel, en un ou plusieurs lieux, du ou des lots de produits précédemment cités ou toute autre mesure qu'ils jugent nécessaire" (Article L. 250-7 du Code rural).

Dans le cadre de cette expertise et à la lumière des textes susvisés, il ne semble pas qu'une telle démarche s'inscrive dans une logique de précaution (réservée aujourd'hui aux seules VTH GM) mais plutôt dans une logique de prévention des risques avérés.

Or, depuis que le principe de précaution a été inscrit en droit français par la loi n° 95-101 du 2 février 1995 relative au renforcement de la protection de l'environnement, il n'a cessé de s'étendre dans les différentes sphères du droit. Dans un domaine situé en aval de la production variétale, à savoir dans le secteur agro-alimentaire, le règlement n°178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002, a institué une méthode d'évaluation et de gestion du risque "suspecté" destinée à éclairer ceux qui seront amenés à prendre certaines mesures provisoires proportionnées à la gravité d'un danger pour la santé du consommateur. En présence d'un aléa et d'un doute scientifique "légitime", l'objectif poursuivi est de neutraliser le risque sanitaire ou environnemental dont on peut suspecter une éventuelle réalisation. Aussi, accorde-t-on aux données scientifiques une place prépondérante dans l'évaluation des risques. Ceci a pour principale conséquence de faire de l'incertitude scientifique un fait juridiquement reconnu à même de produire des effets de droit (Collart-Dutilleul, 2003 ; Boy, 1997).

En présence d'une VTH, la "*summa divisio*" posée par le législateur, en termes d'évaluation des risques sanitaires et écologiques avant une mise sur le marché, est donc celle qui consiste à distinguer l'OGM, au sens de la Directive 2001/18/CE, soumis à une logique de précaution, de celui qui ne l'est pas.

Les VTH se situent en conséquence au cœur d'une articulation assez "fine" entre droit commun (nécessité d'obtenir une AMM épurée de toute considération environnementale ou sanitaire) et droit spécial (nécessité d'obtenir une seconde AMM), en fonction de la technique d'obtention de la variété, c'est-à-dire entre la transgénèse et la mutagenèse.

Ce droit "spécial" applicable aux VTH OGM prévoit la mise en place d'instances et de procédures destinées à prévenir les risques de dommage pour le consommateur et l'environnement. Ce corpus de règles prend appui sur deux directives communautaires (Directive 90/219/CEE du 23 avril 1990, relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés ; Directive 90/220/CEE du 23 avril 1990, relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement, abrogée et remplacée par la directive 2001/18/CE). La réglementation des organismes génétiquement modifiés a connu depuis de profonds réaménagements sans qu'il soit nécessaire de les détailler dans le cadre de cette expertise.

Si la question a été posée, nous n'avons pas identifié au sein de la doctrine juridique des propositions concrètes qui prôneraient une assimilation pure et simple de ces deux "produits" (VTH GM et obtenues par mutagenèse) dès lors que la modification génétique est "forcée" par l'homme (par le biais d'un traitement chimique ou à la suite de l'insertion d'un transgène). En effet, il s'agit, pour M.A. Hermitte (1985) d'une question d'une grande technicité qui "*laisse le juriste entre les mains des experts*" scientifiques.

Ainsi, dans leur dimension matérielle, l'on perçoit la différence de traitement "juridique" entre les VTH

GM et celles non-OGM sur le terrain principalement des procédures de délivrance des AMM.

Dans leur dimension immatérielle, elles sont au cœur d'un possible chevauchement technologique, une VTH pouvant héberger deux innovations : une création variétale (génotype protégé par COV) et une invention biotechnologique (séquence d'ADN protégé par brevet).

### 5.1.3.2. Les VTH et l'"appropriation du vivant"

Une VTH est, par essence, une innovation variétale susceptible d'être couverte par un droit de propriété intellectuelle (DPI). La finalité de ces droits de propriété intellectuelle est d'assurer la rétribution de l'effort créatif/inventif/financier déployé par l'inventeur (ou l'obteneur) en lui assurant un monopole d'exploitation temporaire sur son innovation en l'échange de son exploitation et de sa divulgation auprès du public.

Pour l'inventeur ou l'obteneur, il s'agit le plus souvent de rentabiliser un effort d'investissement en s'assurant la conquête d'un nouveau marché. Celui qui a investi dans la recherche ou la sélection doit tirer un juste profit de

son effort d'innovation. Et pour la collectivité, il s'agit de stimuler l'innovation technologique, moteur de la croissance économique, tout en diffusant le savoir dans les milieux scientifiques.

Pendant longtemps, d'aucuns soutenaient que le droit des brevets ne pouvait se saisir de la matière vivante. Or si l'on examine attentivement les lois sur les brevets, le vivant n'a jamais été expressément exclu du champ de la brevetabilité. Il existait toutefois certaines barrières morales et éthiques qui y faisaient obstacle.

Or, au cours des décennies passées, nous avons assisté à un mouvement d'extension puissant du champ d'application des droits de propriété intellectuelle du monde de l'inanimé en direction du monde du vivant. Dans un premier temps, cette extension a pris la forme de la création du certificat d'obtention végétale, droit d'exclusion construit "sur mesure" pour les obtenteurs afin de valoriser leur long et coûteux travail de sélection. Dans un second temps, en raison de l'emprise croissante de l'homme sur le vivant, les portes du brevet qui semblaient jusque-là fermées aux créations génétiques se sont entrouvertes.

S'il n'est pas question de revenir dans le cadre de cette expertise sur les grandes étapes qui ont jalonné ce mouvement d'ensemble, nous avons pris le parti de développer, d'un point de vue pratique, les implications qu'elles induisent en termes de monopole, en raisonnant toujours à travers le prisme des VTH.

En effet, si l'on prend pour "base de départ" une VTH, on identifie très rapidement deux droits de propriété intellectuelle en cause, le COV d'une part et le brevet d'autre part.

Ces deux droits présentent de nombreux points communs : droits d'exclusivité d'une durée de 20 ans pour l'un (brevet) et de 25 à 30 ans pour l'autre selon les espèces. Les deux régimes prévoient l'octroi d'un monopole sous condition de remplir des critères bien précis, mais aussi certaines obligations à la charge du titulaire de la protection : obligation de payer certaines redevances, obligation de divulguer leur invention, obligation de les exploiter dans certaines situations. Certains mécanismes correcteurs sont également mis en place afin de promouvoir l'accès à l'innovation et son exploitation par les tiers. Il en est ainsi en cas de "blocage", c'est-à-dire de refus de l'obteneur ou du breveté de concéder une licence d'exploitation à un tiers. Dans ce cas précis, le droit des obtentions végétales et le droit des brevets ont prévu des mécanismes de licences obligatoires ou "forcées". Certaines zones de libre accès à l'innovation sont également imposées afin d'éviter tout blocage en matière de recherche fondamentale. Enfin, à l'expiration du délai de protection, l'invention (ou l'obtention) tombe dans le domaine public et devient librement accessible aux tiers. Telle est l'économie générale de ces droits de propriété intellectuelle. Ils sont des outils de conquête et de réservation d'un marché mais aussi de promotion et de partage de l'innovation<sup>22</sup>.

Afin de mesurer les différences entre le COV et le brevet à l'aune des VTH, il convient de distinguer la *plante* TH de la *variété* TH qui les englobe. En effet, la *plante* TH est composée de matière biologique. La matière biologique est définie au sens de la directive 98/44 comme "*une matière contenant des informations génétiques*". Cette matière présente certaines particularités, en ce sens qu'elle est autoreproductible et qu'elle présente une capacité à développer des mutations. La *variété* TH est quant à elle beaucoup plus difficile à définir. En simplifiant à l'extrême, elle est une information génétique (un génotype) partagée par un ensemble de plantes présentant un trait commun de tolérance à un herbicide stable, homogène et distinctif.

Aussi, en présence d'une VTH, la doctrine juridique identifie deux droits de propriété industrielle susceptibles d'être "actionnés" : le droit des brevets a vocation à se saisir d'une information génétique technique relative à une matière biologique, telle une séquence d'ADN. Il peut s'agir d'un gène actif codant une résistance au glyphosate inséré dans une plante autogame ; le certificat d'obtention végétale (COV) a vocation à se saisir du génotype d'une plante, dont l'expression se matérialisera par la présence de certaines caractéristiques génétiques, eu égard à son aptitude à être reproduit conforme (section 5.1.3.2.1).

En présence d'une VTH qui est le plus souvent le fruit d'une rencontre entre sélection variétale et opération de transgenèse, l'on décèle rapidement la question de l'enchevêtrement des prérogatives sur une même plante et la question de la gestion des dépendances (section 5.1.3.2.3) qui rejaillira sur certaines pratiques agricoles (section 5.1.3.2.4).

---

<sup>22</sup> Comme le relève Bernard Remiche (2007), il convient d'être attentif à une distinction essentielle : il y a, d'une part, le système de brevets et, de l'autre, son utilisation. La question sera toujours de savoir si le système est responsable de telle ou telle défaillance ou si c'est son utilisation que l'on doit critiquer.

### 5.1.3.2.1. La protection de la création variétale ou l'appropriation du génotype d'une plante

C'est à l'initiative de la France que la première Convention de l'Union pour la protection des obtentions végétales (UPOV) a été adoptée le 2 décembre 1961. Cette Convention a été par la suite révisée à trois reprises, respectivement en 1972, 1978 et en 1991. Cette Convention reconnaît une protection *sui-generis* aux sélectionneurs. Ainsi, un certificat d'obtention végétale peut être délivré à un obtenteur ayant créé ou "découvert" une variété nouvelle. L'éligibilité d'une variété au COV est conditionnée par la satisfaction de quatre critères cumulatifs : la nouveauté, la distinction, l'homogénéité et la stabilité. Un COV peut être obtenu à l'échelle nationale ou communautaire depuis l'adoption du règlement 2100/94 du 27 juillet 1994 instituant une protection communautaire des obtentions végétales.

La Convention UPOV, tout en organisant la protection du génotype commun à un ensemble végétal, institue le mécanisme de privilège de l'obteneur. Il s'agit d'offrir aux tiers la capacité d'utiliser la variété protégée afin de développer un "nouveau" génotype dont la majeure partie sera héritée de la variété souche, et cela, sans avoir à verser de redevances à son créateur. Ceci constitue toute la spécificité de ce régime de protection vis-à-vis du régime du brevet d'invention. En effet, en droit des brevets d'invention, toute réutilisation de l'information brevetée dans le cadre d'une nouvelle création emporte dépendance du second inventeur.

Avec l'arrivée de la transgénèse dans le monde de l'innovation végétale, technique offrant une marge de manœuvre plus importante dans la possibilité de modifier le génotype d'une plante, les obtenteurs ont craint d'être "pillés" par les sociétés de biotechnologie. Ces dernières, en s'appuyant sur le principe du libre accès à la variété souche, étaient en mesure d'introduire rapidement un changement plus ou moins "distinctif" dans le programme génétique d'une plante et d'échapper ainsi au monopole de l'obteneur. Par ailleurs, elles étaient en mesure de déposer un brevet de produit sur la plante ainsi modifiée et de solliciter l'octroi d'un COV pour la nouvelle variété ainsi développée (sous réserve de remplir les critères DHS).

Dès lors, les obtenteurs ont souhaité introduire au début des années 1990 le mécanisme de la "dépendance" au sein de la législation relative à la protection des obtentions végétales. Ce renforcement des droits de l'obteneur s'est traduit par l'adoption du principe de la "dérivation essentielle" qui consiste à étendre les prérogatives du titulaire d'un COV aux variétés essentiellement dérivées (VED) d'une variété connue.

Aux termes de la convention UPOV, une variété est essentiellement dérivée lorsqu'elle remplit trois critères cumulatifs :

- elle est principalement dérivée de la variété initiale tout en conservant les expressions des caractères essentiels qui résultent du génotype ou de la combinaison de génotypes de la variété initiale ;
- elle se distingue nettement de la variété initiale ;
- sauf en ce qui concerne les différences résultant de la dérivation, elle doit être conforme à la variété initiale dans l'expression de ses caractères essentiels.

Ce mécanisme de la dérivation essentielle a été introduit à l'occasion de la révision de la Convention UPOV en 1991 et repris par le règlement 2100/94 du 27 juillet 1994 instituant une protection communautaire des obtentions végétales<sup>23</sup>. Un projet de loi adopté le 8 juillet 2011 par le Sénat et le 28 novembre 2011 par l'Assemblée Nationale<sup>24</sup> modifie les dispositions du Code de la propriété intellectuelle en y introduisant la notion de VED. Il en découle que l'obteneur d'une VED peut obtenir un titre de protection autonome, dans la mesure où sa création satisfait aux critères de nouveauté, de distinction, d'homogénéité et de stabilité requis. Néanmoins, il ne pourra pas l'exploiter sans l'autorisation du titulaire des droits sur la variété initiale.

A titre d'exemple, une société de biotechnologie qui souhaiterait introduire un trait TH au sein d'une variété, déjà enregistrée au Catalogue, est en mesure de le faire et de demander la délivrance d'un certificat d'obtention végétale, sous réserve de remplir les critères DHS. Elle sera néanmoins dépendante du titulaire du COV initial. Elle devra obtenir une licence d'exploitation moyennant redevances afin de l'exploiter commercialement.

---

<sup>23</sup> Le titre communautaire est délivré à l'issue d'une procédure unique et centralisée par l'Office communautaire des variétés végétales (OCVV). Ce titre est valable sur l'ensemble du territoire de l'Union européenne. Le système mis en place coexiste ainsi avec les législations nationales relatives aux variétés végétales. Mais les deux types de droits ne se cumulent pas (art. 92 du règlement 2100/94).

<sup>24</sup> <http://www.assemblee-nationale.fr/13/ta/ta0775.asp>

**Tableau 5-2. La protection par COV d'une VTH**

| Monopole<br>VTH   | Certificat d'obtention végétale  |
|---|--|
| VTH OGM   | <p><u>Conditions :</u><br/>-La variété doit être nouvelle + critères "D.H.S."</p> <p><u>Portée :</u><br/>- Droit exclusif à produire, à introduire sur le territoire, à vendre ou à offrir en vente tout ou partie de la plante, ou tous éléments de reproduction ou de multiplication végétale de la variété considérée et des variétés qui en sont issues par hybridation lorsque leur reproduction exige l'emploi répété de la variété initiale.</p> <p><u>Exceptions :</u><br/>- Privilège de l'obtenteur ❶<br/>- Privilège de l'agriculteur</p> |
| VTH non-OGM impliquant une intervention « technique » humaine (ex : Mutagenèse) | <p><u>Conditions :</u><br/>- La variété doit être nouvelle + critères "D.H.S."</p> <p><u>Portée :</u> cf. VTH OGM</p> <p><u>Exceptions :</u><br/>- Privilège de l'obtenteur<br/>- Extension de la protection aux "variétés essentiellement dérivées"<br/>- Privilège de l'agriculteur</p>  |
| VTH non-OGM issue d'un procédé de sélection traditionnelle                      | <p><u>Conditions :</u><br/>- La variété doit être nouvelle + critères "D.H.S."</p> <p><u>Portée :</u> cf. VTH OGM</p> <p><u>Exceptions :</u><br/>- Privilège de l'obtenteur<br/>- Extension de la protection aux "variétés essentiellement dérivées"<br/>- Privilège de l'agriculteur</p>  |

❶ Une VTH GM se distingue par la présence d'un transgène en son sein. Ce gène peut être breveté. Dans une telle hypothèse, toute plante qui l'exprime est couverte par le monopole du titulaire du brevet. En conséquence, la réserve de l'obtenteur qui consiste à permettre aux tiers d'accéder à la variété protégée afin de développer de nouvelles variétés "libres d'exploitation" sera paralysée par l'effet de réservation inhérent au brevet (sous réserve que le gène breveté s'exprime dans cette nouvelle variété végétale).

Pour certains auteurs, le mécanisme de la dérivation essentielle vise à mettre un terme aux situations "limites" dans lesquelles l'introduction d'un aménagement mineur permettait de faire sortir le patrimoine génétique de la variété dérivée du champ de la protection. Pour d'autres, cette évolution est le reflet d'un renforcement massif des droits de propriété industrielle sur le vivant, à l'origine de la rupture d'un équilibre originel. Cette idée de rupture d'un équilibre originel est également mise en avant lorsqu'il est question de breveter "le vivant", instrument d'appropriation d'une invention.

#### 5.1.3.2.2. La protection de l'invention végétale : l'appropriation du trait génétique TH par le brevet

La littérature académique aborde souvent la question du trait de tolérance à un herbicide lorsqu'il est question d'aborder la brevetabilité du vivant. Ceci s'explique par le fait que nombre de VTH aujourd'hui commercialisées dans le monde sont des variétés transgéniques. Toutefois, la brevetabilité du trait de tolérance ne soulève, en lui-même, aucune controverse particulière au sein de la doctrine juridique française. Pour autant, il nous a semblé utile de revenir sur les questions "sensibles" qui y sont associées, à savoir celles relatives à l'étendue du droit d'exclusion reconnu au titulaire du brevet.

Matériellement, une plante tolérante aux herbicides exprime ce trait parce qu'il est codé par son matériel génétique. Ce lien de cause à effet est au cœur de la logique qui sous-tend le brevet. En effet, c'est à partir du moment où une personne est capable de maîtriser ce lien<sup>25</sup> et de le reproduire de manière suffisamment fiable, qu'il peut prétendre à l'octroi d'un brevet d'invention, sous réserve de remplir les critères de brevetabilité.

<sup>25</sup> L'inventeur n'a pas à expliquer ce lien, c'est-à-dire à décrire la chaîne de réactions métaboliques, afin de prétendre à l'obtention d'un monopole. Seule la description de l'invention, c'est-à-dire le moyen de résoudre un problème technique est requise par les directives d'examen des Offices de brevets.

Ainsi, avec le développement du génie génétique, les scientifiques sont capables d'identifier, isoler, purifier et réintroduire les gènes cibles dans le génotype d'une autre plante, sous le contrôle éventuellement d'un promoteur fonctionnel spécialement sélectionné. Cette maîtrise croissante du "vivant" est au cœur du raisonnement à tenir lorsqu'il s'agit de distinguer ce qui relève du domaine de la découverte ou de l'invention brevetable.

Cette invention doit prendre les traits d'une "solution technique à un problème technique". A ce stade, une précision importante est à fournir. L'objet du brevet qui sera éventuellement délivré n'est pas la matière biologique mais l'information génétique qu'elle encode. En effet, nous sommes en présence d'un droit de propriété "intellectuelle" qui, par essence, porte sur une invention, c'est-à-dire une information. Cette information est génétique. Elle est brevetable sous réserve d'être "fonctionnelle", c'est-à-dire d'être en mesure de s'exprimer dans un contenant biologique. Si la matière biologique n'est pas l'objet de l'invention, elle sera l'objet de la "réservation". Ainsi, à défaut d'expression de l'information génétique, la matière biologique n'est pas couverte par le monopole du breveté (une matière morte n'est pas couverte par le brevet, arrêt Monsanto, juin 2010).

Il faut alors définir le périmètre de la réservation privative sur le vivant végétal. La définition de ce périmètre se fait à l'aune des revendications déposées par le breveté. En effet, l'article 69 de la Convention sur le brevet européen (CBE) dispose que l'étendue de la protection conférée par le brevet est déterminée par la teneur des revendications. Cet article est à mettre en relation avec les articles 83 et 84 CBE qui posent principalement deux exigences. D'une part, les revendications doivent être claires et concises et se fonder sur la description. D'autre part, la demande doit exposer l'invention de façon suffisamment claire et complète pour qu'un homme de métier puisse la reproduire. Ainsi, ce *corpus* de règles édictées par la Convention sur le brevet européen fixe le cadre à l'intérieur duquel les revendications doivent s'insérer et être interprétées.

En présence d'une VTH, il est avant tout question d'une "plante", c'est-à-dire une matière biologique complexe présentant un trait caractéristique vis-à-vis d'un herbicide. Cette plante peut être obtenue par sélection traditionnelle, par l'utilisation d'un nouveau procédé "technique" d'irradiation (mutagenèse), elle peut être obtenue par transgenèse (OGM). En conséquence, une plante TH peut être associée à un dépôt de brevet sur le procédé d'obtention (brevet de procédé), sur le gène encodant la tolérance (brevet de produit) tout en étant couverte par un droit d'obtention végétale (cette plante étant représentative d'une variété présentant un caractère stable, homogène et distinctif).

Ainsi, on distingue traditionnellement les revendications de produit des revendications de procédé au sein du régime du brevet d'invention.

#### *Le brevet de produit*

En droit "commun"<sup>26</sup> des brevets, l'inventeur qui a déposé une revendication de produit est en mesure de revendiquer tous les procédés d'obtention de la matière visée (le produit) ainsi que toutes ses applications connues et inconnues. On est en présence d'un monopole dit "absolu", au très fort pouvoir de blocage. Le produit peut se définir comme un corps certain et déterminé. Il peut s'agir d'une séquence d'ADN ou d'une plante en tant que telle. Aussi, dans le cadre d'une revendication de produit, la contrefaçon est-elle commise dès qu'un produit similaire est fabriqué par un procédé différent. Et si un tiers découvre une utilisation du produit qui n'est pas évidente et implique de ce fait une activité inventive, il peut la breveter mais il ne pourra pas l'exploiter au plan commercial sans le consentement préalable du titulaire du brevet dominant.

A côté de ces revendications de produit "classiques", on identifie les revendications dites "*product-by-process*". En effet, les Offices de brevets ont été amenés à accueillir des revendications définissant l'objet de l'invention par son procédé de fabrication. "*Ce produit est alors revendiqué comme étant produit par un procédé (cela peut être, sur le principe, un procédé de mutagenèse), si celui-ci peut être décrit de manière reproductible*" (Chemtob-Concé, 2006). En conséquence, ces revendications "*product-by-process*" relèvent d'une catégorie hybride et se présentent traditionnellement comme suit : "*un produit obtenu par le procédé X*" ou "*un produit pouvant être obtenu par le procédé X*". Une revendication du type "*product-by-process*" sera interprétée par les Offices de

---

<sup>26</sup> C'est-à-dire les règles de droit qui s'appliquent à toutes les inventions chimiques, mécaniques et biologiques, en dehors d'une règle de droit spécial qui viendrait y déroger. A l'occasion de la transposition de la directive 98/44 en droit français dans le cadre de la révision des lois de bioéthique, de profonds aménagements ont été apportés par le législateur français. En conséquence, la portée d'une revendication de produit portant sur une séquence d'ADN d'origine humaine est strictement cantonnée à la fonction décrite dans la demande de brevet. On parle dès lors d'un brevet de "fonction" (*cf. infra*).



brevets comme portant sur le produit "en tant que tel", c'est-à-dire conférant une protection absolue. Ces revendications sont donc assorties des mêmes prérogatives que celles reconnues au brevet de produit "classique". En contrepartie, l'admissibilité de ces revendications est encadrée strictement par l'OEB. Il faut que le produit satisfasse aux conditions requises pour la brevetabilité. En d'autres termes, seuls les produits nouveaux, c'est-à-dire en dehors de l'état de la technique (domaine public), peuvent être visés par une revendication de ce type.

#### *Les revendications de procédé*

Les revendications de procédé permettent d'appréhender une "façon de faire", soit les techniques de fusion cellulaire, de micro-injection, de culture de cellules. Cela couvre également les techniques de l'ADN recombinant, d'enrichissement et de modification génétique d'une matière biologique mais aussi, potentiellement, les techniques de mutagenèse, à condition qu'elles puissent remplir les différents critères de brevetabilité (nouveauté, activité inventive, application industrielle, description suffisante, reproductibilité de l'invention).

Une précision essentielle est à apporter ; le "système" brevet régissant la protection juridique des inventions génétiques est fondé sur un axe inamovible : l'invention d'une "matière biologique" ou d'un procédé est conditionnée par sa dimension "technique", caractérisée dans la pratique par le degré d'intervention humaine. Or, la détermination d'un seuil d'intervention minimale est capitale dans la délimitation du champ de la brevetabilité. Il permet notamment de tracer la frontière entre le procédé essentiellement biologique non brevetable et celui qui peut faire l'objet d'une réservation privative.

De manière traditionnelle, les procédés essentiellement biologiques s'entendent des processus naturels, hors de la maîtrise technique de l'homme (Galloux, 1990). En conséquence, il s'agit de définir le degré d'intervention humaine requis afin de faire basculer un procédé essentiellement biologique dans la catégorie des procédés "techniques" éventuellement brevetables. Les Directives d'examen de l'Office européen des brevets donnent quelques indications des critères retenus en ce domaine puisqu'elles précisent que "*une méthode de traitement des végétaux ou des animaux en vue d'en améliorer les qualités ou le rendement ou en vue de stimuler ou d'interrompre la croissance au moyen d'un procédé mécanique, physique ou chimique (...) ne saurait être considérée comme essentiellement biologique puisque l'essence de l'invention (...) implique une intervention technique*".

Ainsi, dans la décision *Lubrizol*<sup>27</sup>, la Chambre de recours technique a estimé que le procédé consistant à inverser des étapes "naturelles" ne pouvait être considéré comme essentiellement biologique, cette séquence atypique d'étapes jouant un rôle déterminant dans l'invention et dans le résultat obtenu. Par ailleurs, dans la décision *PGS*<sup>28</sup>, la Chambre de recours technique a été amenée à se prononcer sur le caractère essentiellement biologique d'un procédé impliquant une étape de transgénèse. En l'espèce, bien que d'autres étapes importantes du procédé fassent appel à des mécanismes naturels, l'étape décisive consistait à insérer une séquence d'ADN dans le génome de la plante, insertion qui ne pouvait se réaliser sans intervention humaine (Pollaud-Dulian, 1997).

Au travers d'un ensemble de décisions émanant de l'Office européen des brevets (OEB), on relève que le critère de distinction repose sur l'exigence d'une intervention causale significative de l'homme susceptible d'influer sur le cours naturel des choses. C'est évidemment le cas dans le cadre de la transgénèse et de la mutagenèse. Dès lors, tout procédé visant à modifier une partie du programme génétique d'un animal ou d'une plante, que ce soit par transgénèse ou tout autre moyen, est par essence technique.

Au sein de la Directive 98/44 transposée en droit français en 2004, l'article 2 § 2 pose désormais une solution dénuée de toute ambiguïté : "*un procédé d'obtention de végétaux ou d'animaux est essentiellement biologique s'il consiste intégralement en des phénomènes naturels tels que le croisement ou la sélection*".

La Grande chambre de recours de l'OEB<sup>29</sup> a récemment rappelé qu'un procédé permettant la production de plantes et consistant en une étape de croisement sexué de la totalité du génome de plantes puis une étape de sélection de plantes est, en principe, exclu du champ du brevet car "essentiellement biologique" au sens de la

---

<sup>27</sup> Les revendications portaient sur un procédé d'obtention de semences hybrides hautement homogènes, produites en grande quantité, cf. Chambre de recours technique, décision T 320/87, Plantes hybrides Lubrizol, 10 novembre 1988, JOOEB 1990, p. 71 et s.

<sup>28</sup> Chambre de recours technique, 21 février 1995, T 356/93, point 40.1 : « L'étape de transformation des cellules ou du tissu de plante avec un ADN recombinant, qu'elle soit ou non le fait du hasard, constitue une étape technique essentielle ayant un impact décisif sur le résultat final souhaité ».

<sup>29</sup> OEB, Grande chambre de recours, 9 décembre 2010.

Convention sur le brevet européen. Il en découle que tout procédé de sélection traditionnelle mis en œuvre par un obtenteur est exclu du champ de la brevetabilité. Aux termes de l'article 64 (2) CBE : "*Si l'objet du brevet européen porte sur un procédé, les droits conférés par ce brevet s'étendent aux produits obtenus directement par ce procédé*". En conséquence, le même produit, lorsqu'il est obtenu par un autre procédé, n'est pas une contrefaçon (voir Scuffi 2003)<sup>30</sup>.

On peut en conclure qu'en présence d'une revendication de procédé permettant de produire une plante, les tiers ne peuvent exploiter le procédé d'obtention revendiqué et, dans l'hypothèse où ils détiendraient une plante similaire à celles produites par le procédé breveté, c'est au présumé contrefacteur de prouver qu'il n'est pas dans une situation de contrefaçon. En effet, aux termes de l'article 34 de l'Accord ADPIC, tout produit identique fabriqué sans le consentement du titulaire du brevet sera, jusqu'à preuve du contraire, considéré comme ayant été obtenu par le procédé breveté.

#### *Application aux plantes tolérantes aux herbicides*

En présence d'une plante TH, l'utilisation d'un nouveau procédé de modification génétique débouchant sur un "produit" nouveau peut entraîner le dépôt d'un brevet de procédé et d'un brevet de produit, sous réserve de remplir les différents critères de brevetabilité :

- le brevet de procédé couvre le nouveau procédé ainsi que les produits obtenus directement par ce procédé (cf. *supra* sur les revendications de procédé).
- quant au brevet de produit, il couvre la plante TH, sous réserve qu'elle soit nouvelle et/ou qu'elle présente une amélioration "sensible" de ses caractéristiques physiques (*product-by-process*). La contrefaçon du brevet sera acquise dès lors qu'un tiers commercialisera une plante TH similaire, peu importe que ce soit par le biais d'un procédé totalement différent<sup>31</sup>.

A ce niveau, une nuance fondamentale doit être apportée à la lumière des différentes techniques d'obtention utilisées (mutagenèse et transgenèse) et du principe général d'interdiction de breveter une variété posé par le Code de la propriété intellectuelle (CPI). En effet, comme le soulignent X. Buffet Delmas d'Autane et A. Doat (2004), la reconnaissance de la brevetabilité des plantes issues de manipulations génétiques connaît certaines limites. Toute manipulation génétique sur un végétal n'est pas brevetable. "*Si l'invention se borne à modifier génétiquement une variété végétale et si une nouvelle variété végétale est obtenue, elle reste exclue de la protection*"<sup>32</sup>, conformément au principe selon lequel les variétés végétales ne sont pas brevetables en tant que telles.

Toutefois, "*les ensembles végétaux d'un rang taxinomique supérieur à la variété caractérisés par un gène déterminé et non par l'ensemble de leur génome peuvent faire l'objet d'une protection par brevet si l'invention relative y incorpore seulement un gène nouveau et porte sur un ensemble plus large qu'une seule variété végétale. [...] Une modification génétique d'une variété végétale déterminée n'est pas brevetable mais une modification d'une portée plus grande, portant notamment sur une espèce, peut être protégée par brevet*"<sup>33</sup>.

Sans entrer dans des détails trop abscons, il en découle deux enseignements :

- D'une part, en matière de transgenèse, une plante TH peut être obtenue par l'insertion d'un transgène qui, une fois exprimé, lui confère une tolérance à un herbicide. La séquence d'ADN correspondant à un gène peut être couverte, en tant que telle, par un brevet de produit. Or cette séquence d'ADN a vocation à être insérée dans une plante afin qu'elle s'exprime. Aux termes de l'article 9 de la directive 98/44<sup>34</sup>, le monopole s'étend à toute matière dans laquelle l'information génétique est contenue et y exerce sa fonction. En d'autres termes, la plante sera "réservée" par l'inventeur de la séquence d'ADN, à condition que cette dernière soit active. Toute production d'une plante contenant la même séquence nucléotidique active sera constitutive d'un acte de contrefaçon.

La plante TH en question peut être couverte également par une revendication dite "product-by-process" sous réserve que la faisabilité technique de l'invention ne soit pas limitée à une variété végétale déterminée, ce qui est le cas en matière de transgenèse. Il est donc aujourd'hui suffisant, pour admettre la brevetabilité d'une plante

<sup>30</sup> Chambre de recours technique, décision T 20/94 du 4 novembre 1998, citée par

<sup>31</sup> Ce qui ne sera pas le cas en présence d'une revendication de procédé.

<sup>32</sup> Considérant n°32 de la directive 98/44.

<sup>33</sup> *Rapp. de la Commission au Parlement et au Conseil - Évolution et implications du droit des brevets dans le domaine de la biotechnologie et du génie génétique, COM/2002/0545, 7 oct. 2002, pt [32] : <http://europa.eu.int/scadplus/leg/fr/lvb/l26026a.htm>.*

<sup>34</sup> Article L613-2-2 du Code de la propriété intellectuelle.

TH transgénique, que la manipulation génétique soit applicable à plusieurs variétés végétales et non à une variété végétale déterminée. *"Tel est le cas pour la plante issue d'une modification de son patrimoine génétique destinée à la rendre résistante à certains herbicides, comme le canola RoundUp Ready® de Monsanto, puisqu'elle ne constitue pas à proprement parler une nouvelle variété caractérisée par l'ensemble de son génome, mais seulement un végétal caractérisé par un gène déterminé"* (Passa, 2005).

Pour J. Passa (2005), si la plante servant de base à la manipulation constituait une variété végétale protégée, *"il est possible que (deux) modes de protection coexistent, chacun couvrant un objet juridique différent : le droit d'obtention végétale pour la variété végétale, obtenue le cas échéant par manipulations génétiques, et le brevet pour l'invention incorporée dans la plante consistant dans l'adjonction d'un gène remplissant une fonction technique, même si ce gène est présent dans toute la plante puisque toute la structure physique est formée des cellules comprenant le gène"*.

De toute évidence, le législateur a promu une "fiction juridique" destinée à justifier la "coexistence" de deux systèmes de protection qui, en principe, sont exclusifs l'un de l'autre. Il convient en effet de rappeler qu'une obtention au sens strict correspond à un génotype, *"c'est-à-dire l'ensemble des caractères génétiques qui la distingue de ce qui est déjà connu"*. Ce génotype nouveau peut être "approprié" exclusivement par le biais d'un COV. Or, un gène breveté inséré dans le génotype d'une plante offre à l'inventeur la possibilité de revendiquer la "plante" à l'intérieur de laquelle s'exprime le gène. La "fiction juridique" consiste à dissocier le gène du génotype bien que les revendications couvrent le produit, c'est-à-dire la "matière biologique" (la plante). En théorie, il n'y a donc pas "cumul" de protection. En pratique, un brevet et un COV peuvent couvrir une seule et même plante.

- En matière de mutagenèse, une difficulté surgit. En effet, la technique utilisée conduit à l'apparition d'un nouveau génotype, à savoir celui de la plante cible sélectionnée en raison de ses caractéristiques génotypiques.

Cette plante est, en principe, non brevetable en tant que telle : elle ne peut être couverte par une revendication de produit. En effet, *"lorsque le brevet est revendiqué pour un produit, il convient simplement de déterminer si ce dernier constitue ou non une variété végétale nouvelle protégeable par COV. Dans le premier cas de figure, la protection du brevet est exclue et celle du COV accessible. Dans le second, c'est la protection du COV qui est exclue et celle du brevet qui devient accessible"* (Bouche, 2007). Toutefois, le procédé d'obtention de la plante TH peut accéder à la protection par brevet si la faisabilité technique de l'invention n'est pas limitée à une variété végétale déterminée. Tel est le cas en matière de mutagenèse. Or, les produits qui en sont issus sont couverts par le brevet (art. L. 613-2-3, al. 2 du CPI).

A ce niveau, on identifie une nouvelle "fiction" juridique. En effet, on peut considérer que *"brevet et COV n'auront alors pas exactement le même objet : celui du brevet sera toute plante issue du procédé breveté, tandis que celui du COV sera une variété végétale déterminée"* (Bouche, 2007). Dans la pratique, la plante qui est obtenue à partir d'un procédé de mutagenèse sera couverte potentiellement par deux droits de propriété industrielle. D'une part, par un droit d'obtention végétale et, d'autre part, par un droit de brevet portant sur la plante obtenue par le procédé breveté.

On comprend aisément que de telles fictions juridiques poursuivent un objectif clairement affiché : conserver la logique sous-jacente qui innerve le droit européen de la propriété industrielle dans le domaine du "vivant". L'objet du COV ne peut être qu'une variété végétale, l'objet du brevet ne peut être qu'une invention végétale (c'est-à-dire tout ce qui ne relève pas du génotype).

Si le cumul de protection est en principe impossible, il est une réalité susceptible d'enclencher un phénomène de redevances en cascade aboutissant à un renchérissement du produit pour l'utilisateur final. D'autant que plusieurs autres régimes de propriété industrielle peuvent s'appliquer aux produits végétaux. *"Ainsi de très nombreux produits du sol peuvent-ils bénéficier de la protection du droit des appellations d'origine ; mais la protection tend alors à garantir l'origine géographique du produit en assurant aux producteurs qui remplissent les conditions du cahier des charges l'exclusivité de l'utilisation de l'appellation (...). De même, une marque peut être appliquée à une obtention végétale ; mais l'exclusivité conférée n'est alors assurée que sur l'usage de la marque, pas sur la création végétale elle-même"* (Bouche, 2007).

**Tableau 5-3. La protection par brevet d'une plante tolérante aux herbicides ❶**

| Monopole<br>Plante TH   | Revendication de produit  | Revendication de procédé  |
|---|---|---|
| Plante TH OGM<br>(Transgénèse)  | <p><u>Conditions ❷</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- La plante exprime le gène d'intérêt ;</li> <li>- La faisabilité technique de l'invention ne doit pas être limitée à une variété végétale.</li> </ul> <p><u>Portée</u> :</p> <p>Dans le cadre d'une revendication <i>product-by-process</i>, la plante sera revendiquée en tant que telle. Tous les procédés d'obtention ainsi que toutes les applications de la plante sont couverts par le brevet.</p>   | <p><u>Conditions</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Le nouveau procédé d'obtention d'une plante OGM doit remplir les critères de brevetabilité requis (nouveau, etc.).</li> </ul> <p><u>Portée</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Le procédé est protégé. Un tiers ne peut pas l'exploiter sans l'autorisation du breveté.</li> <li>- Le monopole s'étend aux plantes obtenues directement par le procédé ❸.</li> </ul> |
| Plante TH non-OGM<br>impliquant une<br>intervention "technique"<br>humaine<br>(ex : Mutagenèse) | <p><u>Principe</u> : une plante obtenue par mutagenèse n'est pas brevetable en tant que telle (la technique utilisée conduit à l'apparition d'un <u>nouveau génotype</u> appropriable exclusivement par la voie du COV, cf. V.E.D.</p> <p><u>Exception</u> :</p> <p>L'identification, après exposition de la plante à un agent chimique, du gène induit encodant la résistance à un herbicide peut ouvrir la voie à un dépôt de brevet sur le gène d'intérêt isolé.</p> <p>Dans un tel cas de figure, toute plante incorporant le gène d'intérêt breveté peut être couverte par un droit de brevet.</p> | <p><u>Conditions ❷</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Le nouveau procédé d'obtention d'une plante OGM doit remplir les critères de brevetabilité requis (nouveau, etc.).</li> <li>- La faisabilité technique de l'invention ne doit pas être limitée à une variété végétale</li> </ul> <p><u>Portée</u> : cf. plante TH OGM</p>   |
| Plante TH non-OGM<br>issue d'un procédé de<br>sélection traditionnelle                          | <b>NON</b>  | <b>NON</b>  |
|   | La technique utilisée conduit à l'apparition d'un <u>nouveau génotype</u> appropriable exclusivement par la voie du COV)  | Un procédé essentiellement biologique d'obtention de végétaux est non brevetable au sens de la Convention sur le brevet européen.   |

❶ Une VTH n'est pas brevetable en France et en Europe. Toutefois, les plantes qui la composent peuvent être protégées par brevet.

❷ L'invention doit remplir bien évidemment les critères "classiques" de brevetabilité (nouveau, caractère inventif, application industrielle, description suffisante). En droit européen des brevets, la plante ne doit pas présenter un risque avéré de dommage pour les personnes et/ou l'environnement.

❸ Une distinction importante est à faire entre un brevet de produit qui porte sur une plante TH et un brevet de procédé dont le monopole s'étend aux plantes TH obtenues directement par le procédé. Dans le premier cas, tous les modes de production de la plante sont "monopolisés". Ainsi, un tiers qui développerait un nouveau mode de production de cette plante serait dépendant du titulaire du brevet de produit. Dans le second cas, cela ne serait pas le cas. Par contre, une présomption de contrefaçon pèserait sur ses épaules, à charge pour le tiers de démontrer qu'il a obtenu cette plante par le biais d'un autre procédé.

❹ A titre d'exemple, dans le cadre de la demande de brevet "Souris de Harvard" (Division d'opposition de l'OEB, 7 novembre 2001, *Souris oncogène C/ Harvard*, JO OEB 2003, n° 10, p. 473), il était question d'un cas typique de revendications dites "product-by-process". La revendication n°19 portait sur "un animal mammifère transgénique non humain dont les cellules germinales et cellules somatiques contiennent une séquence oncogène activée comme étant le résultat d'une incorporation chromosomique dans le génome de l'animal ou dans le génome d'un ancêtre dudit animal". Une revendication du type "product-by-process" permet d'étendre ses prérogatives à tout micro-organisme, animal ou plante dans lequel une séquence d'ADN serait incorporée, du moment que l'homme du métier est en mesure de reproduire l'invention sans doutes sérieux.

A l'issue de cette présentation des types de revendication prévus par le droit des brevets, il ne fait aucun doute que les gènes, les cellules et les plantes génétiquement modifiées codant une tolérance aux herbicides ont intégré la sphère marchande en raison de la délivrance depuis plus de 30 ans de brevet de produit et/ou de procédé. Néanmoins, dans un souci de prendre en considération les spécificités du vivant, les législateurs européen et français sont intervenus afin d'aménager en profondeur le système brevet.

#### *Un droit des brevets "sui-generis" en présence d'inventions biotechnologiques*

L'une des questions longtemps débattue était de savoir si le "système" brevet, tel qu'il est appliqué aux inventions mécaniques, pouvait ou devait être transposé aux inventions biologiques. En effet, en raison des

caractéristiques propres au "vivant" (autoreproductibilité, variabilité, complexité fonctionnelle), plusieurs difficultés ont surgi lorsqu'il était question d'envisager la brevetabilité d'une création biologique. Ainsi, la préexistence d'un gène dans la nature a été souvent présentée comme un obstacle majeur à la brevetabilité du vivant, en raison de l'absence de nouveauté de l'invention. Cet argument a été rapidement balayé par les Offices de brevets pour lesquels la nouveauté d'une invention s'apprécie par rapport à l'état de la technique, c'est-à-dire l'ensemble des connaissances humaines tombées dans le domaine public.

Une autre difficulté portait sur la difficulté que pouvait éprouver un déposant à offrir une description suffisante de l'invention génétique. S'il n'est pas insurmontable de décrire la structure d'un acide nucléique, il est beaucoup moins évident de décrire une cellule eucaryote génétiquement modifiée. Pour contourner cette difficulté, le législateur a offert la possibilité à l'inventeur d'effectuer un dépôt de matière biologique auprès de l'une des 34 Autorités de dépôt internationales habilitées (A.D.I.) dans le monde aux fins de description.

Enfin, la portée des droits de monopole a suscité de vives controverses en raison du caractère multifonctionnel d'une séquence d'ADN et des risques de réservation sans rapport avec l'apport technique de l'inventeur. Afin de limiter la portée du monopole octroyé au titulaire d'un brevet, le législateur européen a entériné une série d'aménagements (renforcés à l'issue de la transcription en droit français de la Directive 98/44), en écartant la possibilité de délivrer des monopoles dits "absolus" (c'est-à-dire couvrant toutes les applications connues et inconnues d'une séquence revendiquée, seule l'application décrite dans la demande de brevet étant protégée).

D'autres aménagements ont été apportés au régime du brevet afin de l'adapter aux spécificités du "vivant" comme l'extension de la protection aux mutants et variants ou le mécanisme de l'épuisement du droit de brevet, sans qu'il soit nécessaire d'entrer plus dans les détails.

Autre évolution majeure, propre au droit des brevets biotechnologiques et en relation directe avec le domaine de l'expertise, la prise en compte du risque environnemental par les Offices de brevet.

#### *La prise en considération du risque environnemental par les Offices de brevet*

Certains questionnements portent sur la prise en considération par les Offices de brevets du risque environnemental à l'occasion de la délivrance d'un droit de monopole, sans toutefois faire l'objet d'un consensus à ce niveau. En effet, certains opposants au brevet ont fait valoir le risque environnemental encouru si les descendants des plantes ou animaux transgéniques venaient à s'échapper et à répandre les gènes dans la nature.

A ce sujet, la Division d'examen de l'Office européen des brevets (OEB) a estimé dans un premier temps que le droit des brevets n'était pas l'outil adéquat pour régler ces problèmes. Dans un second temps, la Chambre de recours technique de l'OEB n'a pas hésité à prendre le contre-pied de la Division d'examen et a précisé qu'il fallait "*peser soigneusement d'une part, les risques éventuels pour l'environnement, et d'autre part, les avantages de l'invention, son utilité pour l'humanité*".

Toutefois, cette position de l'Office européen des brevets n'a pas été reprise dans le texte de la Directive 98/44, dont l'article 6 2. d) exclut de la brevetabilité pour contrariété à l'ordre public et aux bonnes mœurs les seuls "*procédés de modification de l'identité génétique des animaux de nature à provoquer chez eux des souffrances sans utilité médicale substantielle pour l'homme ou l'animal*". Aucune exclusion spécifique n'est donc envisagée par la Directive ou par le Code de la propriété intellectuelle pour atteinte potentielle à l'environnement<sup>35</sup>.

En pratique, seul un risque grave et prouvé au moment de l'examen du brevet peut être pris en compte par l'OEB<sup>36</sup>. Une nouvelle fois, on s'inscrit dans la logique de prévention pour risques avérés et non de précaution. Dès lors, le caractère effectif de cette exclusion de brevetabilité semble bien fragile. En effet, la plupart des demandes de brevets portant sur de telles inventions sont le résultat de recherches en amont n'ayant pas fait l'objet d'études d'impact. En d'autres termes, la prise en compte du risque environnemental n'interviendra sans doute que de façon exceptionnelle.

---

<sup>35</sup> Une voie est toutefois possible par le biais de l'article L611-17 du CPI qui dispose : "*Ne sont pas brevetables les inventions dont l'exploitation commerciale serait contraire à la dignité de la personne humaine, à l'ordre public (...), cette contrariété ne pouvant résulter du seul fait que cette exploitation est interdite par une disposition législative ou réglementaire*". La contrariété de l'invention à l'ordre public peut être un moyen de rejeter une demande de brevet sur le fondement d'un risque légitimement "suspecté" d'atteinte à l'environnement.

<sup>36</sup> Cf. décision T 356/93, 21 février 1995, PGS, JOOEB 8/1995.

A la lumière de ces développements, on comprend que la plante TH, entité biologique susceptible d'être brevetée et élément d'un ensemble plus vaste (à savoir une VTH), est au cœur d'une articulation (ou d'une friction) entre le droit d'exclusivité inhérent au brevet et le droit d'obtention végétale reconnu à l'obteneur. Pour Maryline Boizard, cette situation "*risque (...) de générer des conflits de protection entre droit des brevets et droit des obtentions végétales*". Afin de pallier un tel risque, le législateur européen a institué des licences de dépendance obligatoires entre obtenteur et inventeur.

#### **5.1.3.2.3. La coexistence des droits de propriété industrielle : les licences de dépendance entre obtenteur et inventeur**

L'introduction d'un gène dans le génotype d'une plante couverte par un COV ou, à l'inverse, le développement d'une nouvelle variété sur la base d'une caractéristique phénotypique particulière codée par un gène breveté, soulèvent de nombreuses questions quant à la relation de dépendance unissant obtenteur et inventeur. En effet, comme nous l'avons vu, le développement de la transgénèse favorise la naissance d'un nouveau cas de dépendance potentielle entre deux "produits" génétiques.

Ces hypothèses n'ayant pas été envisagées dans la plupart des législations nationales relatives au droit de brevet, la directive communautaire 98/44 s'est appliquée à les régler. Aux termes de son article 12 alinéa 2 : "*lorsque le titulaire d'un brevet concernant une invention biotechnologique ne peut exploiter celle-ci sans porter atteinte à un droit d'obtention végétale antérieur sur une variété, il peut demander une licence obligatoire pour l'exploitation non exclusive de la variété protégée par ce droit d'obtention, moyennant une redevance appropriée*"<sup>37</sup>. La situation inverse est visée à l'alinéa 1<sup>er</sup> du texte communautaire. Ainsi, lorsqu'un obtenteur ou un inventeur est dépendant d'un droit de propriété industrielle détenu par un tiers, il peut demander la concession d'une licence d'exploitation à condition que la variété constitue à l'égard de l'invention revendiquée "*un progrès technique important*" et présente "*un intérêt économique considérable*".

Ce dernier critère pose de toute évidence l'exigence d'un écart quantitatif et qualitatif entre les deux innovations. Or, pour certains auteurs, le législateur offre ainsi au juge chargé de se prononcer sur la demande de licence un large pouvoir d'appréciation qui crée une grande incertitude quant à l'issue des demandes de licence (Boizard, 2005). A notre connaissance, aucune licence à caractère judiciaire n'a été délivrée sur un tel fondement.

Le dernier point "discuté" au sein de la doctrine juridique porte sur la mise en œuvre du privilège de l'agriculteur.

#### **5.1.3.2.4. Le privilège de l'agriculteur**

Il existe une pratique ancestrale au sein du monde agricole qui consiste à réutiliser les graines des plantes protégées afin d'ensemencer les cultures. En application des articles 8 et 9 de la Directive 98/44 relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques, de telles semences sont couvertes par le droit de brevet. Toute réutilisation à des fins de production est en principe constitutive d'un acte de contrefaçon (dès que l'information génétique brevetée s'exprime). Toutefois, pour des motifs attenant au respect des "traditions" agricoles, le privilège de l'agriculteur a été dans un premier temps accueilli au sein du droit des obtentions végétales (Convention UPOV), avant d'être repris et consacré par la Directive 98/44 relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques. Il a été également repris dans le régime communautaire des obtentions végétales.

Aux termes du règlement communautaire, le recours aux semences (ou plants) de ferme n'est autorisé que pour quatre types de plantes : les plantes fourragères, les céréales, les pommes de terre et les plantes oléagineuses ou à fibres. Les autres secteurs tels que l'horticulture en sont exclus. L'article 14.3 du règlement prévoit également le paiement d'une rémunération au profit de l'obteneur dont le taux est sensiblement inférieur à celui prévu dans les licences de production. Il est notamment question de verser une redevance "équitable". Pour les plus petites exploitations (répondant à certains critères "quantitatifs", tels que la taille de l'exploitation), la rémunération n'est pas due.

---

<sup>37</sup> Article L. 613-15-1 du CPI : "*Lorsqu'un obtenteur ne peut obtenir ou exploiter un droit d'obtention végétale sans porter atteinte à un brevet antérieur, il peut demander la concession d'une licence de ce brevet dans la mesure où cette licence est nécessaire pour l'exploitation de la variété végétale à protéger et pour autant que la variété constitue à l'égard de l'invention revendiquée dans ce brevet un progrès technique important et présente un intérêt économique considérable. Lorsqu'une telle licence est accordée, le titulaire du brevet obtient à des conditions équitables, sur demande présentée au tribunal, la concession d'une licence réciproque pour utiliser la variété protégée*".

Au sein du droit français des obtentions végétales, la France a longtemps constitué une "exception" en la matière. En effet, la première Convention UPOV de 1961 conférait aux obtenteurs une protection "limitée", cantonnant la contrefaçon à tous les actes de production à des fins d'écoulement commercial. L'expression "à des fins d'écoulement commercial" n'englobait donc pas la production de semences à des fins de réensemencement pour les besoins de sa propre exploitation (semences de ferme). A l'occasion de l'adoption de la loi du 11 juin 1970 relative à la protection des obtentions végétales, le législateur français avait pris le soin d'exclure l'expression susvisée. En conséquence, l'article L. 623-4 du CPI conférait au titulaire du COV "le droit exclusif à produire, à introduire sur le territoire (...), à vendre (...), la variété protégée". Il en résultait que toute forme de production lui était réservée, même à fin de réensemencement des parcelles exploitées<sup>38</sup> (Anvar, 2008).

La Convention UPOV de 1991 encadre strictement l'exercice du privilège de l'agriculteur, et un projet de loi vient d'être adopté par le Sénat le 8 juillet 2011, et par l'Assemblée le 28 novembre 2011, visant à l'introduire en droit français. Aux termes des motifs de ce projet de loi et en conformité avec le droit communautaire, la pratique des semences de ferme est autorisée sous réserve d'un paiement effectué par les agriculteurs bénéficiaires aux titulaires des droits sur les variétés concernées. L'article 14 du projet de loi prévoit notamment que les agriculteurs peuvent recourir aux semences de ferme moyennant le paiement d'une indemnité aux titulaires des COV. Les modalités de fixation du montant des redevances dues seront établies par un décret pris en Conseil d'Etat. Laurence Boy (2008) en conclut que la matière du "privilège de l'agriculteur" est d'une complexité aujourd'hui rarement égalée.

**Tableau 5-4.** Principales différences entre le régime du brevet d'invention et le régime du COV

|                                 | Brevet (de produit)  | COV  |
|---------------------------------|--|--|
| <b>Objet</b>                    | <b>Une invention</b> soit une solution technique à un problème technique qui prendra la forme d'une information génétique fonctionnelle dont l'expression est maîtrisée par le breveté.  | <b>Une variété végétale</b> créée ou "découverte" ❶ correspondant à un génotype partagé par un ensemble de plantes.  |
| <b>Durée de la protection</b>   | 20 ans   | De 25 à 30 ans   |
| <b>Critères de protection</b>   | L'invention doit être nouvelle, inventive, susceptible d'application industrielle et suffisamment décrite pour que l'homme du métier puisse la reproduire.   | La variété végétale doit être nouvelle et remplir les critères D.H.S.  |
| <b>Etendue de la protection</b> | Le produit revendiqué, à savoir un corps déterminé (gène, cellule, plante), est protégé en soi. Tous procédés d'obtention et toutes nouvelles applications du produit (même inconnues, sauf en présence d'une séquence d'ADN d'origine humaine) sont couvertes par le monopole reconnu au breveté.<br><br>Limites :<br>- Exemption en faveur de la recherche (fondamentale, scientifique)<br>- Privilège de l'agriculteur<br><br>Conclusion : la règle de principe est celle de la <u>dépendance</u> dès lors que l'invention est exploitée par un tiers sous quelque forme que ce soit. | L'obtenteur est titulaire d'un droit d'exclusion quant à la production, l'introduction sur le territoire, la vente de tout ou partie de la plante. De la même manière, une variété essentiellement dérivée (VED) de la variété protégée est dépendante du COV initial<br><br>Limites :<br>- Exemption en faveur de la recherche fondamentale<br>- <u>Privilège de l'obtenteur</u><br>- Privilège de l'agriculteur<br><br>Conclusion : la règle de principe est celle de l' <u>indépendance</u> entre deux obtentions végétales dès lors qu'il existe une distance variétale suffisamment importante entre elles (sauf hypothèse de VED). |
| <b>Licences obligatoires</b>    | Des mécanismes de licences obligatoires sous conditions sont prévus par le Code de la propriété intellectuelle :<br>- entre obtenteur et inventeur<br>- entre deux inventeurs  | Des mécanismes de licences obligatoires sous conditions sont prévus par le Code de la propriété intellectuelle :<br>- entre obtenteur et inventeur<br>- entre deux obtenteurs (hypothèse d'une VED) ❷  |

❶ Aux termes du projet de loi adopté par le Sénat le 8 juillet 2011 relatif aux certificats d'obtention végétale, il est question d'interdire l'attribution d'un COV par le seul fait de s'être approprié une ressource génétique naturelle qui serait restée jusqu'à présent inexploitée. Ainsi, la découverte d'une variété végétale nouvelle ne peut ouvrir droit à un COV.

❷ Article 29 du règlement (CE) n° 2100/94 du 27 juillet 1994 instituant un régime de protection communautaire des obtentions végétales. Un tel mécanisme n'existe pas en droit français. Toutefois, un projet de loi voté par le Sénat prévoit d'introduire cette notion dans le Code de la propriété intellectuelle.

<sup>38</sup> Jusqu'il y a peu, en France, l'agriculteur qui se procure des semences protégées par COV n'était pas autorisé à réensemencer ses champs avec le produit de sa récolte sauf accord interprofessionnel signé entre les agriculteurs et certains obtenteurs : ainsi, en France, le privilège de l'agriculteur n'existait que pour les variétés de blé tendre au travers d'un accord interprofessionnel dénommé "Contribution Volontaire Obligatoire". Aux termes de cet accord, un prélèvement est fait sur les produits de récolte vendus, équivalent à la moitié des redevances appliquées aux semences certifiées.

**En résumé,** Le Tableau 5-5 applique au cas des VTH les types de protection intellectuelle que ces variétés peuvent éventuellement cumuler selon qu'elles sont obtenues par des méthodes de sélection "traditionnelles", par mutagenèse ou par transgenèse. Ainsi, une plante TH peut dans certains cas être protégée en Europe à la fois par COV et par brevet, à condition que le génotype revendiqué par l'obteneur remplisse les critères DHS et que la séquence d'ADN codant le trait TH soit exprimée par la plante. En pratique, si la quasi-totalité des variétés sont en Europe protégées par COV, le trait TH ne fait donc pas systématiquement l'objet d'un brevet.

**Tableau 5-5.** Voies de protection possibles des VTH et de l'information génétique TH selon le mode d'obtention du trait

| Objet de la protection                   |  | protection de la VTH<br>(Génotype) | protection de l'information génétique<br>TH<br>(Gène)                                 |
|--|--|------------------------------------|---|
| "types" de plante TH                     | mode d'obtention   |                                    |   |
| Inclusion dans le champ de la 2001/18/CE |  |                                    |   |
| Non                                      | introgression d'une mutation spontanée par croisements et sélection (sélection variétale classique)<br><i>ex. Maïs DUO System®, Tournesol Clearfield®...</i> | Pays européens : COV               | Pays européens :<br>- brevet de produit possible *                                    |
|  | techniques actuelles de mutagenèse<br><i>ex. Tournesol Express Sun®, Colza Clearfield®...</i>  |                                    | Pays européens :<br>- brevet de produit possible *<br>- brevet de procédé possible ** |
| Oui                                      | techniques actuelles de transgenèse<br><i>ex. RR®, LL®</i>   |                                    |   |

\* si la séquence d'ADN et sa fonction sont précisément isolées et identifiées pour la première fois (connaissance qui n'était jamais tombée dans le domaine public)

\*\* si le procédé est nouveau, applicable à d'autres variétés et reproductible par l'Homme du métier

Le tableau 5-6 récapitule les dispositions prévues par le COV et le brevet en termes de limitations au monopole de leur titulaire.

**Tableau 5-6.** Limitations au monopole octroyé par un brevet ou un COV

|                                     | COV (convention UPOV)  | Brevet (directive 98/44/CE)  |
|-------------------------------------|--|--|
| Exemption en faveur de la recherche | Prévue aux échelles communautaire et nationale                       |  |
| Privilege de l'agriculteur          | Prévu à l'échelle communautaire (règlement communautaire 1994)       | Prévu à l'échelle communautaire et nationale   |
| Privilege de l'obteneur             | Prévu à l'échelle communautaire pour les nouvelles variétés hors VED | Non prévu à l'échelle communautaire<br><b>En France</b> : la transcription de la directive autorise la commercialisation libre de droits de la nouvelle variété si l'élément breveté n'est pas exprimé par la plante |

De ces différences de régime découle la distinction pratique suivante :

- Un obteneur a toujours la possibilité d'utiliser une variété végétale protégée par COV afin de développer une nouvelle variété libre d'exploitation.
- Un obteneur a toujours la possibilité d'utiliser une variété végétale protégée par COV et incorporant un gène TH breveté à des fins de sélection variétale. Néanmoins, il ne pourra pas commercialiser la nouvelle variété sans l'accord du titulaire du brevet si le gène d'intérêt y est toujours actif.
- Pour pallier ces possibles hypothèses de "blocage" entre obteneur et inventeur, la directive 98/44 a institué un système de licences croisées obligatoires délivrées par la voie judiciaire.

Ainsi, pour les variétés protégées à la fois par COV et par brevet, seuls l'exemption en faveur de la recherche et



le privilège de l'agriculteur sont prévus par la législation européenne. En France, bien qu'elle soit tolérée dans les faits, l'utilisation des semences de ferme est explicitement interdite par la loi en matière de COV. Le projet de loi du 8 juillet 2011 (actuellement voté uniquement par le Sénat) prévoit de modifier les dispositions du CPI en faveur du privilège de l'agriculteur. Ce privilège est par ailleurs prévu en droit français des brevets depuis la transposition de la directive 98/44/CE.

On pourrait résumer les différences de régime qui opposent brevet et COV de la manière suivante : la règle de principe en droit des brevets est celle de la dépendance dès lors que l'invention est exploitée par un tiers sous quelque forme que ce soit ; la règle de principe en droit des obtentions végétales est celle de l'indépendance entre deux obtentions végétales dès lors qu'il existe une distance variétale suffisamment importante entre les deux.

Les règles et principes de la protection des innovations variétales diffèrent selon les régions du monde considérées. En effet, aux Etats-Unis, les obtenteurs ont la possibilité de protéger leurs innovations variétales soit par brevet soit par une protection de type UPOV (la possibilité de choisir entre l'une ou l'autre de ces alternatives dépend des espèces végétales considérées). Contrairement à la protection de type UPOV, le système de brevet américain ne prévoit ni privilège de l'obteneur, ni privilège de l'agriculteur ; ces différences d'étendue des monopoles conférés ont incité les obtenteurs à choisir massivement la protection par brevet.

## 5.2. Coexistence des filières et responsabilité : éclairages économique et juridique

Cette seconde partie du chapitre traite de la problématique de la coexistence abordée tant du point de vue économique que du point de vue des éléments de droit qui l'encadrent. Dans un premier temps, une analyse des travaux économiques ayant trait aux exigences de la coexistence et à leur mode de gestion est proposée. Cette gestion apparaîtra comme très sensible aux options réglementaires qui ont été choisies. Celles-ci laissent généralement le coût des mesures de coexistence à la charge de l'agriculteur développant la nouvelle variété OGM et précisent les attentes en matière de contrôle de la dissémination. L'étude de ce cadre juridique sera ainsi proposée dans un deuxième temps.

### 5.2.1. Coût de la coexistence entre variétés

*François Coleno*

Les VTH sont aujourd'hui contestées, comme en témoigne les récentes prises de positions de syndicats agricoles (confédération paysanne, 12/04/2010<sup>39</sup>) des faucheurs volontaires ou des associations de vigilance face aux biotechnologies (infogm.org). A l'inverse ces variétés présentent un intérêt pour les agriculteurs, en permettant d'une part une simplification du travail et en laissant espérer de meilleurs rendements, du fait d'un désherbage facilité et plus efficace (section 5.1.1.). Certaines de ces VTH sont en outre obtenues *via* des techniques de modifications du génome et sont alors soumises aux exigences de la coexistence sur le territoire européen. Dans une telle situation, le débat autour des VTH peut déboucher sur l'émergence de deux marchés distincts. Assurer une telle différenciation des variétés (et des produits qui en sont issus) nécessite de veiller à l'absence de mélange à plusieurs stades de la production et de la transformation. Au niveau de la production agricole, ces étapes concernent la production de semence, l'isolement des parcelles en vue d'éviter des transferts de gènes d'une parcelle à l'autre, le regroupement des productions agricoles par les organismes stockeurs (Meynard et Le Bail, 2001). Au niveau de la transformation, les points critiques sont liés au transport et au stockage des lots de produits, du fait d'une nécessité de nettoyage importante (Wilson et al., 2008a) et aux lignes de production des opérateurs (Scipioni et al., 2005). Plusieurs raisons expliquent ce dernier point. L'origine du produit livré peut être sujette à caution, il peut y avoir des erreurs d'analyses sur le lot en sortie du fournisseur ou bien l'agrégation de lots différents peut engendrer une augmentation du taux de présence fortuite. La mise en place de mesures permettant de limiter les mélanges et les "contaminations" entraîne des surcoûts dans les différentes étapes de production et de transformation. Ces surcoûts peuvent affecter le choix des acteurs d'avoir recours ou non à ces innovations. Ces surcoûts ont en particulier été étudiés dans le cadre de la coexistence OGM / non-OGM qui constitue en quelque sorte un cas d'école. C'est donc cette question de l'intérêt économique de la coexistence que nous proposons d'aborder ici, tant du point de vue de ses impacts sur les agriculteurs que sur les acteurs situés en aval de ceux-ci.

L'analyse bibliographique que nous avons réalisée est fortement centrée sur les plantes génétiquement modifiées. Même si, et c'est là le paradoxe, une telle coexistence n'a pas été mise en place actuellement en France et très peu en Europe. L'ensemble des travaux que nous avons donc mobilisé porte sur des travaux de modélisation à but analytique et explicatif. Une part non négligeable de ces travaux est issue des deux programmes de recherche européens SIGMEA (Sustainable Introduction of GMO in European Agriculture) et COEXTRA (GM and non GM supply chains : thier CO-Existence and TRAcability). Ces travaux traitent pour partie du problème de l'intérêt même de l'utilisation d'une technologie GM dans le cadre de la coexistence, que ce soit pour les consommateurs ou les acteurs des filières. Il s'agit en effet de savoir si les gains économiques liés à l'utilisation de cette technologie ne sont pas annulés, en partie, totalement, voire au-delà, par les surcoûts engendrés par la coexistence.

---

<sup>39</sup> [http://www.confederationpaysanne.fr/plantes-mutees-resistant-herbicide-risques-ge\\_23.php&actualite\\_id=1623](http://www.confederationpaysanne.fr/plantes-mutees-resistant-herbicide-risques-ge_23.php&actualite_id=1623)

La seconde thématique que nous traiterons concerne la mise en place de mesures d'isolement au champ. En effet, alors que les législations européennes proposent des modalités relativement rigides fondées sur la mise en place de distances d'isolement par les agriculteurs utilisant la technologie GM, d'autres modalités, plus souples, peuvent être envisagées, reposant sur des zones tampons (c'est-à-dire des pièges à pollen constitués de quelques rangs de cultures non GM). Ces zones tampons peuvent être à la charge de l'agriculteur GM ou de l'agriculteur non-GM qui dans ce cas reçoit une compensation. Une autre modalité de gestion envisagée repose sur des ententes entre agriculteurs ou entre les agriculteurs et les autres opérateurs agricoles (comme les coopératives agricoles, par exemple) sur le territoire afin de regrouper les cultures TH et de les éloigner des cultures conventionnelles.

Enfin, la dernière thématique que nous aborderons porte sur les coûts de la coexistence au sein des chaînes d'approvisionnement, c'est-à-dire en aval de la production agricole.

### **5.2.1.1. L'intérêt de la coexistence pour les différentes catégories d'acteurs et l'impact sur l'utilisation des technologies**

#### **5.2.1.1.1. L'impact de la coexistence sur le "bien-être" des différents acteurs**

L'analyse du bénéfice de la coexistence pour les différents acteurs repose sur l'utilisation de modélisations économiques. Trois auteurs au moins ont abordé cette question via des modélisations qui représentent les différents acteurs impliqués, depuis les agriculteurs jusqu'aux consommateurs. Selon les publications, plusieurs biens sont identifiés (OGM et non-OGM dans certains cas et OGM, non-OGM et bio dans d'autres).

Dans leur publication, Wilson et al (2008b) considèrent un marché composé de deux biens, du blé RoundUp® Ready et du blé non-GM IP (*Identity Preservation*). Ils se situent sur un marché nord-américain où les coûts liés à la coexistence sont donc supportés par les agriculteurs et les producteurs non-GM. Le modèle développé est un modèle d'équilibre partiel avec une différenciation verticale (un produit est toujours plus cher que l'autre) qui prend en compte les coûts de transport entre les pays. Les résultats de cette modélisation montrent que les consommateurs appartenant à des pays ne pratiquant pas de restriction sur l'utilisation de la technologie OGM voient les prix des protéines de blé diminuer. En outre, les agriculteurs américains ayant recours à cette technologie voient eux aussi leur bien-être (c'est-à-dire leurs gains) augmenter.

Desquilbet et Bullock (2009) considèrent eux aussi le marché américain de l'*Identity Preservation*. Comme Wilson et al (2008b), ils prennent en compte les producteurs (notion qui agrègent les agriculteurs et les premiers transformateurs) et les consommateurs. Toutefois, alors que Wilson et al. (2008b) considèrent que les producteurs IP supportent les coûts de la coexistence, Desquilbet et Bullock considèrent l'existence de coûts supportés par les producteurs GM (du fait d'une perte de flexibilité de la totalité de la filière) et considèrent deux types de consommateurs : ceux pour qui l'OGM est parfaitement substituable au non-OGM et ceux qui ne peuvent envisager de consommer des OGM. Le pourcentage de ces deux types de consommateurs est supposé variable. Dès lors, les auteurs mettent en évidence l'existence de plusieurs équilibres selon la part relative de chaque type de consommateurs et selon le niveau des coûts indirects liés à la coexistence. En l'absence de consommateurs ayant une préférence pour l'IP, cette filière n'apparaît pas et on assiste à une généralisation des cultures OGM. Néanmoins, même en présence de tels consommateurs, une filière IP n'apparaît pas forcément. Ainsi, si les coûts indirects (supportés par les deux filières) sont faibles et les coûts directs liés à la production IP sont trop importants cette filière n'apparaît pas, quelle que soit la proportion de consommateurs qui ne souhaitent pas consommer d'OGM. Dans le cas contraire, s'il y a suffisamment de consommateurs opposés aux OGM, l'existence même d'une filière OGM est compromise. Comme on le voit, il existe de multiples situations qu'il est difficile de prédire.

Moschini et al. (2005) se placent dans le contexte européen de coexistence. Ils considèrent un marché à trois biens : OGM, non-OGM et un bien de haute qualité (qui peut être considéré comme du bio). Le modèle proposé considère donc à la fois une distinction verticale (c'est-à-dire par les prix entre les OGM et les non-OGM) et horizontale entre non-OGM et bio (c'est-à-dire qu'une partie des consommateurs aura une préférence pour le bio). À l'équilibre, ce modèle montre un bénéfice négatif à l'introduction des OGM dans le cadre de la coexistence, compte tenu des coûts supportés tant par les producteurs GM que non-GM. Seuls les agriculteurs

bio pourraient avoir un bénéfice à cette introduction. Cette dernière conclusion dépendra toutefois des coûts réels de ségrégation et de coexistence, en particulier pour une labellisation à 0% d'OGM.

#### **5.2.1.1.2. L'impact des règles de coexistence sur l'adoption des technologies par les agriculteurs**

Peu d'articles traitent explicitement des conséquences des règles de coexistences entre produits GM et non-GM sur l'adoption de cette innovation. Or ces règles sont extrêmement sensibles car, outre les modalités de la mise en œuvre de la coexistence, elles définissent la partie qui en supportera le coût. Celles-ci sont toutefois analysées dans deux environnements socio-économiques différents, la France d'une part par Demont et al. (2008) et les PVD (en l'occurrence le Kenya) d'autre part par Tumusiime et al. (2010). En France, Demont et al. (2008) mettent en évidence un "effet domino" lié aux règles qui font peser le coût de la coexistence sur le cultivateur d'OGM. Ainsi, un agriculteur souhaitant cultiver du colza GM optera finalement pour du colza conventionnel du fait de la présence de colza conventionnel dans un voisinage proche. En effet, le voisinage d'un colza conventionnel l'oblige à mettre en place une distance d'isolement. Si cela lui est impossible ou trop coûteux, il optera pour un colza conventionnel, ce qui aura des conséquences sur le choix de ses autres voisins. A titre d'exemple, Demont et al. présentent une simulation sur un paysage réel du centre de la France, avec au départ 50% d'OGM. En fin de simulation cette proportion tombe à 17%. Au Kenya, Tumusiime et al (2010) quant à eux s'intéressent au coût de la coexistence supporté par les agriculteurs GM. Leurs travaux mêlant enquête et modélisations les conduisent à conclure que le coût de la coexistence serait supérieur aux gains espérés de la technologie GM. La mise en place de règles de coexistence constitue donc un frein à l'adoption de ces innovations.

#### **5.2.1.2. La mise en place de la coexistence sur le territoire**

##### **5.2.1.2.1. Les différentes modalités d'organisation de la coexistence au champ**

Si l'on considère uniquement l'organisation de la coexistence à l'échelle de la parcelle agricole et les interactions avec les parcelles voisines, deux options sont envisagées. La première, majoritairement retenue par le législateur européen, vise à proposer des mesures de gestion individuelles reposant sur des distances d'isolement fixes. Desquilbet et Bullock (2010) considèrent que de telles mesures permettent de prendre en compte les phénomènes agronomiques liés à chaque espèce, et ainsi de garantir au consommateur un libre choix entre produits avec ou sans OGM. La seconde option consiste à mettre en place des zones tampons de cultures non-OGM soit autour des parcelles OGM, soit autour des parcelles non-OGM. Ces zones permettent de capturer le pollen OGM et réduisent ainsi les risques de pollinisation croisée.

Les mesures de distances d'isolement sont fortement rigides et pourraient pénaliser les agriculteurs souhaitant utiliser des semences GM, comme nous l'avons montré plus haut à travers les travaux de Demont et al. (2008). En outre, ces mesures diffèrent par pays et sont donc plus le reflet de choix politiques que de choix économiques ou scientifiques (Devos et al., 2009). Ainsi, pour la culture du maïs, la distance d'isolement est de 25 m en Suède et de 800 m au Luxembourg (Devos et al., 2008).

Les mesures de coexistence reposant sur des zones tampons sont envisagées par Demont et Devos (Devos *et al.*, 2007; Demont *et al.*, 2008; Demont and Devos, 2008; Devos *et al.*, 2008; Demont *et al.*, 2009; Devos *et al.*, 2009; Demont *et al.*, 2010a; Demont *et al.*, 2010b). Ces zones tampons peuvent se situer autour des parcelles OGM ou autour des parcelles conventionnelles. Cette dernière hypothèse serait permise par l'instauration d'un marché de la zone tampon : les agriculteurs GM pouvant indemniser les agriculteurs conventionnels acceptant de mettre en place de telles zones autour de leurs parcelles. Une telle solution permettrait une gestion locale de la coexistence et constituerait un frein moins important à l'adoption des technologies GM.

Néanmoins, les travaux qui analysent la mise en place de la coexistence dans la pratique ne mentionnent pas les critiques adressées par Devos et Demont, et mettent en avant des phénomènes d'auto-organisation au niveau local. Ainsi, Consmuller et al. (2009) et Skevas et al. (2010) montrent que dans les cas, respectivement, de l'Allemagne et du Portugal, les mesures de coexistence *a priori*, comme la mise en place de distance d'isolement, ont un coût faible voire nul. En effet, les agriculteurs ont soit eu tendance à planter les OGM au cœur de leurs exploitations et proches de parcelles d'autres cultures (Consmuller *et al.*, 2009) ou bien au contraire au voisinage d'autres parcelles GM appartenant à d'autres agriculteurs avec lesquels ils se sont coordonnés (Skevas *et al.*,

2010). Les mesures de coexistence sont dès lors inutiles. On voit ici apparaître deux logiques de gestion de la coexistence, l'une individuelle, pratiquée par des agriculteurs ayant des surfaces importantes et regroupées, et l'autre collective, reposant sur des coordinations entre agriculteurs se connaissant par ailleurs.

#### **5.2.1.2.2. Comment construire des zones de cultures homogènes ?**

Les mesures de coexistence évoquées plus haut reposent uniquement sur une gestion à la parcelle. Quelques auteurs soulignent toutefois la difficulté à mettre en œuvre de telles solutions (Munro, 2008) et le risque que ces solutions soient insuffisantes pour satisfaire le consommateur du fait de risques de pollinisation croisée. Le recours à des solutions collectives, comme celles évoquées plus haut, permettant d'établir des îlots de productions GM ou non-GM de grande taille, est envisagé par certains auteurs qui proposent différentes formes d'organisation possible. Ainsi, Furtan et al. (2007) démontrent à l'aide d'un travail de modélisation l'intérêt pour des agriculteurs bio de se regrouper en club de producteurs voisins pour établir une zone "protégée de grande taille". Les parcelles aux frontières de cette zone jouent le rôle de tampon, protégeant ainsi les parcelles au cœur de la zone. En outre, Furtan et al. (2007) proposent des mécanismes de compensation permettant aux agriculteurs au centre de la zone d'indemniser les pertes subies par les agriculteurs situés à la frontière et liées à la pollinisation de leurs parcelles par des parcelles GM. Cette solution permet à l'ensemble des agriculteurs membres du club d'augmenter leurs gains.

Une autre solution proposée par Coléno et al. (2009) vise à faire gérer l'organisation du territoire par les entreprises clientes des agriculteurs. Celles-ci, via des politiques de prix différenciées zonées et de contractualisation des agriculteurs, seraient en mesure d'influer sur les choix variétaux des agriculteurs. Dès lors se constituent autour des silos des zones de production homogènes. L'utilisation d'un modèle de calcul de flux de gènes permet de montrer qu'une telle politique abaisse fortement le taux de "contamination" des parcelles non GM.

Dans les deux cas, la mise en place de ces formes d'organisation induit des coûts de transactions entre agriculteurs ou entre entreprise de collecte et agriculteurs. Ces coûts de transaction ne sont envisagés par aucun des auteurs.

#### **5.2.1.3. Les conséquences et l'organisation de la coexistence dans les chaînes d'approvisionnement**

##### **5.2.1.3.1 Les coûts de la coexistence dans les supply chains**

La coexistence ne consiste pas uniquement à assurer un isolement des productions pour limiter les flux de gènes. Il s'agit aussi d'assurer la séparation des produits GM et non GM dans l'ensemble dans la chaîne d'approvisionnement. Assurer une telle séparation repose sur la mise en place de deux flux séparés et sur une stratégie de test permettant d'identifier les lots ayant pu être mélangés. L'utilisation de ces tests étant très coûteuse, il convient de les positionner à des endroits stratégiques dans la chaîne. Wilson et al. (2007) ont étudié comment positionner les tests dans la chaîne en utilisant une modélisation stochastique pour le cas des exportations de blé (GM et non-GM) des USA. Ils déterminent ainsi des stratégies de test optimales pour s'assurer de la pureté des lots non GM en fonction de différents taux de pureté envisagés. Selon l'aversion au risque des acheteurs, les stratégies de test, et donc les coûts de produits non-GM, seront plus au moins importants. Ainsi lorsqu'il s'agit d'exporter du blé des USA vers l'Europe, les auteurs considèrent que l'aversion au risque des importateurs est forte, ce qui n'est pas le cas pour des exportations vers des pays ayant une tolérance de 5% de mélanges fortuits. Dans tous les cas, tous les lots sont testés en sortie de silos et lors du chargement des bateaux. En outre, dans les cas où l'aversion au risque est importante, c'est-à-dire où le taux de présence fortuite est faible (cas des exportations à destination de l'Europe), il est nécessaire d'ajouter un test lors de la collecte des récoltes.

D'autres travaux se sont centrés sur l'analyse des coûts liés à l'importation de soja GM en Europe et plus particulièrement en Belgique. Gryson et al. (2009) a ainsi réalisé des enquêtes auprès des différents opérateurs de la filière. Ceci lui a permis de mettre en évidence une stratégie basée sur l'isolement spatial des lots OGM et non-OGM lors des phases de transport et de stockage, et sur l'isolement temporel dans les usines de traitements en dédiant des périodes de temps à l'un puis à l'autre des flux. Il s'agit là de la stratégie la moins coûteuse

puisqu'elle permet de raisonner à infrastructure constante, ce qui pourrait ne pas être le cas si l'on devait spécialiser des usines.

Dans tous les cas, le point crucial pour éviter au mieux les mélanges entre produits GM et produits non GM est celui de la première transformation, c'est-à-dire la collecte. C'est en effet à ce niveau que sont agrégées les récoltes dans un temps plus court que celui nécessaire pour obtenir les résultats de test (Coléno, 2008).

#### **5.2.1.3.2 Le passage de l'agriculteur à la filière comme un point clé**

Plusieurs stratégies permettent d'assurer l'agrégation des récoltes par les opérateurs aval que sont en France les négociants ou les coopératives. Ainsi, Barber et al. (2008) identifient quatre modalités possibles :

- une séparation temporelle dans des infrastructures communes mais utilisées à des moments différents, avec nettoyage lors du changement de produit ;
- une séparation spatiale dans des infrastructures dédiées. Les silos de collecte pouvant dès lors être plus éloignés des exploitations ;
- un stockage et une manutention assurés par les agriculteurs jusqu'aux exportateurs ;
- un stockage assuré en container directement en sortie de parcelle, cette dernière solution n'étant possible que pour des productions ne nécessitant pas de première transformation, comme le maïs.

Ces modalités sont ensuite évaluées par enquête auprès d'agriculteurs canadiens produisant du colza IP. Les deux dernières solutions sont jugées impossibles par les agriculteurs, à la fois pour des raisons d'investissement et d'organisation. Ils privilégient donc les deux premières, qui impliquent les entreprises de collecte. Dans le cas de la séparation spatiale, les agriculteurs seraient disposés à parcourir une distance supérieure (de l'ordre de 30 miles) contre une prime de 2 \$ canadien.

Les conséquences de ces deux options sont analysées dans le cas du maïs en France par Coléno (2008) en utilisant un modèle de simulation de la collecte. Ce modèle simule la collecte de 150 000 t de maïs avec trois hypothèses de répartition OGM / non-OGM (50, 66 et 75% d'OGM). Si la séparation spatiale des deux chaînes de collecte permet de minimiser les mélanges entre lots (au plus 10% des non-OGM sont mélangés), c'est au détriment des coûts de collecte qui augmentent fortement. Les coûts de transport en particulier peuvent augmenter de 400% par rapport à une situation où un seul produit est collecté (cas de la situation actuelle). A l'inverse, la séparation dans le temps des deux flux est, certes, moins efficace pour éviter les mélanges (la proportion de non-OGM mélangé variant entre 28 et 0,5%) mais n'occasionne aucune augmentation des coûts de transport. Dans les deux cas, le nettoyage est assuré par un déclassement d'un lot non-OGM en OGM.

Il y a du coup un arbitrage à construire par les opérateurs entre augmentation des coûts ou pertes de lots non-GM.

#### **5.2.1.5. Conclusion**

La mise en place de la coexistence repose sur l'idée du libre choix du consommateur entre des produits issus de la transformation d'OGM ou non. Si la question des coûts de la coexistence a été fortement étudiée ces dernières années, notamment au travers des programmes de recherche européens SIGMEA et COEXTRA, celle de la création de valeur permise par ces innovations a été laissée de côté. De manière plus générale, les débats sur l'innovation OGM, mais aussi, de manière plus générale sur les VTH, sont focalisés soit sur une réduction des coûts pour l'agriculteur, comme en témoigne l'analyse spécifique faite dans ce rapport sur l'impact au niveau des exploitations agricoles ; soit par une augmentation des coûts liés à la coexistence. Néanmoins, la création d'un marché permettant d'engager les filières dans la mise en place d'une ségrégation coûteuse ne peut s'envisager que dans le cas d'une création de valeur permettant d'absorber et de justifier ces coûts. Ainsi, les cas étudiés par Meynard et Le Bail (2001), et sur lesquels bien des extrapolations ont été construites, portent sur le maïs waxy et sur le colza érucique. Dans les deux cas, la séparation des deux produits apporte un plus sur le marché, permettant de créer une valeur supérieure aux coûts de gestion de la coexistence. Tel n'est pas le cas, à l'heure actuelle du moins, pour les variétés tolérantes aux herbicides, qu'elles soient issues d'OGM ou non.

## 5.2.2. L'analyse juridique de la traçabilité, de la responsabilité et de l'étiquetage

*Mai Anh Ngo*

Le droit n'envisage pas spécifiquement les variétés tolérantes aux herbicides. A ce titre, aucun régime juridique n'encadre les VTH en tant que telles. L'article 3 de la directive 2001 /18 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement définit expressément le champ d'application du texte en renvoyant à l'annexe IB qui affirme que la mutagenèse est exclue du champ d'application de la directive (European Community 2001 - voir Annexe 3 du rapport, et Hermitte et al 2009). Il convient de trouver un angle d'analyse, en l'absence de réglementation spécifique aux VTH. La grille de lecture pertinente semble être la distinction entre produits OGM et produits non-OGM. En effet, il existe un « droit des OGM », comme le souligne Raphael Romi (Romi 2000)

Ainsi dans notre analyse, il faudra distinguer les VTH obtenues par transgenèse, qui seront soumises au régime des OGM, et toutes les autres VTH pour lesquelles il n'existe pas de régime spécifique.

Il est à souligner que ce choix de considérer la mutagenèse comme étant une technique exclue du champ d'application du régime spécifique appliqué aux OGM fait actuellement l'objet d'interrogations. Marie Angèle Hermitte, Christine Noiville et Estelle Brosset mettent en lumière l'acuité de cette question dans une étude au Juris classeur. Elles soulignent que "la question de l'application du régime juridique "OGM" à la technique dite de mutagenèse dirigée reste à certains égards obscure".

"Alors que la biologie synthétique constitue sans doute la technique la plus aléatoire de toutes, elle ne relève pas clairement du champ d'application de ce texte (OGM) car elle n'implique pas d'insertion à l'intérieur d'un organisme hôte".

Ces auteurs en concluent que le droit "devra être rapidement adaptée d'une manière ou d'une autre à ces évolutions" (Hermitte et al 2009)

Dans le contexte de coexistence décrit, l'analyse juridique des VTH nous conduit à étudier trois questions essentielles : la traçabilité (1), la responsabilité (2) et l'étiquetage (3). Pour permettre une meilleure compréhension du corpus analysé, ces thématiques seront envisagées successivement, même si elles sont étroitement liées.

La constitution du corpus de référence pour cette expertise en droit a été réalisée de manière spécifique. En effet, les bases de données habituellement utilisées pour les expertises n'étaient pas pertinentes. S'il existait des références à des termes ou à des concepts juridiques, l'analyse proposée n'était pas juridique. Il a par conséquent fallu orienter les recherches vers des bases de données essentiellement juridiques. Les chercheurs ont eux-mêmes constitués le corpus bibliographique à partir des bases de données dont ils disposaient, soit les bases suivantes : Dalloz, Doctrinal Plus, JurisClasseur Nexis Lexis, Lamyline, Lextenso, Cairns et Envirolex. Celles-ci répertorient plus de 720 revues. Ces revues sont essentiellement francophones, mais concernent aussi bien le droit français, le droit communautaire, le droit international et dans une moindre mesure le droit comparé.

Toujours en ce qui concerne la méthodologie, il convient d'expliquer que les études n'ont pas pu être développées en droit comparé. Ceci nécessite en effet non seulement la connaissance du droit du pays du domaine en question, mais également l'architecture générale du droit du pays en cause. Or une telle connaissance ne peut pas s'acquérir à la lecture de quelques articles de revues. Un texte doit toujours être interprété, en fonction de son environnement et dans le contexte global dans lequel il s'insère. Un tel exercice n'est faisable qu'après des études de droit comparé approfondi ou en relation avec des juristes des pays concernés. Cependant ce biais de recherche, est atténué par le fait que dans le domaine en question le droit est au moins communautaire, sinon international, et que les spécificités nationales sont limitées, voire inexistantes.

### 5.2.2.1. La traçabilité

La question de la traçabilité sera étudiée en droit de l'Union européenne et au niveau du droit français.

La traçabilité dans le domaine agroalimentaire est devenue une obligation générale. Le principe est affirmé par le règlement 178/2002. En matière d'OGM, cette obligation est reprise spécifiquement par la directive 2001/18 qui pose le principe d'une traçabilité à tous les stades de mise sur le marché le long de la chaîne de production et de

distribution. Ces obligations se retrouvent bien évidemment en droit français, en particulier aux articles L214-1 et L 214-4 du Code de la consommation (Seuovic 2005). Certains textes sont plus spécifiques encore et concernent des secteurs précis, comme c'est le cas pour l'alimentation animale (Soroste, 2009).

Si la traçabilité est une obligation générale, elle a des finalités multiples (Charlier et Valceschini, 2008). Il semble intéressant de distinguer d'une part son rôle en matière d'information et de transparence, et d'autre part son influence en matière d'imputation de la responsabilité.

La traçabilité apparaît comme un outil de transparence, de gestion des risques et d'information du public. Une doctrine abondante explique la façon dont la traçabilité est devenue un outil central en matière de gestion des risques, à la fois dans son aspect de prévention et de précaution (Retterer, 2000 ; Soroste, 2003b ; Friand Perrot, 2004 ; Blumberg Mokri 2002 ; De Brosses, 2003 ; Soroste, 2004 ; Bailly, 2006 ; Jeannin, " 2000. Dans cette variété de publications, un certain nombre d'éléments méritent d'être relevés. Premièrement, quelques articles de la doctrine mettent en avant le fait que la traçabilité n'est en réalité qu'une manifestation d'obligations générales du droit plus anciennes et plus générales, telles que l'obligation de justification (Soroste, 2003a), de sécurité et de suivi (Dupras 2006). Deuxièmement, un article souligne que la traçabilité ne doit pas être forcément synonyme d'étiquetage, et que celle-ci doit exister même en l'absence d'étiquetage<sup>40</sup>. Une telle position s'explique notamment par le rôle essentiel en matière de gestion des risques. Troisièmement, des publications se consacrent exclusivement à la traçabilité dans la perspective du principe de précaution ( Exemple : Hermitte 2007 et Franc, 2003).

La traçabilité comme moyen d'imputation de la responsabilité, et plus précisément comme moyen de preuve, est moins étudiée par la doctrine, mais fait tout de même l'objet d'une littérature (Retterer, 2000 ; Friand Perrot, 2004 ; Favret, 2001, Pedrot, 2003).

L'analyse de ces deux fonctions de la traçabilité permet de mettre en lumière à quel point cette obligation est devenue un concept central dans la mesure où elle rejoint les deux points suivants, à savoir la responsabilité et l'étiquetage.

### **5.2.2.2. La responsabilité**

En ce qui concerne la responsabilité, l'étude choisira également de se placer au niveau de l'Union européenne et au niveau français. Une place plus importante sera laissée au droit français au regard notamment de l'intérêt que présente le régime de responsabilité de plein droit institué par la loi du 25 juin 2008.

Il aurait été possible de traiter classiquement le sujet à partir des distinctions traditionnelles du droit entre responsabilité pénale, civile et administrative. Il est apparu plus intéressant de partir des fonctions de la responsabilité pour comprendre les différents mécanismes de responsabilité pouvant être mis en œuvre et donc d'aborder l'aspect préventif de la responsabilité et l'aspect réparateur. À noter que la responsabilité contractuelle n'est pas traitée, dans la mesure où il aurait été nécessaire dans ce cas d'avoir accès aux différents contrats ayant pour objet les OGM. Suivant cette détermination de notre champ d'expertise, une première sous-partie abordera la fonction préventive de la responsabilité en matière d'OGM (section 5.2.2.2.1) et une seconde examinera la fonction réparatrice dans ce domaine particulier (5.2.2.2.2).

#### **5.2.2.2.1 La fonction préventive de la responsabilité**

Catherine Thibierge, en proposant une responsabilité de l'avenir, décrit un cadre théorique convenant parfaitement au domaine des OGM. Cette responsabilité permet "*une action préventive des risques d'atteintes majeures à un intérêt essentiel de l'humanité*" (Thibierge, 2004). En matière d'OGM, il s'agit bien de protéger des intérêts essentiels de l'humanité, au regard en particulier des incertitudes sanitaires et environnementales que comportent les biotechnologies.

La première responsabilité à envisager est la responsabilité internationale des Etats, en particulier la responsabilité qui peut être invoquée au niveau communautaire pour manquement pour non-transposition du

---

<sup>40</sup> "Mais comprenant du maïs génétiquement modifié : respect de la loyauté des transactions est mis en place d'un autocontrôle obligatoire", *option qualité*, numéro 213, février 2003.



droit communautaire. En l'occurrence, la France a été condamnée pour la non-transposition dans son droit interne des dispositions de la directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil, du 12 mars 2001, relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement.

Toujours sur le plan international, il existe une analyse doctrinale conséquente relative à la question des autorisations de mise sur le marché (AMM) des OGM et de la mise en application des clauses de sauvegarde par les Etats membres. Ces clauses de sauvegarde sont prévues par l'article 23-1 la directive 2001/18 qui permet à un État membre de déroger à l'autorisation communautaire en raison d'informations nouvelles ou complémentaires devenues disponibles après l'autorisation. Cette jurisprudence est analysée par exemple dans l'article de Patrick Thieffry dans la Revue Trimestrielle de Droit Européen de 1999 ou plus récemment par Pascal Trouilly (2001) ou Estelle Brosset (2007).

Il convient de souligner qu'en ce qui concerne la mise en jeu de la responsabilité des Etats, les choses pourraient évoluer. Ceci en particulier sur le point de la répartition des compétences entre l'Union européenne et les Etats membres. Celle-ci est en effet concernée actuellement par une proposition de modification de la directive 2001/18 qui devrait accorder plus de marge de manœuvre aux Etats membres quant aux motifs invoqués pour restreindre la présence de cultures OGM sur leur territoire<sup>41</sup>. L'invocation de ces motifs pourrait cependant entraîner la mise en œuvre de la responsabilité des Etats. Cette proposition de directive a déjà fait l'objet d'une analyse critique de Laurence Boy, qui affirme que la marge de manœuvre des Etats ne sera pas réellement augmentée par ce texte (Boy, 2010). À noter que cette opinion est partagée par la doctrine étrangère<sup>42</sup> et par certains politiques<sup>43</sup>.

En plus de la mise en cause au niveau international, il convient de souligner que la responsabilité de l'État français pourrait peut-être être mise en jeu pour faute lourde, comme évoqué dans le rapport CoExtra (Koch, 2005). Il existe cependant des incertitudes sur le fondement permettant la mise en œuvre de la responsabilité de l'État français, comme l'explique Laurent Verdier dans sa thèse (Verdier, 2003).

Au-delà de la responsabilité des Etats, il serait possible d'envisager de poursuivre directement les organes d'expertise suite à leurs avis (Verdier, 2003). Une telle évolution ne peut être écartée actuellement au regard de la défiance persistante à l'égard de l'expertise. Toutefois, en tant que tel, il paraît difficile d'engager la responsabilité des experts au regard des incertitudes scientifiques demeurant à propos des OGM. Leurs responsabilités pourraient cependant être recherchées en cas de non-respect de la procédure d'expertise ou des obligations d'information très fréquentes en matière d'évaluation des risques.

Les manifestations les plus évidentes d'une fonction préventive de la responsabilité s'expriment à travers les procédures d'autorisation avant toute dissémination volontaire d'OGM à des fins de recherche et de développement et avant toute mise sur le marché d'OGM ou de produits en contenant. Ces procédures existent tant en droit communautaire, qu'en droit interne. Les directives 2009/41 sur l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés et 2001/18 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement posent ce principe d'autorisation<sup>44</sup>. Cette directive a été transposée en droit français, notamment dans l'article R. 162 - 1 du Code de l'environnement qui soumet à autorisation l'utilisation confinée de microorganismes GM ou encore la mise sur le marché et la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement<sup>45</sup>. Il est précisé par Philippe Billet (2009) que la création de la responsabilité environnementale n'exclut pas les autres régimes de responsabilité.

---

<sup>41</sup> Commission européenne, 13 juillet 2010. Voir à ce sujet, revue de droit rural numéro 386, octobre 2010 alerte 115. Rapport du 20 avril 2011 sur la proposition de règlement du Parlement européen et du Conseil modifiant la directive 2001/18/CE en ce qui concerne la possibilité pour les États membres de restreindre ou d'interdire la culture d'OGM sur leur territoire, (COM(2010)0375 – C7-0178/2010 – 2010/0208(COD)), <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?type=REPORT&mode=XML&reference=A7-2011-0170&language=FR#title1>. En attente de la position du Conseil en 1ère lecture / convocation de la conciliation budgétaire

<sup>42</sup> EurActiv « Les Etats pourront interdire les OGM pour des raisons d'ordre public », EurActiv.fr , 08.02.2011, <http://www.euractiv.fr/etats-pourront-interdire-ogm-raisons-ordre-public-article>

<sup>43</sup> "OGM: Lepage veut clarifier la proposition de Bruxelles" EurActiv.fr , 24.01.2011, <http://www.euractiv.fr/ogm-lepage-veut-clarifier-proposition-bruxelles-article>

<sup>44</sup> Directive 2004/35/CE du Parlement européen et du Conseil du 21 avril 2004 sur la responsabilité environnementale en ce qui concerne la prévention et la réparation des dommages environnementaux, JO L 143 du 30.4.2004, p. 56–75

<sup>45</sup> Alerte 115, revue de droit rural, numéro 386, octobre 2010

Cet exemple nous permet en particulier d'illustrer le rapport entre droit de l'Union européenne et droit national. Il convient à présent de s'intéresser à notre droit interne.

En droit français, c'est notamment le Code de l'environnement qui prévoit ces procédures d'autorisation préalable. S'agissant de l'utilisation confinée, il est prévu une autorisation lors de l'installation (article L 515-13 du Code de l'environnement), d'une part et une procédure d'agrément de l'OGM, d'autre part (articles L.531-2-1s du Code de l'environnement). S'agissant de la dissémination volontaire et la mise sur le marché d'OGM, les dispositions prévues par le Code de l'environnement sont multiples (par ex: articles L. 531-1, L. 531-2, L. 531-4, L. 533-1 à L. 533-7, L. 534-1 du Code de l'environnement).

Pour assurer le respect des autorisations préalables des sanctions sont prévues en cas d'utilisation sans autorisation, d'inobservation des mesures administratives, de non-respect des prescriptions de l'autorisation (ex. article L.536-3 du Code de l'environnement) ou d'obstacles aux fonctions des agents habilités. Ces sanctions ont été renforcées avec la loi de 2008. C'est ainsi par exemple que l'article L.536-5 du Code de l'environnement prévoit que *"le fait de poursuivre une dissémination volontaire ou une mise sur le marché sans se conformer à une décision de mise en demeure est puni de six mois d'emprisonnement et de 75000 euros d'amende"*

La multitude de sanctions illustre le développement et le renforcement d'un droit pénal administratif, qui démontre une volonté de gestion administrative du risque (Verdier, 2003). C'est cet objectif qui explique que ces développements se situent dans cette partie préventive.

S'il est vrai que la fonction préventive de la responsabilité s'est développée pour les OGM au regard de l'importance des risques potentiels, la fonction réparatrice de la responsabilité ne doit pas être négligée.

#### **5.2.2.2 La fonction réparatrice de la responsabilité**

Concernant la fonction réparatrice de la responsabilité, et s'agissant des VTH OGM, deux types de textes peuvent tout de même s'appliquer : le droit spécifique aux OGM et le droit commun qui demeure applicable aux OGM.

S'agissant du régime spécifique des OGM, il existe quelques articles l'étudiant, parmi lesquels on peut citer l'article de Cécile Moiroud (Moiroud 2008) ou celui de Laurent Verdier (Verdier 2006). Le nouveau régime juridique de plein droit (rend un exploitant agricole cultivant une variété OGM autorisée responsable en cas de présence fortuite dans la production d'un autre exploitant si cette présence cause un préjudice économique à ce dernier. L'article L 633-4 du Code rural instaure des conditions restrictives pour la mise en œuvre de cette responsabilité. Il s'agit notamment des parcelles et des ruchers situés dans une parcelle située à proximité, pour les produits issus d'une même campagne de production et sur le préjudice économique résultant de l'obligation d'étiqueter OGM. Le III de cet article prévoit un système d'assurance obligatoire pour couvrir ce risque. Cependant, plusieurs articles de doctrine soulèvent le fait qu'à l'heure actuelle ces assurances n'existent pas dans les faits (Lepage, 2006) et qu'en plus aucune sanction n'est prévue en cas de non-respect de cette obligation d'assurance (Billet, 2008). À noter, qu'un décret en Conseil d'État précisant les modalités de ce régime de responsabilité est en attente de publication à l'heure actuelle.

Hormis ce régime de plein droit extrêmement restrictif applicable aux VTH OGM, d'autres régimes de responsabilité peuvent être mis en œuvre en cas de contamination. Ces mécanismes de responsabilité pouvant être appliquées pour l'ensemble des VTH. Cette multiplicité de régimes de responsabilité est analysée par Alexandra Pauls (Pauls, 1999) comme un facteur de réassurance du consommateur. On peut citer par exemple la responsabilité environnementale (Cans, 2009), la responsabilité des produits défectueux (Cassin, 1999), les troubles du voisinage (Prigent 2009 ; Borel 2007), la responsabilité des faits des choses que l'on a sous sa garde (Bailly, 2006 ou Baudin Maurin, 2008) ou encore la responsabilité engagée pour vices cachés et enfin la responsabilité pour faute (art. 1382 du Code civil).

Il faut souligner qu'en la matière la doctrine relève surtout les difficultés de mise en œuvre de ces régimes, qui n'ont pas été conçus spécifiquement pour les OGM. C'est le cas notamment pour la responsabilité des produits défectueux, en particulier à cause d'un décalage sur les notions principales de produits dangereux et de produits défectueux (Bugnicourt et al., 2011 ; Juet, 2009). Le même constat peut être fait s'agissant de la responsabilité environnementale qui ne couvre qu'une partie des dommages, correspondant à l'objectif premier du texte qui est de prévenir et de réparer les dommages causés aux animaux, aux plantes, aux habitats naturels et aux ressources en eau, ainsi que les dommages affectant les sols. Dernier exemple, la théorie des troubles

anormaux du voisinage n'a pas été retenue pour l'instant par la jurisprudence, comme le prouve l'arrêt de la Cour d'appel d'Agen du 12 juillet 2007. En l'espèce, des apiculteurs demandaient la suspension des semis de MON 810 dans le champ voisin. La Cour d'appel d'Agen estime qu'il n'y a pas trouble anormal du voisinage dans la mesure où le cultivateur de maïs voisin disposait de toutes les autorisations administratives pour l'exploitation du maïs et que les ruchers avaient été placés sciemment à proximité du champ concerné<sup>46</sup>.

En ce qui concerne la responsabilité pénale, elle sera traitée en même temps que l'étiquetage dans la mesure où il s'agit d'infractions tombant sous le coup de publicité trompeuse<sup>47</sup>.

### 5.2.2.3. L'étiquetage

Sur la question de l'étiquetage, le niveau d'analyse choisi est encore une fois celui du droit de l'Union européenne associé au droit français, avec des évocations de droit comparé. Dans cette thématique, la volonté des Etats de disposer d'une marge de manœuvre par rapport au droit de l'Union européenne apparaît comme un sujet à surveiller à l'avenir.

Le principe de l'étiquetage OGM est fixé par le règlement 1831/2003. Le principe est d'étiqueter un produit OGM. Toutefois, il existe une dérogation à l'obligation d'étiquetage, pour ce qui est des aliments pour animaux et des denrées alimentaires contenant des traces d'OGM inférieures au seuil de 0,9% lorsque cette présence est fortuite ou techniquement inévitable. Cette obligation concerne les produits d'alimentation humaine et l'alimentation pour animaux. S'agissant d'une exception, il revient aux producteurs dans la majorité des Etats membres d'apporter la preuve du caractère fortuit ou techniquement inévitable de la contamination. Concrètement, il convient de démontrer que toutes les mesures ont été prises pour éviter la contamination, en présentant par exemple les cahiers des charges, les systèmes de traçabilité<sup>48</sup>. Concernant l'étiquetage des semences, la fixation des seuils est encore en discussion<sup>49</sup>. *"Cela signifie donc, qu'en application du droit européen, qu'actuellement, tous les lots de semences contenant des traces décelables de semences génétiquement modifiées devraient être étiquetés comme génétiquement modifiés"*<sup>50</sup>.

La littérature concernant l'étiquetage porte essentiellement sur les conditions d'étiquetage d'un produit sans OGM. Le nombre d'articles universitaires est relativement restreint (Ngo et Charlier, 2010). A noter que sur cette question le droit français est en pleine évolution suite à la recommandation rendue par le Conseil économique éthique et social du 26 octobre 2009<sup>51</sup>. Il convient de souligner que l'Allemagne, l'Autriche et l'Italie ont adopté une réglementation pour encadrer l'utilisation de la mention sans OGM.

### 5.2.3. Conclusion

VTH OGM et VTH non-OGM se distinguent dans le traitement des questions de la coexistence et de la responsabilité des acteurs. Si la traçabilité est réclamée dans l'Union Européenne pour toutes les denrées alimentaires, le régime de la coexistence (au champ comme dans la chaîne agroalimentaire) ne s'applique que pour les OGM. Aucune disposition particulière en matière d'organisation de l'espace agricole et d'étiquetage des produits n'est prévue pour les VTH non-OGM. La même conclusion s'impose au regard de la responsabilité des acteurs, où les VTH non-OGM relèvent du droit commun.

---

<sup>46</sup> Arrêt disponible à l'adresse suivante <http://www.infogm.org/IMG/pdf/CAAgen-OrdRef-ContamMenara-20070524.pdf>

<sup>47</sup> Rapport du Conseil national de la consommation relatif à la valorisation des filières n'utilisant pas d'OGM, BO DGCCRF du 25 juin 2009 - Numéro 6, qui évoque un arrêt du tribunal correctionnel de Sens de 2006 condamnant une société ayant étiqueté un produit non OGM, alors que ce produit contenait des OGM à un niveau inférieur à celui de l'étiquetage obligatoire

<sup>48</sup> Lamy Dehove n°740-751

<sup>49</sup> Deuxième rapport de la Commission au Conseil et au Parlement européen concernant l'expérience recueillie par les Etats membres en matière de mise sur le marché d'organismes génétiquement modifiés (OGM) conformément à la directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement (SEC(2007) 274)\* COM/2007/0081 final \*/

<sup>50</sup> Lamy droit de la santé n°650-325

<sup>51</sup> Recommandation du Haut Conseil des biotechnologies, comité économique, éthique et social, recommandation sur la définition des filières dites "sans OGM", 26 octobre 2009. Disponible à l'adresse : [http://www.ogm.gouv.fr/Recommandation\\_CEES\\_sansOGM.pdf](http://www.ogm.gouv.fr/Recommandation_CEES_sansOGM.pdf)

La coexistence a été étudiée sous l'angle agro-économique des techniques à mettre en place pour l'assurer, de leur faisabilité, ainsi que dans la perspective du coût que ses mesures engendrent. La question de la création de valeur n'a pas été développée dans la littérature. Or ce n'est que celle-ci qui peut justifier d'un point de vue économique un régime de coexistence et le coût qu'il engendre. Au-delà de cette "rationalisation" économique, ce sont donc les principes de libre choix des consommateurs et de la liberté d'entreprise des producteurs qui ont été pris en compte par le régulateur européen dans sa décision de mettre en place la coexistence.

## 5.3. Un regard sociologique sur différents aspects de l'innovation TH

Marc Barbier

### Introduction

#### Préalable

Deux considérations générales sont à prendre en compte pour aborder les modes d'existence des variétés intégrant une tolérance à un herbicide ou une famille d'herbicide (VTH) sur le plan sociologique.

D'une part, ces variétés sont majoritairement des organismes génétiquement modifiés (OGM) obtenus par transgénèse, même si un certain nombre de ces variétés sont obtenues par d'autres techniques, classiques ou avancées de sélection, par mutagenèse notamment. De plus, la plus grande part des plantes GM cultivées de par le monde est des cultures transgéniques exprimant une TH, soit 82% des surfaces en 2007 selon Bonny (2008). Dans l'espace européen, une VTH suivant qu'elle est, ou pas, obtenue par transgénèse, reçoit donc un traitement différencié (cf. section 5.1.1). La technique de l'obtention du trait est alors une dimension fondamentale pour aborder le trait TH sous l'angle sociologique, eu égard à l'existence d'une controverse établie sur l'usage de la transgénèse pour la sélection variétale.

D'autre part, il faut noter que beaucoup de productions en sciences sociales sur la question de l'innovation variétale mobilisant un trait de tolérance à un herbicide ou une famille d'herbicides (trait TH) reposent sur des données, des cadres ou des considérations analytiques qui traitent surtout des OGM quand il s'agit de l'Europe. La modification d'organismes végétaux par des techniques de transgénèse est ainsi chargée de considérations juridiques au sein de l'espace juridique européen, et objet de débats et d'actions militantes de façon différenciée dans les Etats-Membres, là où les VTH n'ont pas reçu, jusqu'à aujourd'hui, une attention forte des chercheurs en sciences sociales.

#### Nature et contexte des connaissances scientifiques disponibles

Nous avons complété le corpus bibliographique initial par une recherche ciblée sur des bases de données françaises (et notamment le portail CAIRN qui offre une bonne visibilité des revues francophones en sciences sociales) et avons augmenté ce travail initial d'une recherche sur Google Scholar pour les ouvrages, les communications et les rapports.

Il apparaît difficile de trouver des travaux en sociologie qui étudient spécifiquement - ou font seulement état - de la production, de la circulation ou des usages des VTH sans référence aux débats sur les OGM et à leur perception. Ainsi, même s'il existe des VTH obtenues autrement que par transgénèse, les recherches en sciences sociales portant explicitement sur la perception des VTH non obtenues par transgénèse sont inexistantes dans l'espace français. S'il existe des travaux au niveau international sur les VTH, et notamment aux Etats-Unis, ils concernent de fait un contexte socio-économique et un espace réglementaire pour lesquels la perception du trait TH n'est pas cadrée ou marquée par les débats, controverses publiques et conflits sur les OGM comme cela est le cas en France et en Europe plus largement. Ces différences participent de la constitution de régimes de production des savoirs distincts de part et d'autre de l'Atlantique (Gaudillière and Joly, 2006) et il est donc difficile de mobiliser des connaissances scientifiques en sciences sociales sur les VTH sans tenir compte du contexte national ou régional dans lequel elles sont traitées.

Enfin, il est nécessaire de rappeler que la perception des OGM ne faisant explicitement pas l'objet de la présente ESCo, il est dès lors extrêmement difficile de positionner une expertise sur les VTH à partir d'une littérature académique européenne en sciences sociales qui est surtout marquée par le traitement des questions variées que soulève l'innovation variétale par la transgénèse.

#### Contenus de la contribution

Dans le contexte indiqué, malgré une littérature réduite, les modes d'existence des VTH peuvent être abordés sur le plan sociologique à plusieurs niveaux : en tant que le trait TH fait l'objet d'activités de recherche et de création

variétale, en tant que les VTH font l'objet d'une adoption dans des usages allant de leur obtention et commercialisation jusqu'à leur mise en culture, en tant, enfin, que ces variétés peuvent devenir objets de débats alliant des enjeux révélés par les parties-prenantes.

Il nous a semblé utile d'apporter un point de vue sociologique sur les questions spécifiques que posent les VTH dans le cadre d'une évaluation des intérêts et risques que peuvent présenter leurs usages. Cela semble d'autant plus nécessaire que la période est marquée par une conflictualité autour de l'illégalité des arrachages d'OGM, et par la conjugaison de choix technologiques en agriculture avec d'autres problèmes environnementaux et sociaux liés à la durabilité du développement économique.

Dans les limites du cadrage indiqué, il est important de noter que les intérêts et risques des VTH, ainsi que les questions que peuvent susciter leur adoption, sont liés à la mobilisation et à la création du droit qui encadre et régleme : tant la recherche sur le trait TH que la création variétale et la commercialisation des VTH. Or cette relation dépend de l'état de la production et de la circulation des savoirs sur ces variétés, et cela dans un contexte marqué : par des intérêts et des enjeux économiques affirmant la nécessité d'utiliser tout le potentiel des biotechnologies ; mais aussi par des risques et parfois des incertitudes sur les impacts environnementaux du trait TH ; enfin par des débats publics et des formes d'action collective pouvant déboucher sur des tensions fortes en matière de contestation des choix scientifiques et techniques.

Cette section propose ainsi un bilan plutôt prospectif du fait d'une littérature peu fournie sur les VTH, de façon à ce que cette relation soit comprise en fonction des enjeux inhérents à ce contexte. On placera le regard tout d'abord au cœur de la contestation récente d'essais de VTH en proposant une analyse des conséquences de l'arrachage singulier, en juillet 2010, d'un essai de tournesol TH (section 5.3.1) ; à la lumière des travaux existants, on considèrera ensuite la mise en cause de la mutagenèse à l'aune des débats sur la façon dont les biotechnologies de sélection végétale autres que la transgenèse sont l'objet d'une attention (section 5.3.2) ; enfin on portera un regard sur la composition de l'espace social de la recherche pour faire valoir sa diversité (section 5.3.3). On conclura avec les enjeux de l'adaptation du cadre réglementaire à la mise au point et à l'utilisation de techniques de modifications génétiques qui trouvent difficilement leur place dans une approche qui oppose OGM et non-OGM à partir du traitement casuistique de la transgenèse.

### 5.3.1. L'amorce d'une contestation sur les VTH obtenues par mutagenèse

La revendication, dans l'espace public, d'arrachages de tournesols TH obtenus par mutagenèse a fait écho à la recommandation de la Confédération Paysanne de ne pas utiliser de VTH obtenues par mutagenèse (communiqué de presse du 12 avril 2010). Ces arrachages (en 2009, juillet 2010, puis d'autres dont celui survenu à Feyzin le 30 juillet 2011) peuvent être compris comme des événements de plus dans le combat militant anti-OGM, très certainement précurseur d'une radicalisation affirmée ensuite en août 2010 avec l'arrachage de l'essai expérimental à la station INRA de Colmar<sup>52</sup>. Ce type d'arrachage doit être cependant appréhendé sur le plan sociologique comme un événement tout à fait singulier au sein d'un long processus né de la contestation de l'innovation variétale par l'introduction de plantes transgéniques dans le cadre d'une mobilisation syndicale, civique et politique qui se durcit dès 1996 (Joly et al., 2000).

Dans ce cadre large, qui fait l'objet d'une littérature fournie, il est important de noter la nouveauté d'un différend sur des plantes obtenues par mutagenèse. En effet, ces arrachages ont induit un débat sur le fait de savoir si des plantes mutées tolérantes aux herbicides étaient - ou non - des organismes génétiquement modifiés. A son article 3, la directive européenne 2001/18/CE exempte de son champ d'application les organismes obtenus par les techniques de modification génétique comme la mutagenèse, qui peuvent dès lors être définis comme des organismes génétiquement modifiés exonérés d'évaluation et des obligations que supportent les OGM en matière d'autorisation de mise sur le marché, de traçabilité et d'étiquetage (section 5.1.3 et 5.2.2). Indépendamment de ces arrachages d'essais de tournesols TH, la communauté des sélectionneurs et les scientifiques connaît et utilise des techniques de mutagenèse chimique ou radioactive depuis plusieurs décennies

---

<sup>52</sup> L'essai expérimental de Colmar avait l'objet d'une évaluation participative préalable à son implantation, avec un dispositif ad-hoc rapporté et analysé dans Marris et al (2008). Il a également fait l'objet d'un bilan réflexif des chercheurs impliqués dans Lemaire et al. (2010).

pour l'expérimentation comme pour la création variétale (par exemple pour une plante aussi importante que le riz, Ahloowalia et al., 2004).

Pour autant, la littérature disponible en sciences humaines et sociales ne fait pas état de controverses publiques ou professionnelles sur l'utilisation de la mutagenèse à des fins de création variétale, alors que les organismes génétiquement modifiés obtenus par transgenèse ont fait l'objet de nombreux travaux du fait de l'existence d'une telle controverse. Ces arrachages de tournesols obtenus par mutagenèse, et les mobiles qui voudraient le justifier dans le cadre de la lutte contre les OGM, reste donc à analyser comme une étape supplémentaire de la conflictualité anti-OGM et du blocage irréversible dans une logique du conflit que décrit très bien le rapport récent de Chateauraynaud (2010).

Avec ce rapport et à la lumière de la réflexion déjà conduite sur la controverse OGM par de nombreuses équipes de recherche en sciences sociales, il est possible de porter un éclairage général sur une possible extension de cette conflictualité à d'autres techniques issues des biotechnologies que la transgenèse. En effet, des questions d'ordre définitionnel peuvent se poser pour établir les raisons et les critères qui font que des organismes génétiquement modifiés obtenus par transgenèse sont à évaluer dans le cadre de la directive 2001/18/CE et que des organismes objets de modifications génétiques par d'autres voies le sont dans le cadre d'une réglementation standard. Ces questions de définition peuvent trouver un pendant dans une sorte de "confusion logique" qui anime ces arrachages de tournesols TH, car un large ensemble de matériel végétal en usage ne provient-il pas d'événements de sélection obtenus par différentes techniques de mutagenèse, la question se posant y compris pour l'agriculture biologique (Dattée et Le Buanec, 2010) ?

### **5.3.2. Appréhender la mise en cause de la mutagenèse à l'aune des débats sur les biotechnologies**

Des avancées de la recherche en génétique, il découle un niveau élevé de complexité pour appréhender la composition des cadres sur lesquels fonder une régulation des recherches et de la commercialisation des innovations variétales au sein de l'espace Européen. Sous l'égide de cette complexification, il est alors difficile d'aborder l'innovation en matière de VTH de façon globale sans tenir compte des différences de référentiel réglementaire entre l'Europe et les USA (Pollack and Shaffer, 2009), auxquelles s'ajoutent des différences de système de recherche (Gaudillière et Joly, 2006). Au sein de ce contexte connu pour sa complexité, la possibilité que se développe une controverse sur des variétés obtenues par mutagenèse ou d'autres techniques non transgéniques, conduit à considérer plus précisément l'ensemble des biotechnologies de sélection végétale.

Comme les travaux pionniers d'A. Roy l'ont montré dans son analyse de la Commission du génie biomoléculaire (CGB) (Roy, 2001), les arguments d'une culture du risque fondée sur l'invocation du principe d'équivalence en substance permettent à certains experts d'avancer que l'utilisation de la transgenèse n'introduit pas des perturbations substantiellement différentes de ce qui se passe lors de la méiose. Ce cadrage fonde largement le référentiel réglementaire outre-Atlantique, conduisant à des contextes réglementaires radicalement différents pour l'accueil des innovations variétales.

Une telle opposition entre les tenants de l'équivalence en substance et ceux qui défendent une approche précautionneuse devient par trop simpliste. La réflexion scientifique en cours sur les effets de l'avènement de nouvelles méthodes de recherche en biologie moléculaire et notamment les débats théoriques sur le rôle des phénomènes épigénétiques (Projet COBINA, 2010) conduit les chercheurs à questionner les modes d'approches des technologies en usage dans la recherche pour produire des "événements" ou aborder des phénomènes de régulation de l'expression. Par exemple, certaines contributions scientifiques sur les effets comparés de la mutagenèse et de la transgenèse indiquent un effet plus fort de la première en matière de changement transcriptomique (Batista et al., 2008, voir chapitre 2 pour une analyse technique), des débats scientifiques ont cependant cours sur ces questions. De cette dynamique des connaissances propre à la recherche, il s'en suit inévitablement des questionnements en matière de réglementation et d'encadrement des biotechnologies utilisées dans le cadre de la sélection végétale.

Ainsi un rapport d'expertise récent (Lusser et al., 2011)<sup>53</sup>, également mentionné dans les sections 2.2.3 et 2.4 de ce rapport, demandé au Joint Research Centre (JRC) par la Commission Européenne, s'inscrit dans ce mouvement de réflexion qui concerne d'autres méthodes de modification génétique que la transgénèse. Ce travail d'expertise est porté par le souci de la Commission de savoir si ces techniques conduisent à la "création" d'organismes dit génétiquement modifiés, et si les changements induits sont traçables, voire même s'il est possible de distinguer des variétés obtenues grâce à ces nouvelles techniques de celles obtenues par des voies classiques de sélection. Il indique bien la nécessité de considérer les évolutions en cours de la sélection et de la création variétale du fait de tout un ensemble de nouvelles technologies issues de la recherche en génétique biomoléculaire (connues ou récentes) dont il s'agit de suivre les usages par les entreprises de sélection, et d'évaluer les capacités de leur détection au niveau des plantes obtenues et cultivées. Le travail de ces experts scientifiques conduit à l'identification et à l'évaluation de huit nouvelles techniques de sélection (voir chapitre 2), et à l'identification de celles pouvant faire l'objet d'une détection ou d'une identification une fois utilisées intentionnellement pour produire des variétés ensuite utilisées en agriculture. Les conclusions de ce groupe de travail indiquent que seules trois d'entre elles sont susceptibles d'une identification conditionnée par la connaissance préalable des traits introduits (Lusser et al., 2011). Elles indiquent également que des efforts de recherche supplémentaires sont nécessaires pour appréhender ces nouvelles techniques de sélection dans le cadre d'une discussion à tenir sur leur classification dans le cadre de la réglementation sur les OGM.

On peut donc conclure avec la publication de ce rapport que la question de la maîtrise des technologies variées de modification génétique interroge le traitement particulier dont les techniques de transgénèse font l'objet dans la réglementation. Il en ressort la possibilité, voire la nécessité si on suit le travail de certains juristes, d'articuler une recension des nouvelles technologies de modifications génétiques existantes avec un travail de révision des définitions portées en annexes de la directive 2001/18/EC sur ce que sont, ou pas, des organismes génétiquement modifiés.

### 5.3.3. Dynamiques sociales et cognitives du monde de la recherche agronomique en France

Au regard de la controverse sur les OGM et vis-à-vis des questions de choix technologiques plus largement, quelques travaux en études sociales et historiques des sciences montrent que la communauté scientifique n'est pas unanime, et en tous les cas en réflexion notamment sur la valorisation économique, et les risques environnementaux que présentent les plantes transgéniques. Les travaux de Roy (2002) montrent ainsi que les premières controverses autour des OGM entre chercheurs en France peuvent se lire comme une forme de sous-représentation des disciplines de l'écologie et de la génétique des populations par rapport au poids initial de la biologie moléculaire, domaine de recherche dont sont issues les techniques de modification du génome. En lien avec ces tensions disciplinaires, certains scientifiques ont exprimé publiquement leurs différences et leur positions dans des ouvrages ou des articles, avant (Khan, 1996) ou après (Séralini, 2000; Gouyon et al., 2001) les premiers arrachages d'OGM en France.

Le travail d'histoire contemporaine du génie génétique en France (Bonneuil et Thomas, 2004; Bonneuil, 2006) permet de mettre en perspective la composition sociale et épistémique des différences de positionnement des chercheurs, d'une part au regard de la façon dont les techniques de la transgénèse sont mobilisées dans l'innovation variétale et au regard de la controverse sur l'existence de risques environnementaux (notamment ceux liés aux flux de gènes), et, d'autre part, au regard de l'acceptabilité de l'arrachage d'essais expérimentaux (rejet ou acceptation des fauchages comme cause publique). Les engagements publics des chercheurs dissocient ainsi le plan de la controverse sur les risques à celui de la légitimité des arrachages. Bonneuil (2006) montre par une analyse scientométrique de la contribution des scientifiques à l'espace des pétitions, l'existence de 4 positionnements, qu'il est utile de rappeler in extenso : "(1) une défense des cultures transgéniques comme 'progrès' pour répondre aux défis du XXI<sup>e</sup> siècle ; (2) un rejet des fauchages et une défense des biotechnologies, mais sans prise de parti pour les cultures transgéniques ; (3) un refus des fauchages, mais assorti d'une demande de grâce pour les faucheurs et d'un débat avec la société sur les orientations de la recherche ; et enfin

---

<sup>53</sup> Ce travail a été commandité par la commission européenne sur les nouvelles techniques de sélection à un groupe de travail d'experts, le NTWG pour "New Techniques Working Group" qui a rendu le résultat de son travail en Juin 2011



(4) *une critique des impacts sociaux et environnementaux négatifs des cultures transgéniques*" (op.cit., p. 261). Dans cet espace des positions qui concernent la transgénèse très spécifiquement, un certain nombre de chercheurs exprime leur inquiétude quant au blocage de la recherche et de l'innovation en matière de sélection variétale ayant recours à la transgénèse au regard d'un certain nombre d'enjeux alimentaires planétaires connus, et d'un contexte généralisé de recours aux plantes transgéniques hors de l'espace européen (Ricroch et al., 2011).

Ces positions se manifestent par des engagements variés dans la controverse, mais les analyses scientométriques de Bonneuil (2006) font aussi ressortir l'existence de trois cultures épistémiques ayant des points de vue et des pratiques différenciés sur les phénomènes biologiques en jeu : la biologie moléculaire, la biologie des populations et l'agronomie systémique. Ces différences sont alors autant de façon d'aborder des problèmes d'expertise apparus dans le travail de la CGB au début des années 1990, puis rendus publics par la controverse et les arrachages durant la dernière décennie : en discutant les fondements et les pratiques de la technologie de la transgénèse, en discutant les effets de la mise en circulation de transgènes dans l'environnement et en discutant de la complexité de l'intégration d'une telle innovation variétale dans les systèmes de culture.

Au-delà du rapport individuel des chercheurs à la question des arrachages, ces cultures épistémiques manifestent d'abord et surtout l'existence d'une variété de points de vue pour aborder l'usage des biotechnologies dans le registre de l'innovation variétale ou pour en conduire l'évaluation. Les différences et les complémentarités de ces cultures sont également en travail quand il s'agit d'aborder les traits génétiques de tolérance à un herbicide et de conduire une analyse des conséquences de l'usage de VTH.

### 5.3.4. Conclusions

De façon connexe au champ de la présente expertise, les travaux en sciences sociales permettent de mettre le dossier OGM dans une perspective historique. Commencant avec la mise en débats des techniques de l'ADN recombinant qui fondent l'innovation biotechnologique dans les années 1970, le dossier des OGM est marqué par une amplification des controverses publiques dont l'un des points focaux réside dans la contestation de l'évaluation des risques dans le cadre des AMM. La situation s'est durcie en Europe avec le moratoire de juin 1998, puis l'intensification des arrachages indiquant la formation d'une conscience politique et symbolique au sujet des biotechnologies comme un segment d'une écologie politique devenant progressivement aussi planétaire que les enjeux du changement global. Il s'agit donc d'appréhender le travail réalisé sur les VTH à l'aune de cette saturation de la conflictualité sur les OGM, dans la mesure où un grand nombre de variétés revendiquant un trait TH l'a obtenu par transgénèse.

Dans le cas des arrachages singuliers d'essais de tournesols obtenus par mutagenèse, les registres des discours sont les mêmes que pour les arrachages d'essais d'OGM. La question posée est celle de l'extension des conflits aux modifications génétiques qui ne seraient pas obtenues par transgénèse, ce qui renvoie à la qualification réglementaire de ces nouvelles entités provenant de techniques de sélection nouvelles qui invitent à revoir la question de leur détection ainsi que plus généralement les catégories à travers lesquelles la transformation du vivant végétal est abordée comme question technique, économique et éthique. Ces considérations débouchent sur la nécessité d'un débat sur les biotechnologies et pas sur la seule technique de transgénèse, débat amorcé au niveau Européen grâce au travail du JCR sur les nouvelles technologies de sélection variétale (op.cit.).

Ce débat est d'autant plus nécessaire que les positions des chercheurs sont beaucoup plus riches et variées que ce que la seule opposition aux OGM ne semble indiquer. Il en va très certainement d'une clarification des relations entre les avancées récentes en matière de techniques de sélection et la réglementation européenne établie jusque-là autour de l'encadrement des techniques de transgénèse. Il s'agit aussi de noter que de nouvelles interrogations éthiques, certes très minoritaires, sont formulées pour aborder les biotechnologies du point de vue de la valeur morale des aliments et pas seulement de leurs valeurs nutritives (Pouteau, 2000). Il faudra enfin compter avec un mouvement consumériste écologique bien établi qui a constitué des cadres cognitifs forts, validés par certains objectifs du Grenelle de l'Environnement, à partir des débats et des différentes formes d'engagements militants, notamment celle contre les OGM (arrachages) et les pesticides (production culturelle militante sous formes de documentaires et de films).

De façon ostensiblement dialectique, la controverse sur les OGM, puis la lutte politique contre les essais d'OGM de plein champ, a conduit à une cristallisation stable de positions radicales autour de la définition et de la réalité des risques collectifs. Cette stabilisation des antagonismes et l'audience qu'ils trouvent dans la mise en public des arrachages (et cela très nettement en France) est aussi un opérateur de transformation des modèles de consommation dans la mesure où elle conduit à un marquage de territoires symboliques de consommation alimentaire opposant "malbouffe" et "manger sain", et de santé liée à l'alimentation (opposant risque sanitaire de l'alimentation industrielle et innocuité du naturel). Les usages communicationnels multiples de l'opposition catégorielle OGM/non-OGM dans l'espace public (*via* les arrachages) et marchand (*via* l'étiquetage) forment dorénavant une dimension importante du mode d'existence des problèmes d'évaluation initialement traités dans le registre de commissions d'homologation ou d'évaluation de la valeur agronomique des variétés. C'est une dimension sociologique importante de la réception des traits TH qui seraient obtenus par des technologies de sélection variétales autres que la transgénèse et pour lesquelles une réflexion est en cours au niveau Européen.

## 5.4. Conclusions

Les VTH forment un objet d'étude original pour les SHS. Elles ne sont pas cependant abordées directement par la littérature (ou très rarement) et l'utilisation de la littérature académique sur les OGM a bien souvent été nécessaire. Ce chapitre a tout d'abord abordé le marché des VTH en se concentrant sur les motifs de leur demande (i) et les stratégies d'offre des acteurs économiques concernés (ii). Les stratégies d'offre dépendant du pouvoir de marchés des firmes sur les marchés des semences et des herbicides, la question sous-jacente de la protection juridique de l'innovation incorporée dans les VTH a été explorée (iii).

- (i) Sur le volet demande, les premières études économiques se rejoignent pour accorder une grande importance à trois critères pour expliquer le choix de la technologie TH : la rentabilité, les rendements et les coûts. Leurs résultats insistent sur le fait que l'augmentation des rendements n'est pas forcément constatée (les résultats diffèrent en fonction des VTH et des pays considérés), mais que les gains en termes de coût du contrôle des adventices seraient appréciables. La baisse du prix relatif du glyphosate par rapport aux prix des désherbants conventionnels est un facteur explicatif de l'adoption généralement souligné. De même, la hausse du prix relatif de la semence est suffisamment significative pour être présentée comme un frein dans le comportement d'adoption des agriculteurs. Les études récentes ont essayé d'amener des résultats plus fins sur la comparaison des rendements et de la rentabilité des cultures TH et conventionnelles, et de mesurer l'impact d'autres critères dans la décision des agriculteurs d'adopter une semence TH. Fernandez-Cornejo et al. (2005) ont montré que le choix de l'adoption de la technologie TH influence positivement et de manière significative la composante "non-agricole" du revenu des cultivateurs de soja TH américains du fait du travail dégagé par une meilleure gestion des adventices qui est alors orienté vers une activité rémunérée extérieure à la ferme. Les études essayant d'expliquer le choix des semences TH sur des bases plus qualitatives ont cherché à savoir si ce changement technologique était lié à d'autres changements technologiques, en particulier en matière de labour. Ce lien entre la technologie TH et un travail simplifié du sol est expliqué par le contrôle des adventices : un contrôle plus aisé par l'adoption de la technologie TH permettrait de se tourner vers un travail du sol réduit, ou encore, l'incitation à adopter le non-labour dans certaines régions des Etats-Unis où l'érosion est forte favoriserait l'adoption de semences TH. Frisvold et al. (2009) ont montré que le choix d'une semence TH n'est pas une variable explicative significative de l'adoption du non-labour mais que l'adoption du non-labour est une variable explicative significative du choix de l'adoption d'une semence TH. Le problème de l'apparition d'adventices développant une résistance à l'herbicide utilisé a aussi été soulevé dans la littérature récente. Ce problème est vu comme une menace pour les bénéficiaires, ou encore comme nécessitant un changement des pratiques dans la gestion des adventices afin d'envisager le développement des cultures TH à long terme (recours à du désherbage mécanique et à l'introduction de nouveaux herbicides ou à la rotation des cultures). Notons que ce phénomène est ainsi principalement appréhendé du point de vue des agriculteurs dans la littérature, alors qu'il a potentiellement une dimension d'externalité environnementale négative.
- (ii) L'offre des VTH est particulière pour la raison suivante : elle émane de firmes pouvant avoir un pouvoir de marché à la fois sur le marché de la semence considérée et sur le marché de l'herbicide utilisé de manière complémentaire. La première question envisagée dans ce contexte dans la littérature économique est la suivante : ces firmes ont-elles intérêt à commercialiser le caractère TH uniquement par leur filiale semencière ou ont-elles plutôt intérêt à accorder des licences non exclusives à tous les semenciers ? La réponse donnée dans la littérature met en avant l'importance des modalités de paiement prévues dans les accords de licence. Lorsque le détenteur du caractère TH a une filiale semencière et lorsque le paiement est en partie proportionnel à la quantité vendue, le détenteur du brevet a intérêt à accorder une licence non exclusive. La seconde question porte alors sur les conséquences des accords de licence concernant le caractère TH sur les gammes de produits des semenciers (le maintien en particulier d'une offre de semence conventionnelle). Les résultats de la littérature montrent que, face à des demandes hétérogènes de semences établies, si les semenciers désirent discriminer les agriculteurs demandeurs pour augmenter leur profit, la stratégie de maintenir des semences conventionnelles devrait être adoptée. La troisième question concernant les stratégies d'offre de VTH envisagée concerne la possibilité de ventes liées et de ventes groupées. La vente liée permet à une firme qui détient le droit de propriété sur le trait TH mais pas sur l'herbicide complémentaire de limiter la concurrence sur l'herbicide complémentaire. Si de tels cas ont pu être observés aux Etats-Unis, la vente liée est contraire au droit de la concurrence. La vente groupée

consiste quant à elle à vendre le trait TH et l'herbicide complémentaire en paquets. En maintenant une vente séparée parallèlement, elle permet de discriminer les agriculteurs dans le but de la maximisation du profit. Si cette pratique ne pose pas de problème de concurrence particulière, elle est assez peu rencontrée dans les faits car la définition du "paquet à mettre sur le marché" est assez compliquée face à la diversité des attentes des agriculteurs. Face à une demande importante, la conséquence de ces stratégies sera de faire apparaître sur le marché un écart de prix significatif entre les semences VTH et conventionnelles. Ce résultat apparaît lorsque la propriété intellectuelle incorporée dans les VTH est protégée. Le chapitre fait état de travaux montrant que le différentiel de prix est beaucoup plus faible lorsque cette protection est relâchée, comme c'est le cas par exemple en Argentine.

- (iii) L'analyse du droit de propriété relatif aux VTH a porté particulièrement sur les régimes de droits de propriété intellectuelle susceptibles d'appréhender de telles créations. Deux droits de propriété intellectuelle sont "actionnés" lorsqu'il est question des VTH, à savoir le droit des obtentions végétales et le droit des brevets d'invention. La problématique soulevée par la doctrine est (le plus souvent) celle de la coexistence de ces deux droits au sein d'une plante génétiquement modifiée dont le caractère distinctif consiste en la tolérance à un herbicide. L'introduction d'un gène dans le génotype d'une plante couverte par un COV ou, à l'inverse, le développement d'une nouvelle variété sur la base d'un trait particulier codé par un gène breveté, soulèvent en effet de nombreuses questions quant à la relation de dépendance unissant obtenteur et inventeur.

Ce chapitre a ensuite abordé la question de la coexistence. Celle-ci ne concerne actuellement en Europe que les VTH obtenues par transgénèse. Une revue des travaux économique (i) et juridique (ii) a pu ainsi être développée.

- (i) La mise en place de la coexistence entre variétés OGM et non-OGM induit la mise en place de deux marchés distincts. Celle-ci sera génératrice de coûts aux différents stades des filières concernées. Ces coûts ont été mis en évidence par enquête auprès des opérateurs dans le cadre de la filière colza ou calculés par modélisation en ce qui concerne la filière maïs. L'expérience OGM met toutefois en lumière que ces coûts ne sont pas liés à une création de valeur pour le consommateur. L'absence de travaux sur cette question de la valeur ajoutée aux VTH peut soit refléter l'idée qu'une telle création de valeur n'existe pas, comme celle de l'absence d'intérêt de cette question pour la communauté scientifique. A l'échelle des territoires, l'expérience OGM montre que le choix politique de penser la coexistence à l'échelle de la parcelle agricole se traduit par des règles rigides basées sur des connaissances biologiques. Toutefois certains auteurs suggèrent de mettre en place un marché en permettant aux agriculteurs cultivant les variétés GM de sous-traiter l'isolement des cultures aux agriculteurs non-GM. Au-delà de ce débat, il est à noter que lorsque l'on pense la mise en place de la coexistence à l'échelle de territoires englobant les exploitations agricoles, la création de zones homogènes de production OGM (et non-OGM) apparaît comme une solution minimisant les coûts de cette politique. Ce point est proposé par des travaux de modélisation portant sur des groupes d'agriculteurs, mais a aussi été mis en évidence à partir d'enquêtes réalisées au Portugal en particulier.
- (ii) L'analyse juridique des VTH sur les autres aspects que ceux de la propriété intellectuelle ne peut être réalisée qu'à travers la distinction OGM / non-OGM. En effet, la mutagenèse n'entre pas dans le champ de la directive 2001/18, alors que les produits obtenus par transgénèse constituent l'objet essentiel de ce texte. L'étude de la doctrine juridique a envisagé tour à tour la traçabilité, l'étiquetage des produits OGM et la responsabilité des acteurs. Sur la responsabilité, deux éléments méritent d'être soulignés. La responsabilité tout d'abord a une fonction préventive et une fonction réparatrice. Or, l'accent mis sur la fonction préventive de la responsabilité est de plus en plus prépondérant. Concernant la responsabilité des Etats, la répartition des compétences entre l'Union européenne et les Etats pour restreindre la présence de cultures OGM est actuellement concernée par une proposition de modification de la directive 2001/18. L'analyse développée met ensuite en exergue qu'il n'existe pas un régime unique de responsabilité, mais une pluralité de régimes de responsabilité. Or, cette multiplicité, loin de couvrir toutes les hypothèses, semble au contraire représenter une source potentielle de difficultés de mise en œuvre. Le régime de plein droit concernant les VTH OGM rend un exploitant agricole cultivant une variété OGM autorisée responsable en cas de présence fortuite dans la production d'un autre exploitant si cette présence cause un préjudice économique à ce dernier. Ce pendant les conditions pour la mise en œuvre de cette responsabilité sont assez restrictives.

Ce chapitre a enfin donné un éclairage sociologique de la question de l'adoption des VTH. D'un point de vue sociologique, la similitude des discours ayant accompagné en 2010 et 2011 l'arrachage de parcelles de tournesols obtenus par mutagenèse avec ceux développés lors des arrachages d'OGM est frappante. En créant un pont entre les techniques de la transgénèse et certaines utilisées pour la mutagenèse, la qualification réglementaire des VTH obtenues par mutagenèse est interpellée. Plus profondément, ce débat questionne du point de vue technique, économique et éthique la transformation du vivant végétal. Les catégories OGM et non-OGM, qui ont guidé les travaux économique, sociologique et juridique que nous avons ici mobilisés, pourraient ainsi être remises en cause. Les analyses découlant d'une littérature reposant de manière implicite ou explicite sur ces catégories, sont donc à relativiser au regard de cette possible transformation du débat.

## Références bibliographiques citées

### Section 5.1.1 L'analyse économique des facteurs d'adoption des VTH

- Agreste primeur (2008). Un tiers des grandes cultures semées en 2006 sans retournement des sols. Dans le sillon du non-labour. *Agreste primeur* 207: 4 p.
- Ammann K. (2008). Integrated farming: why organic farmers should use transgenic crops. *New Biotechnology* 25(2/3): 101-107.
- Banerjee S., Martin S.W., Roberts R.K., Larson J.A., Hogan R.J., Jr., Johnson J.L., Paxton K.W., Reeves J.M. (2009). Adoption of conservation-tillage practices and herbicide-resistant seed in cotton production. *AgBioForum* 12(3/4): 258-268.
- Benbrook C. (2009). Impacts of Genetically Engineered Crops on Pesticide Use: The First Thirteen Years. The Organic Center, <http://www.organic-center.org>.
- Bernard J.C., Pesek J.D., Jr., Fan C. (2004a). Delaware farmers' adoption of GE soybeans in a time of uncertain U.S. adoption. *Agribusiness (New York)* 20(1): 81-94.
- Bernard J.C., Pesek J.D., Jr., Fan C. (2004b). Performance results and characteristics of adopters of genetically engineered soybeans in Delaware. *Agricultural and Resource Economics Review* 33(2): 282-292.
- Bonny S. (2002). The success of transgenic crops in the USA: agro-economic factors and prospects. *Économie rurale* 267: 91-105.
- Bonny S. (2008). Les cultures transgéniques tolérantes à un herbicide permettent-elles de réduire l'usage des pesticides ? Le cas du soja et du maïs aux Etats-Unis. *Innovations agronomiques* 3: 193-212.
- Boudia S., Jas N. (2007). Risk and 'Risk Society' in Historical Perspective. *History and Technology: An International Journal* 23(4): 317 - 331.
- Brookes G. (2005). The farm-level impact of herbicide-tolerant soybeans in Romania. *AgBioForum* 8(4): 235-241.
- Brookes G., Barfoot P. (2008). Global impact of biotech crops: socio-economic and environmental effects, 1996-2006. *AgBioForum* 11(1): 21-38.
- Brookes G., Barfoot P. (2009). Global impact of biotech crops: income and production effects, 1996-2007. *AgBioForum* 12(2): 184-208.
- Brookes, G., Barfoot, P. (2010). Global impact of biotech crops: Environmental effects, 1996-2008. *AgBioForum*, 13(1), 76-94
- Bullock D.S., Nitsi E.I. (2001). Roundup Ready Soybean Technology and Farm Production Costs. Measuring the Incentive to Adopt Genetically Modified Seeds. *American behavioral scientist* 44(8): 1283-1301.
- Burton R.J.F. (2004). Seeing through the 'good farmer's' eyes: Towards developing an understanding of the social symbolic value of 'productivist' behaviour. *Sociologia Ruralis* 44(2): 195-215.
- Carpenter J., Gianessi L. (1999). Herbicide tolerant soybeans: why growers are adopting roundup ready varieties. *AgBioForum* 2(2): 65-72.
- Charlier C., Valceschini E. (2010). The importance and limits of cost-benefit analysis in the regulation of genetically modified organisms. In *The regulation of genetically modified organisms. Comparative approaches*, (Bodiguel L., Cardwell M., eds.), Oxford University Press: 37-53.
- Darmency H. (2010). Consequences of the use of GMOs on pesticide use. *OCL - Oleagineux, Corps Gras, Lipides* 17(1): 1-5.
- Duke S.O., Powles S.B. (2008). Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64(4): 319-325.
- European Commission (2011). Rapport de la commission au parlement européen et au conseil sur les répercussions socioéconomiques de la culture d'OGM établi sur la base des contributions des Etats membres, conformément à la demande formulée dans les conclusions du Conseil "Environnement" de décembre 2008, SANCO/10715/2011 Rev. 5: 13 p. [http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/reports\\_studies/docs/socio\\_economic\\_report\\_GMO\\_fr.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/reports_studies/docs/socio_economic_report_GMO_fr.pdf)
- Fernandez-Cornejo J., Caswell M. (2006). The First Decade of Genetically Engineered Crops in the USA. *Economic Information Bulletin* 11: 36 p.
- Fernandez-Cornejo J., Hendricks C., Mishra A. (2005). Technology adoption and off-farm household income. *Journal of Agricultural and Applied Economics* 37(3): 549-564.
- Fernandez-Cornejo J., Klotz-Ingram C., Jans S. (2002). Farm-level effects of adopting herbicide-tolerant soybeans in the U.S.A. *Journal of Agricultural and Applied Economics* 34(1): 149-163.

- Fernandez-Cornejo J., McBride W. (2002). Adoption of bioengineered crops. *Agricultural Economic Report*(AER810): 67 p.
- Finger R., Hartmann M., Feitknecht M. (2009). Adoption patterns of herbicide-tolerant soybeans in Argentina. *AgBioForum* 12(3/4): 404-411.
- Fok M. (2010). Broadening the scope of regulation: a prerequisite for a positive contribution of transgenic crop use to sustainable development, *Proceedings of Agro2010, the XIth ESA Congress, 2010/08/29-2010/09/03*, (Wéry J. et al., eds.), Agropolis International Editions, Montpellier, France: 425-426.
- Fok M., Guerroue J.L.I., Lubello P. (2010). A status of coexistence of transgenic and non-transgenic soybean in Parana, Brazil. *Économie rurale* (320): 53-68.
- Frisvold G.B., Boor A., Reeves J.M. (2009). Simultaneous diffusion of herbicide resistant cotton and conservation tillage. *AgBioForum* 12(3/4): 249-257.
- Frisvold G.B., Reeves J.M. (2010). Resistance management and sustainable use of agricultural biotechnology. *AgBioForum* 13(4): 343-359.
- Fulton M., Keyowski L. (1999). The producer benefits of herbicide-resistant canola. *AgBioForum* 2(2): 85-93.
- Gardner J.G., Nehring R.F., Nelson C.H. (2009). Genetically modified crops and household labor savings in US crop production. *AgBioForum* 12(3/4): 303-312.
- Gianessi L.P. (2008). Economic impacts of glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science* 64(4): 346-352.
- Goulet F. (2008). L'innovation par retrait. Reconfigurations des collectifs socio-techniques et de la nature dans le développement de techniques culturelles sans labours, Université de Grenoble, 425 p.
- Gouse M., Piesse J., Thirtle C., Poulton C. (2009). Assessing the performance of GM maize amongst smallholders in KwaZulu-Natal, South Africa. *AgBioForum* 12(1): 78-89.
- Green J.M., Hazel C.B., Forney D.R., Pugh L.M. (2008). New multiple-herbicide crop resistance and formulation technology to augment the utility of glyphosate. *Pest Management Science* 64(4): 332-339.
- Griffon M. (2006). Nourrir la planète, Odile Jacob, Paris, 456 p.
- Gusta M., Smyth S.J., Belcher K., Phillips P.W.B., Castle D. (2011). Economic benefits of genetically-modified herbicide-tolerant canola for producers. *AgBioForum* 14(1): 1-13.
- Hanson B.D., Shrestha A., Shaner D.L. (2009). Distribution of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) and relationship to cropping systems in the Central Valley of California. *Weed Science* 57(1): 48-53.
- Hennessy D.A., Saak A.E. (2003). State-contingent demand for herbicide-tolerance seed trait. *Journal of Agricultural and Resource Economics* 28(1): 1-14.
- Hurley T.M., Mitchell P.D., Frisvold G.B. (2009). Characteristics of herbicides and weed-management programs most important to corn, cotton, and soybean growers. *AgBioForum* 12(3/4): 269-280.
- Kaphengst T., El Benni N., Evans C., Finger R., Herbert S., Morse S., Stupak N. (2010). Assessment of the economic performance of GM crops worldwide. Report to the European Commission, March 2011., Ecologic Institute: 149 p. [http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/reports\\_studies/docs/economic\\_performance\\_report\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/reports_studies/docs/economic_performance_report_en.pdf)
- Kesan J.P., Gallo A.A. (2005). Property rights and incentives to invest in seed varieties: governmental regulations in Argentina. *AgBioForum* 8(2/3): 118-126.
- Kleter G.A., Bhula R., Bodnaruk K., Carazo E., Felsot A.S., Harris C.A., Katayama A., Kuiper H.A., Racke K.D., Rubin B., Shevah Y., Stephenson G.R., Tanaka K., Unsworth J., Wauchope R.D., Wong S.S. (2007). Altered pesticide use on transgenic crops and the associated general impact from an environmental perspective. *Pest Management Science* 63(11): 1107-1115.
- Klotz-Ingram C., Jans S., Fernandez-Cornejo J., McBride W. (1999). Farm-level production effects related to the adoption of genetically modified cotton for pest management. *AgBioForum* 2(2): 1-7.
- Latruffe L. (2010). Competitiveness, Productivity and Efficiency in the Agricultural and Agri-Food Sectors. *OECD Food, Agriculture and Fisheries Working Papers* 30: 63 p.
- Lassen J., Sandoe P. (2009). GM Plants, Farmers and the Public - A Harmonious Relation? *Sociologia Ruralis* 49(3): 258-272.
- Lence S.H., Hayes D.J. (2005). Technology fees versus GURTs in the presence of spillovers: world welfare impacts. *AgBioForum* 8(2/3): 172-186.
- Llewellyn R.S., Pannell D.J. (2009). Managing the herbicide resource: an evaluation of extension on management of herbicide-resistant weeds. *AgBioForum* 12(3/4): 358-369.
- Marra M.C., Pardey P.G., Alston J.M. (2002). The payoffs to transgenic field crops: an assessment of the evidence. *AgBioForum* 5(2): 43-50.

- Marra M.C., Piggott N.E., Carlson G.A. (2004). The net benefits, including convenience, of Roundup Ready soybeans: results from a national survey, *The net benefits, including convenience, of Roundup Ready soybeans: results from a national survey*, (Marra M.C. *et al.*, eds.), NSF Center for Integrated Pest Management, Raleigh, 40.
- Mauro I.J., McLachlan S.M. (2008). Farmer knowledge and risk analysis: postrelease evaluation of herbicide-tolerant canola in Western Canada. *Risk Analysis* 28(2): 463-476.
- Piggott N.E., Marra M.C. (2008). Biotechnology adoption over time in the presence of non-pecuniary characteristics that directly affect utility: a derived demand approach. *AgBioForum* 11(1): 58-70.
- Qaim M., Traxler G. (2005). Roundup Ready soybeans in Argentina: farm level and aggregate welfare effects. *Agricultural Economics* 32(1): 73-86.
- Rogers E. (1962). *Diffusion of innovations*, Free Press, New York.
- Schweiger J. (2010). Factors influencing the potential cultivation of transgenic crops. *Agrarforschung Schweiz* 1(2): 60-65.
- Sonka S. (2003). The dynamics of biotechnology in the soybean marketplace. *AgBioForum* 6(1/2): 33-40.
- Trigo E.J., Cap E.J. (2003). The impact of the introduction of transgenic crops in Argentinean agriculture. *AgBioForum* 6(3): 87-94.

## Section 5.1.2 Les stratégies d'offre des VTH

- Baghdasaryan D., Campens E., Lemarié S. (2010). The product line strategy of a seed company in a context with a licensed GM trait, Annual Meeting of the Association of Southern European Economic Theorists (ASSET), 2010/10/29-30, Alicante (ESP): 29 p.
- Bonny, S. (2011), "Les cultures tolérantes à certains herbicides : adoption, impacts et développement d'adventices résistantes", in A. Ricoch, Y. Dattée et M. Fellous (éds.), *Biotechnologies végétales : environnement, alimentation, santé*, Editions Vuibert, 2011.
- Desquilbet M., Bullock D.S. (2009). Who Pays the Costs of Non-GMO Segregation and Identity Preservation? *American Journal of Agricultural Economics* 91(3): 656-672.
- Desquilbet M., Lemarié S., Levert F. (2002). Potential adoption of genetically modified rapeseed in France, effects on revenues of farmers and upstream companies: an ex ante evaluation, *Exploring diversity in the European Agri-food System*, Zaragoza (Spain), 28-31 août 2002, (European Association of Agricultural Economists, ed.): 15 p.
- Desquilbet M., Lucht E., Milanesi J., Rocha de Santos R. (2009). Current and future availability of non-genetically modified soybean seeds in the U.S., Brazil and Argentina, *Rapport du programme Co-Extra, Deliverable D3.11*: 103 p.
- Dillen K., Demont M., Tollens E. (2009). Corporate pricing strategies with heterogeneous adopters: the case of herbicide-resistant sugar beet. *AgBioForum* 12(3/4): 334-345.
- Gianessi L.P., Carpenter J.E. (2000). Agricultural biotechnology: benefits of transgenic soybeans, National Center for Food and Agricultural Policy (NCFAP): 105 p. <http://www.ask-force.org/web/debate/soy85.pdf>
- Gusta M., Smyth S.J., Belcher K., Phillips P.W.B., Castle D. (2011). Economic benefits of genetically-modified herbicide-tolerant canola for producers. *AgBioForum* 14(1): 1-13.
- Hennessy D.A., Hayes D.J. (2000). Competition and tying in agrichemical and seed markets. *Review of Agricultural Economics* 22(2): 389-406.
- Just R.E., Hueth D.L. (1993). Multimarket exploitation. The case of biotechnology and chemicals. *American Journal of Agricultural Economics* 75(4): 936-945.
- Lemarié S. (2005). Vertical integration and the licensing of innovation with a fixed fee or a royalty : 32. Annual conference of the European Association for Research in Industrial Economics, Porto (PRT), 2005/09/01-04, 35 p. Qaim M., Traxler G. (2005). Roundup Ready soybeans in Argentina: farm level and aggregate welfare effects. *Agricultural Economics* 32(1): 73-86.
- Sandonis J., Fauli-Oller R. (2006). On the competitive effects of vertical integration by a research laboratory. *International Journal of Industrial Organization* 24(4): 715-731.
- Shi G.M., Chavas J.P., Stiegert K. (2010). An Analysis of the Pricing of Traits in the U.S. Corn Seed Market. *American Journal of Agricultural Economics* 92(5): 1324-1338.
- Shi G.M., Chavas J.P., Stiegert K.W. (2009). Pricing of herbicide-tolerant soybean seeds: a market-structure approach. *AgBioForum* 12(3/4): 326-333.



### Section 5.1.3 Protection juridique de l'innovation variétale et mise sur le marché des VTH

- Anvar L. (2008). Semences et droit. L'emprise d'un modèle économique dominant sur une réglementation sectorielle. Thèse, Université Paris I, Paris, 470 p.
- Beier F.K., Straus J. (1985). Les brevets dans une ère de changement rapide des sciences et des technologies : les inventions dans le domaine de la biotechnologie. In *Biotechnologie et protection par brevet, une analyse internationale*, (Beier F.K.C., R.S.;Straus, J., ed.), OCDE: 25.
- Boizard M. (2000). La protection juridique des inventions biotechnologiques. Thèse, Université Rennes 1, 477 p.
- Boizard M. (2005). Licence de dépendance entre brevet et certificat d'obtention végétale : le point d'équilibre ? . *Propriété Industrielle* 2005(11): étude n°24.
- Bouche N. (2007). Obtentions végétales. In *Répertoire de droit commercial*, Dalloz.
- Boy L. (1997). La référence au principe de précaution et l'émergence de nouveaux modes de régulation. *Petites Affiches* (4): 4-8.
- Boy L. (2008). L'évolution de la réglementation internationale : vers une remise en cause des semences paysannes ou du privilège de l'agriculteur. *Revue Internationale de Droit Economique* XXII(3): 293-313.
- Buffet Delmas d'Autane X., Doat A. (2004). La protection des plantes : entre brevet et certificat d'obtention végétale. *Propriété Industrielle* 2004(5): étude n°8.
- Chemtob-Concé M.C. (2006). La brevetabilité des innovations biotechnologiques appliquées à l'Homme, 3. ed., Tec et Doc, Paris, 232 p.
- Collart-Dutilleul F. (2004). Le principe de précaution dans le règlement communautaire du 28 janvier 2002. In *Prodotti agricoli e sicurezza alimentare: atti del VIIo Congresso mondiale di Diritto agrario dell'Unione Mondiale degli Agraristi Universitari in memoria di Louis Lorvellec : Pisa-Siena, 5-9 novembre 2002*, (Rook Basile E.M., Alfredo;Germano, Alberto, ed.), Giuffrè: 240.
- Galloux J.C. (1990). Fabrique-moi un mouton... Vers la brevetabilité des animaux-chimères en droit français. *La semaine juridique Edition générale (JCP G)* 1990(7): n°3430.
- Hermitte M.A. (1985a). Les réponses du droit au démarquage scientifique, variétés parasites, variétés déceptrives. In *La protection de la création végétale, le critère de nouveauté*, (Hermitte M.A., ed.), Litec, Paris: 49-77.
- Hermitte M.A., (Dir.) (1985b). *La protection de la création végétale. Le critère de nouveauté*, Volume 11, Librairies techniques, Paris, 159 p.
- Hermitte M.A., Noiville C., Brosset E. (2009). Organismes génétiquement modifiés. *Fascicule Jurisclasseurs Environnement et Développement Durable Fasc 4100(15)*: 5.
- Kevles D.J. (2002). A history of patenting life in the United States with comparative attention to Europe and Canada, (European Commission, ed.), Office for official publications of the European Communities, Luxembourg, 84 p.
- Passa J. (2005). La protection par brevet des semences génétiquement modifiées. *Propriété Industrielle* 2005(5): étude 13.
- Pollaud-Dulian F. (1997). La brevetabilité des inventions. *Etude comparative de jurisprudence France - OEB*, Tome 16, Litec, Paris, 302 p.
- Remiche B., (Dir) (2007). Brevet, innovation et intérêt général. Le brevet : pourquoi et pour quoi faire ? Actes du colloque de Louvain-la-Neuve organisé par la Chaire Arcelor, Larcier, Bruxelles, 608 p.
- Scuffi M. (2003). L'interprétation de la revendication de produit caractérisé par son procédé d'obtention. In *11. Colloque des juges européens de brevets*, JO OEB, Edition spéciale: p. 67.

### Section 5.2.1 Coût de la coexistence entre variétés

- Barber D., Hobbs J., Nolan J. (2008). Assessing producer stated preferences for identity preservation in the Canadian grain handling and transportation system. *Canadian Journal of Agricultural Economics-Revue Canadienne D Agroéconomie* 56(3): 243-256.
- Coleno F.C. (2008). Simulation and evaluation of GM and non-GM segregation management strategies among European grain merchants. *Journal of Food Engineering* 88(3): 306-314.
- Coleno F.C., Angevin F., Lecroart B. (2009). A model to evaluate the consequences of GM and non-GM segregation scenarios on GM crop placement in the landscape and cross-pollination risk management. *Agricultural Systems* 101(1-2): 49-56.

- Consmuller N., Beckmann V., Schleyer C. (2009). The role of coordination and cooperation in early adoption of GM crops: the case of Bt maize in Brandenburg, Germany. *AgBioForum* 12(1): 47-59.
- Demont, M., Daems, W., Dillen, K., Mathijs, E., Sausse, C., Tollens, E., (2008). Regulating coexistence in Europe: Beware of the domino-effect!. *Ecological Economics*, 64, 683-689.
- Demont M., Devos Y. (2008). Regulating coexistence of GM and non-GM crops without jeopardizing economic incentives. *Trends in Biotechnology* 26(7): 353-358.
- Demont M., Devos Y., Sanvido O. (2010a). Towards flexible coexistence regulations for GM crops in the EU. *Eurochoices* 9(2): 18-24.
- Demont M., Dillen K., Daems W., Sausse C., Tollens E., Mathijs E. (2009). On the proportionality of EU spatial ex ante coexistence regulations. *Food Policy* 34(6): 508-518.
- Demont M., Dillen K., Daems W., Sausse C., Tollens E., Mathijs E. (2010b). On the proportionality of EU spatial ex ante coexistence regulations: Reply. *Food Policy* 35(2): 183-184.
- Desquilbet M., Bullock D.S. (2009). Who Pays the Costs of Non-GMO Segregation and Identity Preservation? *American Journal of Agricultural Economics* 91(3): 656-672.
- Desquilbet M., Bullock D.S. (2010). On the proportionality of EU spatial ex ante coexistence regulations: A comment. *Food Policy* 35(1): 87-90.
- Devos, Y., Thas, O., Cougnon, M., Clercq, E.M.d., Cordemans, K., Reheul, D., 2008. Feasibility of isolation perimeters for genetically modified maize. *Agronomy for Sustainable Development* 28, 195-206
- Devos Y., Demont M., Dillen K., Reheul D., Kaiser M., Sanvido O. (2009). Coexistence of genetically modified (GM) and non-GM crops in the European Union. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29(1): 11-30.
- Devos Y., Reheul D., Thas O., De Clercq E.M., Cougnon M., Corde K. (2007). Implementing isolation perimeters around genetically modified maize fields. *Agronomy for Sustainable Development* 27(3): 155-165.
- Furtan W.H., Guzel A., Weseen A.S. (2007). Landscape clubs: Co-existence of genetically modified and organic crops. *Canadian Journal of Agricultural Economics-Revue Canadienne D Agroeconomie* 55(2): 185-195.
- Gryson N., Eeckhout M., Trouillier A., Le Bail M., Soler L.-G. (2009). Strategies for coexistence of GM and non-GM soy from import to feed processing. *Environmental Biosafety Research* 8(3): 153-159.
- Meynard J.-M., Le Bail M. (2001). Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ, Programme de recherche : Pertinence économique et faisabilité d'une filière "sans utilisation d'OGM", Inra, InaP-G, 56 p.
- Moschini G., Bulut H., Cembalo L. (2005). On the segregation of genetically modified, conventional and organic products in European agriculture: A multi-market equilibrium analysis. *Journal of Agricultural Economics* 56(3): 347-372.
- Munro A. (2008) The spatial impact of genetically modified crops. *Ecological Economics* 67, 658-666.
- Scipioni, A., Saccarola, G., Arena, F. & Alberto, S. (2005). Strategies to assure the absence of GMO in food products application process in a confectionery firm, *Food control* 16, 569-578.
- Skevas T., Fevreiro P., Wesseler J. (2010). Coexistence regulations and agriculture production: A case study of five Bt maize producers in Portugal. *Ecological Economics* 69(12): 2402-2408.
- Tumusiime E., Grootte H.d., Vitale J., Adam B. (2010). The cost of coexistence between Bt maize and open-pollinated maize varieties in lowland coastal Kenya. *AgBioForum* 13(3): 208-221.
- Wilson W.W., Dahl B.L., Jabs E. (2007). Optimal supplier testing and tolerance strategies for genetically modified (GM) wheat. *Agricultural Economics* 36(1): 39-48.
- Wilson W.W., Henry, X., Dahl, B.L. (2008a) "Costs and risks of conforming to EU traceability requirements: the case of hard red spring wheat," *Agribusiness* . 24(1) : 85-101.
- Wilson W.W., DeVuyst E.A., Taylor R.D., Koo W.W., Dahl B.L. (2008b). Implications of biotech traits with segregation costs and market segments: the case of Roundup Ready (R) Wheat. *European Review of Agricultural Economics* 35(1): 51-73.

## Section 5.2.2 L'analyse juridique de la traçabilité, de la responsabilité et de l'étiquetage

- (2003). Mais comprenant du maïs génétiquement modifié : respect de la loyauté des transactions est mis en place d'un autocontrôle obligatoire. *Option qualité* 213.
- (2010). Alerte 115. *Revue de droit rural* 386.
- Bailly J.M. (2006). La sécurité alimentaire. *Gazette du Palais. Droit de la santé* 160-161: 7-19.
- Billet P. (2008). Index raisonné de la loi OGM du 25 juin 2008. *Revue de droit rural* 368: 9-24.

- Billet P. (2009). Clefs de lecture du nouveau régime de responsabilité environnementale, À propos du décret n° 2009-468 du 23 avril 2009 relatif à la prévention et à la réparation de certains dommages causés à l'environnement. *La semaine juridique. Entreprise et affaires* 26: 33-40.
- Blumberg Mokri M. (2002). Le régime juridique des organismes réglementairement disséminés : un aperçu de la directive CE N° 2001/18 du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement. *Option qualité* 207: 11-15.
- Borel J.V. (2007). La responsabilité pour troubles anormaux du voisinage : de la réparation à la prévention. *Revue de droit immobilier* 4: 313.
- Boy L. (2010). De l'encadrement du droit à l'anticipation de normes pour les poissons génétiquement modifiés, Colloque DOGMATIS. La question des poissons génétiquement modifiés, Paris, 2010/11/22-23.
- Brosset E. (2007). Différenciations nationales et harmonisation communautaire, l'exemple des organismes génétiquement modifiés. In *RDSS - Revue de droit sanitaire et social : Année 2006*, (Borgetto M., ed.), Dalloz: 215.
- Bugnicourt J.P., Borgetti J.S., Collart-Ditilleul F. (2011). Le droit civil de la responsabilité à l'épreuve du droit de l'alimentation : premières questions. In *Recueil Dalloz : Année 2010*, Dalloz: 1099.
- Cans C. (2009). La responsabilité environnementale. Prévention, imputation, réparation, Thèmes et commentaires, Dalloz.
- Cassin I. (1999). Les OGM et le nouveau régime de la responsabilité du fait des produits défectueux. *Gazette du Palais*: 134.
- Charlier C., Valceschini E. (2008). Coordination for traceability in the food chain. A critical appraisal of European regulation. *European Journal of Law and Economics* 25(1): 1-15.
- Cour de justice des Communautés européennes (2008). Affaire C-121/07, Commission des Communautés européennes contre République française. In *Recueil de jurisprudence 2008*: p. I-09159.
- De Brosses A. (2003). Les responsabilités de l'entreprise liées au risque sanitaire. *Option qualité* 215: 12-17.
- de Carné O., Andrault O. (2009). Rapport du Conseil national de la consommation relatif à la valorisation des filières n'utilisant pas d'OGM. *Bulletin Officiel Concurrence, Consommation, Repression des Fraudes* 6: 6 p.
- Dupras J.P. (2006). La sécurité des produits et la protection de la santé publique. *Actualité juridique droit administratif - AJDA*: 2046.
- European Commission (2010). Rapport du 20 avril 2011 sur la proposition de règlement du Parlement européen et du Conseil modifiant la directive 2001/18/CE en ce qui concerne la possibilité pour les États membres de restreindre ou d'interdire la culture d'OGM sur leur territoire, (COM(2010)0375 – C7-0178/2010 – 2010/0208(COD)): 55 p. <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?type=REPORT&mode=XML&reference=A7-2011-0170&language=FR#title1>
- European Community (2001). Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. *Official Journal of the European Communities* 44(L106): 1-39.
- Favret J.M. (2001). Le principe de précaution ou la prise en compte par le droit de l'incertitude scientifique et du risque virtuel. *Recueil Dalloz Sirey* 43: 3462-3469.
- Franc M. (2003). Traitement juridique du risque et principe de précaution. *Actualité juridique droit administratif - AJDA*: 360.
- Friand Perrot M. (2004). La sécurité alimentaire : nouveaux enjeux pour les secteurs agricoles et alimentaires. *Revue de droit rural* 327: Etude 3.
- Hermitte M.A. (2007). Relire l'ordre juridique à la lumière du principe de précaution. *Recueil Dalloz Sirey*: 1518.
- Hermitte M.A., Noiville C. OGM. *Juris-Classeur Droit Rural Fasc* 500.
- Hermitte M.A., Noiville C., Brosset E. (2009). Organismes génétiquement modifiés. *Fascicule Jurisclasseurs Environnement et Développement Durable Fasc* 4100(15): 5.
- Jeannin M.V. (2000). Sécurité et insécurité alimentaire au troisième millénaire. *Gazette du palais* 4 janvier 2000.
- Juet E. (2009). L'action de l'Union européenne en matière de biotechnologies nouvelles, Rennes.
- Koch B.A. (2005). Liability issues and redress mechanisms in the food and feed supply chains, Co Extra, Deliverable D 7.3.
- Leone J. (1999). Les OGM à l'épreuve du principe de précaution. *Gazette du Palais* 164(18 aout 1999): 12.
- Lepage C. (2006). OGM où en est-on ? *Gazette du Palais* 210(29 juillet 2006): 3.
- Mahieu S. (2007). Le droit de la société de l'alimentation. Vers un nouveau modèle de maîtrise des risques alimentaires et technologiques en droit communautaire et international, Larcier, 674 p.
- Maurin M.P. (2008). Les droits des agriculteurs face au statut juridique des semences transgéniques. *Droit de l'environnement* 160(Numéro spécial): 30.
- Moiroud C. (2008). La loi du 25 juin 2008 relative aux organismes génétiquement modifiés : de la politique, du droit et des sciences. *Actualité juridique droit administratif - AJDA*: 2069.

- Ngo M.A., Charlier C. (2010). Agriculture des signes de qualité et agriculture OGM : les enjeux de la coexistence. *Revue de droit rural Etude* 27: 7-12.
- Pauls A. (1999). Généralités : les prescriptions entre professionnels et consommateurs. *Petites affiches* 164: 12.
- Pedrot P. (2003). Traçabilité et responsabilité, *Economica*, Paris.
- Prigent S. (2000). Le trouble anormal du voisinage appartient en droit de la responsabilité. *Actualité juridique droit immobilier - AJDI*: 13.
- Retterer S. (2000). Traçabilité et protection alimentaire. *Droit et patrimoine* 93: 92.
- Romi R. (2000). Nature et portée du principe de précaution. *Actualité juridique droit administratif - AJDA*: 448.
- Seuvric J.F. (2005). Chroniques législatives, texte publié au journal officiel du 15 septembre 2004 au 15 mars 2005. *Revue de sciences criminelles*: 335.
- Soroste A. (2003a). La gestion de la qualité des aliments et l'influence de la loi du premier aout 1905. *Option qualité* 213.
- Soroste A. (2003b). OGM et nouveaux aliments. *Option qualité* 202.
- Soroste A. (2004). Traçabilité : magie, mode outil ? *Option qualité* 225.
- Soroste A. (2009). Aliments des animaux : refonte de la législation communautaire. *Option qualité* 286.
- Thibierge C. (2004). Avenir de la responsabilité, responsabilité de l'avenir. *Recueil Dalloz Sirey*: 577s.
- Trouilly P. (2001). Le juge administratif et les organismes génétiquement modifiés. *Environnement*.
- Verdier L. (2003). Les actions en justice susceptible d'être mises en oeuvre suite à la dissémination et à la mise sur le marché des organismes génétiquement modifiés, le cas des plantes transgéniques, ParisVII.
- Verdier L. (2006). OGM et responsabilité : les enjeux du projet de loi OGM. *Droit de l'environnement* 144: 390.

### Section 5.3 Un regard sociologique sur différents aspects de l'innovation TH

- Ahloowalia B.S., Maluszynski M., Nichterlein K. (2004). Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica* 135(2): 187-204.
- Batista R., Saibo N., Lourenco T., Oliveira M.M. (2008). Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(9): 3640-3645.
- Bonneuil C., Thomas F. (2004). Du maïs hybride aux OGM : un demi-siècle de génétique et d'amélioration des plantes à l'INRA, Actes du colloque : L'amélioration des plantes, continuités et ruptures, 2002/10/17-18, Paris, (Boistard P.S., C.;Savini, I., ed.), INRA Editions: 42-53. (en ligne : <http://www.inra.fr/gap/vie-scientifique/animation/colloque-AP2002/index.htm>)
- Bonneuil C. (2006). Dossier Engagement public des chercheurs Cultures epistemiques et engagement public des chercheurs dans la controverse OGM. *Natures Sciences Societes* 14(3): 257-268.
- Bonny S. (2008). Les cultures transgéniques tolérantes à un herbicide permettent-elles de réduire l'usage des pesticides ? Le cas du soja et du maïs aux Etats-Unis. *Innovations agronomiques* 3: 193-212.
- Chateauraynaud F. (2010). Les OGM entre régulation économique et critique radicale, Rapport final du programme ANR "Formes de mobilisation et épreuves juridiques autour des OGM en France et Europe", GSPR: 420 p.
- Coleno F.C. (2008). Simulation and evaluation of GM and non-GM segregation management strategies among European grain merchants. *Journal of Food Engineering* 88(3): 306-314.
- Dattée Y., Le Buanec B. (2010). Semences et variétés en agriculture biologique. In *Agriculture biologique. Regards croisés d'un groupe de travail de l'Académie d'Agriculture de France* (septembre 2008 – mai 2010), (Le Buanec B. et al., eds.): 8-11.
- Demont M., Dillen K., Daems W., Sausse C., Tollens E., Mathijs E. (2009). On the proportionality of EU spatial ex ante coexistence regulations. *Food Policy* 34(6): 508-518.
- Fernandez-Cornejo J., Hendricks C., Mishra A. (2005). Technology adoption and off-farm household income. *Journal of Agricultural and Applied Economics* 37(3): 549-564.
- Furtan W.H., Guzel A., Weseen A.S. (2007). Landscape clubs: Co-existence of genetically modified and organic crops. *Canadian Journal of Agricultural Economics-Revue Canadienne D Agroeconomie* 55(2): 185-195.
- Gaudillière J.P., Joly P.B. (2006). Appropriation et régulation des innovations biotechnologiques : pour une comparaison transatlantique. *Sociologie Du Travail* 48(3): 330-349.

- Gouyon P.H., Meynard J.M., Klein E., Angevin F., Lavigne C. (2001). Modéliser l'impact des OGM: pourquoi et comment? *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France* 87(5): 21-30.
- Joly P.B., Assouline G., Kréziak D., Lemarié J., Marris C., Roy A. (2000). L'innovation controversée : le débat public sur les OGM en France: 197.
- Kahn A. (1996). *Société et révolution biologique. Pour une éthique de la responsabilité*, Sciences en questions, INRA Editions, Paris.
- Lemaire O., Moneyron A., et Masson J.E., (2010), "Interactive Technology Assessment and Beyond: the Field Trial of Genetically Modified Grapevines at INRA-Colmar", *PLoS Biol*, 8(11).
- Lusser M., Parisi C., Plan D., Rogdriguez-Cerezo E. (2011). New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development, European Commission, Joint Research Center (JRC), EUR 24760 EN.
- Marris C., Joly P.B., Rip A. (2008). Interactive technology assessment in the real world: Dual dynamics in an iTA exercise on genetically modified vines. *Science Technology & Human Values* 33(1): 77-100.
- Pollack M.A., Shaffer G.C. (2009). *When cooperation fails. The international law and politics of genetically modified foods*, Oxford University Press.
- Pouteau S. (2000). Beyond substantial equivalence: Ethical equivalence. *Journal of Agricultural & Environmental Ethics* 13(3-4): 273-291.
- Projet COBINA (2010). *Connaissances biologiques et normes d'action publique*, Rapport final: ANR-06-POGM-02.
- Ricroch A., Dattée Y., Fellous M. (2011). *Biotechnologies végétales : environnement, alimentation, santé*, Vuibert, Paris, 272 p.
- Roy A. (2001). *Les experts face au risque : le cas des plantes transgéniques*, Partage du savoir, Presses Universitaires de France, Paris.
- Roy A. (2002). L'influence des cultures du risque sur l'expertise scientifique. *Le cas des ogm*. *Économie rurale* 271: 35-48.
- Seralini G.E. (2000). *OGM, le vrai débat*, Dominos, Flammarion, Paris.
- Skevas T., Feveireiro P., Wesseler J. (2010). Coexistence regulations and agriculture production: A case study of five Bt maize producers in Portugal. *Ecological Economics* 69(12): 2402-2408.

## Annexe. Mesures d'accompagnement des VTH

Stéphane Lemarié

On s'intéresse ici aux mesures d'accompagnement<sup>54</sup> qui visent soit à limiter l'apparition d'adventives résistantes, soit à éviter le risque de transfert du gène de tolérance vers des plantes apparentées à la VTH. Dans un cas comme dans l'autre, l'objectif est de limiter la diffusion d'un gène de résistance ou de tolérance à la matière active vis-à-vis de laquelle la VTH est tolérante. Une telle diffusion peut conduire à des pertes économiques puisque, dans les deux cas, l'agriculteur ne peut plus éliminer certaines plantes concurrentes de sa culture au moyen de l'herbicide. Comme il a été indiqué dans le chapitre 3, plusieurs solutions peuvent être mises en place pour limiter ce phénomène. Ces solutions présentent néanmoins un coût direct ou un coût d'opportunité lié à un manque à gagner.

Il existe en économie une littérature sur la gestion des résistances. D'une façon générale, cette littérature aborde deux grands types de problème :

- Le premier consiste à établir le bon équilibre entre le coût des mesures proposées et les bénéfices qu'elles génèrent. Les coûts sont supportés à court terme alors que les bénéfices, liés à la moindre diffusion du gène de résistance, apparaissent à moyen terme. L'arbitrage économique entre les coûts et bénéfices nécessite donc de conduire une analyse dynamique sur plusieurs périodes.
- Le second problème est d'étudier les facteurs qui favorisent ou limitent l'adoption effective de ces mesures par les agriculteurs (besoin d'information, perception biaisée des problèmes, impact des choix réalisés par les agriculteurs voisins, etc.). De telles analyses sont importantes pour définir les politiques publiques ou réglementations à mettre en place pour favoriser l'adoption des mesures d'accompagnement.

La littérature en économie agricole a surtout étudié la gestion des résistances aux insecticides développées par les insectes. Le cas de la résistance aux herbicides a néanmoins fait l'objet de quelques articles que nous présenterons ici. Par rapport au cas des insecticides, la résistance aux herbicides a deux spécificités principales : (i) la mobilité des adventives est plus faible, si bien que les plantes résistantes sur une parcelle ont de grandes chances de provenir de parents qui étaient déjà présents sur la parcelle les années précédentes, (ii) l'agriculteur dispose d'un éventail plus large de mesures alternatives pour éliminer les adventives, dont les adventives résistants à l'herbicide (par exemple, il n'y a pas de mesure équivalente au désherbage mécanique dans le cas des insectes).

Les articles qui vont être présentés ici se placent dans un contexte où l'agriculteur utilise un herbicide avec des semences non TH. Autrement dit, aucune analyse économique n'a été réalisée jusque-là pour étudier les effets de la diffusion du gène de tolérance de la VTH à des plantes apparentées. Nous reviendrons sur ce point après avoir présenté la littérature.

### 1. L'arbitrage entre les coûts et les bénéfices liés aux mesures d'accompagnement

Le cadre général pour analyser l'arbitrage dans le temps entre les coûts et les bénéfices de la gestion des résistances a été développé par Hueth et Regev (1974). Ce cadre envisage un agriculteur qui prend des décisions de protection des plantes sur plusieurs années. Ces décisions concernent le niveau d'usage d'un pesticide pour limiter les dégâts causés par un bioagresseur. Un usage intensif diminue la population de bioagresseurs (à court terme comme à moyen terme) mais favorise l'émergence de bioagresseurs résistants à moyen terme. Sur le plan économique, réduire la taille de la population de bioagresseurs génère des gains, mais l'accroissement de la proportion de bioagresseurs résistants génère des pertes car cela se traduit par une réduction de l'efficacité du pesticide. L'analyse consiste alors à optimiser, sur un certain horizon de temps, le bénéfice tiré de l'usage de ce pesticide en prenant en compte l'ensemble de ces effets. La prise en compte de l'apparition de bioagresseurs résistants à moyen terme conduit à réduire l'intensité d'usage de pesticide à court terme.

---

<sup>54</sup> Les mesures d'accompagnements dont on parlera ici sont le plus souvent des pratiques agricoles. L'adoption de ces pratiques par les agriculteurs peut nécessiter, en amont, une activité de conseil spécifique.

L'article de Gorddard et *al.* (1995) est le premier à avoir appliqué ce cadre au cas des herbicides. Les auteurs utilisent un modèle bioéconomique représentant le problème du désherbage du ray-grass sur blé en Australie. L'agriculteur est amené à prendre deux décisions de désherbage chaque année où il produit du blé : un désherbage mécanique et l'emploi d'un herbicide sélectif. De plus, quand la proportion d'adventices résistantes à l'herbicide devient trop importante, l'agriculteur peut basculer vers une autre culture pour laquelle la présence de ray-grass résistant ne pose pas de problème. L'analyse montre que le recours au désherbage mécanique permet de limiter l'usage d'herbicide à court terme, ce qui ralentit le développement d'adventices résistantes, et donc retarde le moment où l'agriculteur abandonne la culture du blé pour une autre culture. Cette analyse a été enrichie par Schmidt et Pannell (1996) qui prennent en compte l'effet des rotations. Ces derniers montrent que le développement de la résistance de l'adventice peut être mieux contrôlé quand l'agriculteur utilise des rotations sur trois (plutôt que deux) cultures, la rotation optimale étant différente selon la nature des sols.

L'article de Weersink et *al.* (2005) étudie la gestion de la résistance au glyphosate dans un contexte où il ne peut être utilisé qu'en pré-levée. La solution qui est étudiée (le "double knockdown") consiste à remplacer l'usage simple du glyphosate par un usage combiné de glyphosate et de paraquat. Les auteurs montrent que cette solution permet de réduire de façon presque certaine l'apparition d'adventices résistantes au glyphosate. Ceci s'explique par le fait que la fréquence initiale de gène de résistance est généralement reconnue comme étant très faible pour le glyphosate, mais aussi par le fait que les quelques plantes résistantes au glyphosate qui pourraient survivre sont éliminées avec le paraquat.

Que peut-on tirer de ces travaux pour le cas de la gestion de la résistance face à un herbicide utilisé en combinaison avec une VTH ? Généralement, ces travaux suggèrent de combiner différentes pratiques de désherbage plutôt que d'en utiliser une seule. Cette stratégie semble assez peu envisageable dans le cas des VTH puisque nous avons vu en section 5.1.1.3.3 que les agriculteurs qui utilisent les VTH sont amenés à abandonner les autres pratiques de contrôle des adventices (ex : adoption du non-labour). Autrement dit, dans les cas sans VTH, l'agriculteur ne dispose que de techniques partiellement efficaces, si bien qu'il est déjà amené à combiner plusieurs techniques. Combiner un peu différemment ces techniques pour mieux gérer les problèmes de résistance des adventices semble assez envisageable. Dans le cas des VTH, l'efficacité est beaucoup plus nette, si bien que l'agriculteur peut abandonner les autres techniques de désherbage. Combiner plusieurs techniques reviendrait à lui faire faire "machine arrière", ce qui apparaît plus difficilement envisageable. La rotation de cultures devrait donc être une solution particulièrement intéressante dans le cas des VTH, à condition de ne pas utiliser de variétés tolérantes au même herbicide sur des cultures successives sur la même parcelle<sup>55</sup>. En tout état de cause, il s'agit là d'hypothèses qu'il serait nécessaire d'étudier de façon plus approfondie.

## 2 Les déterminants de l'adoption de pratiques de gestion de résistance

Llewellyn et *al.* (2007) ont étudié les déterminants de l'adoption de pratiques de gestion de résistance face à un herbicide, à partir d'une enquête auprès d'agriculteurs australiens. L'analyse statistique montre que les agriculteurs adoptent ces pratiques lorsqu'ils sont assez conscients de l'apparition de résistance, et aussi lorsqu'ils estiment qu'il est peu probable que de nouveaux herbicides soient introduits rapidement. Les auteurs montrent également que l'adoption de ces pratiques nécessite d'apporter beaucoup d'information technique à l'agriculteur.

Frisvold et *al.* (2009) réalisent une analyse similaire sur données américaines pour ce qui concerne l'adoption de différentes pratiques de gestion de la résistance face au glyphosate. Les données correspondent à une enquête réalisée à l'automne 2007. Il s'agit donc d'un cas dans lequel la résistance a été développée après l'adoption de VTH. Parmi les 10 pratiques envisagées, les trois pratiques les moins utilisées sont : la réalisation d'un labour, le nettoyage des équipements pour éviter la propagation des adventices résistantes entre champs, et l'usage combiné de plusieurs molécules herbicides. Comme pour l'étude de Llewellyn et *al.* (2007), les auteurs soulignent l'importance du conseil et de l'information apportés aux agriculteurs pour favoriser l'adoption de bonnes pratiques.

---

<sup>55</sup> Aux Etats-Unis, le développement de la résistance au glyphosate s'explique en particulier par le fait que certains agriculteurs ont utilisé des variétés tolérantes au glyphosate sur plusieurs cultures (soja, maïs et coton).

On notera que ces deux études ne mentionnent jamais le comportement des agriculteurs voisins comme étant un facteur important dans l'adoption ou non de pratiques de gestion de résistance. En d'autres termes, tout se passe comme si les externalités entre agriculteurs voisins étaient négligeables. Or, ces externalités existent si le pollen ou les graines d'une adventice résistante se diffusent dans les champs voisins ou si le pollen de la VTH venait à poloniser des cultures ou des plantes apparentées dans les champs voisins. L'importance de ces externalités mériterait d'être évaluée, en particulier dans le cas des VTH où elles peuvent être plus importantes. Si ces externalités sont faibles, alors l'adoption de pratiques de gestion de résistance est principalement un problème de formation et d'information auprès des agriculteurs. Le but est alors de les amener à mieux prendre en compte les bénéfices qu'ils pourront tirer à moyen terme des bonnes pratiques qu'ils vont mettre en place à court terme. En revanche, si ces externalités sont suffisamment importantes, l'agriculteur ne pourra tirer de bénéfice de ses pratiques que si les agriculteurs voisins les adoptent aussi. Il est alors nécessaire de mettre en place soit une coordination au niveau local, soit une réglementation pour s'assurer que les agriculteurs respectent suffisamment bien ces bonnes pratiques. On peut ici se référer au cas de la gestion de résistances des insectes dans lequel les externalités sont importantes à cause de leur mobilité. Ceci a justifié la mise en place aux Etats-Unis d'une réglementation sur les zones refuges pour les OGM résistants aux insectes (Bourguet et al., 2005).

## Références citées

- Bourguet D., Desquilbet M., Lemarie S. (2005). Regulating insect resistance management: the case of non-Bt corn refuges in the US. *Journal of Environmental Management* 76(3): 210-220.
- Frisvold G.B., Hurley T.M., Mitchell P.D. (2009). Adoption of best management practices to control weed resistance by corn, cotton, and soybean growers. *AgBioForum* 12(3/4): 370-381.
- Gorddard R.J., Pannell D.J., Hertzler G. (1995). An optimal -control model for integrated weed management under herbicide resistance. *Australian Journal of Agricultural Economics* 39(1): 71-87.
- Hueth D., Regev U. (1974). Optimal agricultural pest management with increasing pest resistance. *American Journal of Agricultural Economics* 56(3): 543-552.
- Llewellyn R.S., Lindner R.K., Pannell D.J., Powles S.B. (2007). Herbicide resistance and the adoption of integrated weed management by Western Australian grain growers. *Agricultural Economics* 36(1): 123-130.
- Schmidt C.P., Pannell D.J. (1996). Economic issues in management of herbicide-resistant weeds. *Review of Marketing and Agricultural Economics* 64(3): 301-308.
- Weersink A., Llewellyn R.S., Pannell D.J. (2005). Economics of pre-emptive management to avoid weed resistance to glyphosate in Australia. *Crop Protection* 24(7): 659-665.



# Chapitre 6.

## Conclusions de l'ESCo

**Auteurs :**

Michel Beckert

Yves Dessaux

L'expertise scientifique collective menée par l'INRA<sup>1</sup> ne fournit ni avis ni recommandations. Cet exercice a examiné, au vu de la littérature scientifique validée, les bénéfices et les risques liés à l'introduction des VTH dans les systèmes de production. Les conclusions formulées ici sont donc tributaires des sources disponibles analysées, et soumises aux difficultés méthodologiques liées à toute évaluation d'une question systémique et approche pluridisciplinaire.

L'utilisation des herbicides chimiques de synthèse a considérablement facilité la réduction de la concurrence exercée par les adventices sur les plantes de culture, et contribué, avec l'amélioration génétique et celle des itinéraires techniques, à l'augmentation régulière des rendements. Cependant, l'usage des herbicides pose un problème de phytotoxicité pour la culture d'intérêt. L'industrie des produits phytosanitaires a donc recherché des molécules actives permettant de désherber de façon sélective les adventices, en affectant le moins possible la culture. Cette sélectivité n'a pas toujours pu être obtenue, notamment lorsqu'elle concerne une culture et des espèces adventices botaniquement proches.

Depuis quelques années, une alternative à la recherche et à la découverte de nouvelles familles d'herbicides ou d'herbicides spécifiques d'espèces cultivées, consiste à adapter des variétés cultivées aux substances actives existantes. Dans cette logique, l'idée a été de conférer aux espèces cultivées une capacité à tolérer une molécule herbicide, rendant notamment possible son utilisation en post-levée, et l'élimination des adventices sensibles perturbant la culture, sans dommages pour celle-ci.

Les pouvoirs publics et les instances d'évaluation français font actuellement face au développement de cultures de VTH chez certaines espèces et des demandes d'inscription issues de l'exploitation de la variabilité spontanée, ou induite par mutagenèse, au Catalogue officiel des espèces et des variétés cultivées. Dans ce contexte, les pouvoirs publics s'interrogent sur les bénéfices réels et de long terme de l'introduction de VTH, notamment sur la compatibilité de leur utilisation avec l'objectif du plan Ecophyto 2018 de réduction de l'utilisation des pesticides en France.

Par ailleurs, ces VTH non transgéniques commencent à faire l'objet d'une contestation sociale, des opposants aux OGM les suspectant de n'être qu'un contournement de la réglementation encadrant la dissémination des organismes génétiquement modifiés (OGM).

## Les VTH disponibles sur le marché ou en cours de développement

L'ESCo porte sur le trait agronomique de tolérance à un herbicide (TH). Si la technique d'obtention de la VTH importe peu dans la conduite de la culture, elle est déterminante, en amont, par le type d'herbicide auquel elle est associée, et par le statut réglementaire qu'elle confère à la variété.

### Modes d'obtention, espèces et herbicides concernés

Des VTH sont actuellement commercialisées pour les principales espèces de grande culture : maïs, soja, coton, colza, tournesol, betterave, blé, riz, chicorée/endive.

Les herbicides associés aux VTH appartiennent à diverses classes d'herbicides, et possèdent donc des modes d'action différents : l'enzyme-cible qu'ils inhibent dans la plante est en effet caractéristique de la classe. Leur spectre d'activité est aussi plus ou moins large : certains herbicides sont sélectifs, c'est-à-dire efficaces sur certains groupes botaniques seulement (cas des classes A, B et C, par exemple) ; d'autres, dits totaux, sont au contraire efficaces sur l'ensemble des espèces végétales, adventices et cultivées (classes G et H).

Les VTH actuellement commercialisées ont été obtenues par diverses méthodes. En premier lieu, la sélection dite "traditionnelle" exploite la variabilité génétique naturelle. Des mutants spontanés sont repérés au champ, notamment des repousses de culture résistantes à l'herbicide appliqué dans la culture suivante de la rotation, puis la mutation qui confère le caractère est introduite dans une lignée élite par croisements sexués successifs.

---

<sup>1</sup> Et dans le cas présent conjointement avec le CNRS

Les ressources génétiques des espèces cultivées couramment utilisées par les sélectionneurs ne permettent cependant pas toujours d'y trouver des individus présentant la résistance à un herbicide et qu'il est possible d'utiliser comme source du trait et de croiser avec les variétés d'intérêt. Les techniques de transgénèse et de mutagenèse peuvent permettre d'obtenir des VTH par d'autres voies. La transgénèse permet notamment l'insertion dans le génome de la plante cultivée d'un gène d'intérêt prélevé dans un organisme génétiquement trop éloigné pour être croisé avec celle-ci. La mutagenèse engendre une variabilité supplémentaire (induction de mutations par traitement physique ou chimique). Les modifications génétiques que ces techniques induisent ont cependant une composante aléatoire, qui nécessite un important effort de vérification de l'insertion du trait, et de suppression d'une large partie des autres modifications non souhaitées dans le génome.

De nouvelles techniques sont en train d'émerger, elles permettent de produire des modifications ciblées d'un gène d'intérêt, sans modifier le reste du génome de la plante. La recombinaison homologe, outil biotechnologique maintenant disponible chez les plantes, permet ainsi de remplacer un gène par une nouvelle version conférant le trait TH, sans laisser de trace moléculaire de l'opération. Le TILLING – méthode générique permettant d'identifier des plantes porteuses d'allèles mutés pour n'importe quelle séquence génique – devrait quant à lui faciliter l'identification de mutants possédant le trait TH en permettant un criblage précis et rapide des plantes portant le caractère d'intérêt.

Deux mécanismes moléculaires principaux confèrent aux VTH actuellement disponibles sur le marché la tolérance à l'herbicide avec lequel elles sont commercialisées. Certaines variétés sont dotées d'une forme modifiée de la cible moléculaire de l'herbicide, les rendant insensibles (résistance de cible). D'autres ont été rendues capables de dégrader l'herbicide. Ainsi, les variétés Clearfield®, tolérantes à des imidazolinones, résultent de l'introgession de mutations naturelles ou induites leur conférant une tolérance de cible. Il en est de même pour le maïs DUO System®, tolérant au cycloxydime, issu de la sélection de mutations spontanées. Les variétés transgéniques commercialisées sous la marque RoundUp Ready, tolérantes au glyphosate, possèdent aussi une tolérance de cible. Parmi les variétés tolérantes par détoxification de la substance herbicide, les variétés transgéniques de marque LibertyLink® sont dotées d'un transgène d'origine bactérienne, déterminant leur tolérance au glufosinate par métabolisation de cette molécule. Par ailleurs, d'autres VTH existent mais ne sont pas revendiquées comme telles. Ainsi, de nombreuses variétés transgéniques sont porteuses d'un gène responsable de la tolérance à un herbicide, gène utilisé au cours du processus d'obtention, notamment comme marqueur de sélection lors des étapes de la transformation et de la régénération.

Plus récemment, des variétés tolérantes à deux herbicides de classes différentes sont apparues sur le marché. Elles sont issues de transgénèse, et peuvent associer la tolérance simultanée à deux herbicides sélectifs, deux herbicides totaux, ou un sélectif et un total.

## **Mode d'obtention des VTH et statut réglementaire des variétés**

En Europe, toute nouvelle variété doit être inscrite à l'un des Catalogues officiels nationaux des Etats-membres pour prétendre à la mise sur le marché dans l'ensemble de l'Union européenne. Pour obtenir cette inscription, elle doit satisfaire un certain nombre de critères, notamment en termes de qualités agronomiques et technologiques. Par ailleurs, La directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement prévoit en outre des dispositions supplémentaires pour certaines variétés considérées comme génétiquement modifiées. Parmi les techniques permettant actuellement d'obtenir des VTH, la mutagenèse et la transgénèse sont définies par cette directive comme produisant des OGM, mais seules les variétés obtenues par transgénèse entrent dans le champ d'application de la directive, les soumettant à une évaluation environnementale et sanitaire préalable et à l'obligation d'étiquetage des produits.

Cette distinction de deux statuts au sein des OGM est contestée par certains acteurs, qui perçoivent la mise en culture de variétés TH obtenues par mutagenèse comme une façon de contourner la réglementation qui encadre et contraint la culture des OGM en Europe – contestation qui s'est exprimée par plusieurs arrachages militants de tournesols TH issus de mutagenèse. Il faut cependant rappeler qu'un certain nombre de lignées végétales (non-TH) cultivées depuis plusieurs dizaines d'années en France, ceci pour de nombreuses espèces différentes, sont issues de mutagenèse, et qu'elles ne semblent pas avoir fait l'objet de contestations (ex : cas de l'orge).

La distinction évoquée plus haut est par ailleurs interrogée par le développement de nouvelles technologies d'amélioration génétique, à des stades plus ou moins proches de l'application industrielle, qui suscitent une réflexion au niveau communautaire quant au statut réglementaire des variétés qui en seront issues. Parmi elles, les techniques fondées sur la recombinaison homologue, qui ont permis l'obtention de VTH en laboratoire, sont génératrices de plantes ne portant aucune trace moléculaire de la modification autre que la séquence modifiée elle-même, et qui ne peuvent donc pas être distinguées sur cette base de plantes obtenues par sélection traditionnelle ou par mutagenèse. Ce dernier point a des conséquences qui s'étendent d'ailleurs au-delà du "simple" cadre des VTH. Il confronte les autorités compétentes au fait qu'il sera à court terme impossible de disposer de critères et de méthodes qui, en l'absence de déclaration préalable d'un obtenteur, permettraient de déterminer la nature conventionnelle, issue de mutagenèse ou transgénique, d'une variété végétale. Consciente de cet enjeu, l'union européenne, par le biais du "Joint Research Centre - Institute for Prospective Technological Studies" s'est saisie de la question. Le récent rapport publié par cet institut indique ainsi qu'une réflexion est en cours concernant la dénomination des variétés qui proviendront de l'usage de ces nouvelles technologies, particulièrement en regard de l'impossibilité de détection évoquée plus haut. Cet argument est par ailleurs déjà mis à profit par des laboratoires partenaires d'améliorateurs variétaux pour revendiquer que les variétés issues de recombinaison homologue ne soient pas considérées comme des OGM au sens de la directive 2001/18/EC.

## Commercialisation des VTH et adoption par les agriculteurs

### Les stratégies des firmes sur le marché des VTH

Du côté de l'offre commerciale de VTH, les stratégies des firmes obtentrices ont majoritairement été étudiées dans la littérature de manière théorique, et ce dans le contexte du marché nord-américain. Contrairement au cadre législatif européen qui prévoit la protection industrielle d'une variété par Certificat d'Obtention Végétale (COV), assorti éventuellement d'un brevet sur un trait génétique particulier, le cadre américain permet de breveter les variétés elles-mêmes ; le brevet a été largement adopté par les firmes obtentrices car il leur accorde une protection plus étendue que les protections de type COV.

L'utilisation couplée de la VTH et de l'herbicide associé crée sur le marché un lien entre la demande de semences et la demande d'herbicides. Les firmes qui ont développé des VTH sont le plus souvent des entreprises du secteur phytosanitaire, qui possédaient déjà ou ont acquis une filiale semencière. Toutefois, afin d'accroître leurs ventes de l'herbicide, elles ont généralement intérêt à aussi accorder des licences non exclusives d'exploitation du trait TH à d'autres semenciers.

Lorsque la firme perd le monopole sur la molécule herbicide (cas du glyphosate dont le brevet a expiré en 2000), elle conserve la possibilité de réaliser des profits sur la vente de la semence TH. Pour "préserver" sa place sur le marché de l'herbicide, elle pourrait être tentée par des pratiques de vente dite "liée" (achat de la semence conditionné à celui de l'herbicide), mais celles-ci enfreindraient les lois de la concurrence. La firme tend donc plutôt, pour limiter la concurrence des herbicides génériques, à différencier ses formulations commerciales et/ou à offrir aux utilisateurs du trait TH des garanties plus fortes s'ils emploient "son" herbicide.

### Une adoption rapide à l'échelle mondiale

En termes de surfaces cultivées, les VTH les plus représentées à l'échelle mondiale sont des variétés transgéniques, apparues dans les années 1990. Ainsi aux États-Unis, aujourd'hui, environ 70% des surfaces cultivées en coton, 75% des surfaces cultivées en colza, 90% des surfaces cultivées en soja, et la quasi-totalité des superficies de soja en Argentine sont cultivées avec des variétés Roundup Ready. Ces variétés ont d'ailleurs fait le succès agricole des cultures transgéniques, au point que le trait TH est le trait aujourd'hui le plus représenté chez les variétés transgéniques à l'échelle mondiale, et ce depuis leur introduction en 1996 : ces VTH représentaient 83% des cultures transgéniques en 2010 (soit environ 122 millions d'hectares (Mha) en incluant les variétés possédant un ou plusieurs autres caractères transgéniques), majoritairement situées aux USA, en

Argentine et au Brésil. En France les VTH inscrites ou qui sollicitent l'inscription au Catalogue français (notamment maïs, tournesol, colza) n'ont pas été obtenues par transgénèse mais par sélection variétale à partir de mutants spontanés ou induits.

Les données quantitatives et qualitatives concernant la diffusion des variétés tolérantes à un herbicide sélectif sont (surfaces cultivées) en revanche très peu nombreuses et proviennent principalement des firmes obtentrices. Dans le seul cas documenté où ces variétés ont été autorisées en même temps que des variétés tolérantes à un herbicide total (cas par exemple, du colza de printemps au Canada), leur diffusion semble avoir été limitée, les variétés RR® et LL® ayant rapidement conquis la majorité des parts de marché.

## Les raisons de l'adoption de VTH

Dans les principaux pays où des VTH sont cultivées, on a constaté de façon générale une adoption assez forte et rapide de ces variétés par les agriculteurs. A priori, une augmentation des rendements liée à l'amélioration de l'efficacité de désherbage pourrait constituer un motif majeur d'adoption des VTH. Or si elle est mise en avant par les firmes qui commercialisent les VTH, cette augmentation du rendement n'est pas systématiquement vérifiée. D'autres éléments ont donc motivé l'adoption de VTH par les agriculteurs. La littérature permet d'identifier 4 principaux intérêts attendus des VTH :

- un élargissement du spectre des adventices contrôlées par rapport aux herbicides sélectifs classiquement utilisés en système non-TH, et notamment une efficacité sur les espèces apparentées aux cultures, les espèces envahissantes, les espèces parasites ;
- une facilitation du travail de l'agriculteur, par la réduction du nombre de traitements herbicides et la souplesse d'emploi du traitement en post-levée, et par l'abandon du labour, voire de tout travail du sol, que facilite la stratégie TH ; cet itinéraire technique de culture simplifié, reposant en principe sur un traitement limité en post-levée, permet théoriquement d'économiser des passages d'engins et donc du carburant ; cette flexibilité accrue se retrouve dans l'usage d'une seule molécule et dans la possibilité de désherber sur des périodes plus longues ;
- la réduction des quantités d'herbicides utilisées permise par la substitution de programmes herbicides par une unique molécule, et l'adaptation des quantités épandues en fonction des adventices effectivement présentes ;
- la sécurisation du désherbage et la diminution des risques de pertes de rendement induites par la concurrence des adventices, ainsi qu'une certaine assurance de réussite de la culture, en l'absence d'effet toxique des herbicides sur les VTH, y compris en raison de la présence de résidus d'herbicides utilisés précédemment dans les sols ou dans les mulchs.

A quelques exceptions près, relativement limitées, les principaux traits de qualité des produits issus des récoltes de cultures TH sont sensiblement équivalents à ceux des produits issus de lignées classiques non tolérantes.

Sur le terrain, les enquêtes auprès des agriculteurs ayant adopté des VTH constituent un moyen d'identifier a posteriori les motifs de ce choix. Les seules enquêtes disponibles ont été réalisées auprès de cultivateurs nord-américains de VTH RR®. Les premières études révèlent que les gains de rendement attendus, qui pouvaient a priori expliquer le choix d'une VTH, n'ont été confirmés que lorsque les difficultés de désherbage antérieures affectaient le rendement. Les travaux ultérieurs sur les raisons de l'adoption des VTH permettent de conclure sur 2 points principaux :

- en termes de coût, on observe d'une part un surcoût lié au prix des semences, sans que celui-ci semble constituer un frein majeur à l'adoption des VTH, tout au moins pour ceux des agriculteurs qui les ont adoptées. D'autre part, on constate un moindre coût des herbicides, minoré par l'ajustement de la concurrence économique entre les différentes molécules et par l'évolution des formulations, phénomène principalement observé dans le cas du glyphosate. L'analyse économique fait ressortir que les économies de coût dans la gestion des adventices (tant directs – prix des herbicides –, qu'indirects – flexibilité et économie de temps de travail), au moins à court terme, constituent un motif majeur d'adoption ;
- un couplage fort est observé entre adoption d'une VTH et simplification du travail du sol. La mise en œuvre conjointe des deux techniques est d'ailleurs favorisée dans les régions sensibles à l'érosion, où l'abandon du labour bénéficie d'incitations financières (Etats-Unis). Le succès commercial du soja TH RR® en Argentine s'explique par la possibilité offerte par les VTH de mettre en œuvre efficacement le semis direct. Cependant, au

plan économique, les analyses réalisées ne mettent pas en évidence de sens préférentiel de causalité qui permettrait d'expliquer l'adoption de l'une des 2 technologies par le choix de l'autre.

Outre le profil des agriculteurs utilisant les VTH (grandes exploitations, niveau d'éducation), l'adoption n'apparaît d'ailleurs pas comme un choix isolé mais comme une adoption collective par effet de voisinage, au sens de choix simultanés rassurant les agriculteurs eux-mêmes. L'attachement des agriculteurs au "champ propre", valeur manifestant une éthique du paysage et une qualité de "bon manager de l'espace", est également cité comme élément facilitant l'adoption des VTH.

Récemment, une certaine remise en cause des bénéfices décrits ci-dessus est apparue dans la littérature économique, du fait de l'apparition d'adventices résistantes (voir plus bas). Environ la moitié des agriculteurs utilisant des VTH se disent conscients de l'existence de ce phénomène, et certains auteurs estiment qu'il est déjà suffisamment important pour remettre en question la pérennité de l'innovation. Des interrogations sur de nouvelles méthodes palliatives à mettre en place, suite à ce phénomène (multiplication de traitements, augmentation des doses, travail du sol renforcé, empilement de résistances, etc.) se font jour. Il reste cependant difficile de conclure sur l'efficacité économique de long terme, la remise en cause du modèle dominant (VTH transgénique / USA) pouvant devenir une réalité si un développement des adventices résistantes continue significativement.

Les conclusions présentées plus haut sont, le résultat d'analyses de données portant essentiellement sur le contexte nord-américain, obtenues dans des systèmes de production agronomique déjà très simplifiés, voire simplifiés à l'extrême. La question de leur transposition à l'Europe se pose, en particulier sur des successions de cultures et des itinéraires techniques parfois plus complexes qu'en Amérique du nord. La bibliographie actuellement disponible ne relate que peu d'expériences d'introduction de VTH dans des systèmes de production en contexte européen.

## Un risque spécifique : la diffusion dans l'espace et le temps du trait TH

Si l'apparition des variétés transgéniques a fait émerger la question de l'échappement du transgène au-delà de la culture, cette problématique se pose également de façon générique pour tout caractère agronomique introduit chez une variété, que celle-ci soit issue de transgénèse ou non. Les risques associés à ce phénomène sont la contamination des cultures voisines et la dispersion incontrôlée et naturelle hors et dans des zones cultivées. Le caractère problématique de cet échappement dépend du trait agronomique considéré. Dans le cas du trait TH, la diffusion de ce caractère hors de la variété cultivée peut conduire à l'apparition de populations adventices ou férales tolérantes à l'herbicide, et poser de nouveaux problèmes de désherbage.

Cette diffusion du trait peut se produire par le biais :

- des semences produites par la VTH et ses descendants : persistance par les repousses dans la parcelle même, dissémination dans les parcelles voisines et hors des champs (installation de populations férales) ;
- du pollen de la VTH et de ses descendants : fécondation de cultures non TH et hybridation avec des adventices apparentées proches.

En ce qui concerne les **repousses**, leurs occurrences varient largement selon les espèces considérées. Celles-ci sont, en France, inexistantes ou presque chez le maïs et le blé, et ce en grande partie pour des raisons physiologiques (viabilité de la semence), agronomiques (période de levée) et climatiques (sensibilité au gel). Chez le **colza**, les repousses sont à l'opposé fréquentes et abondantes dans les parcelles. La dissémination des semences peut aussi donner lieu à l'installation de populations férales au dehors des champs.

Les travaux de modélisation et les suivis de culture de colza transgénique aux USA révèlent les transferts des gènes étudiés, et donc la migration inévitable du caractère TH vers des populations férales de colza, hors des parcelles cultivées, essentiellement en raison de la persistance des graines dans le sol. Dans ce cas, la gestion des repousses est donc critique pour éviter le développement de populations férales résistantes aux herbicides.

Les **flux de gènes par le pollen** et leurs conséquences dépendent de la biologie florale des espèces cultivées, de l'existence d'espèces inter-fertiles, et de la fertilité des hybrides qui peuvent en résulter. Ils dépendent aussi

de la simultanéité de leurs périodes de reproduction avec celle de l'espèce cultivée. En France, une situation de risque élevé de flux de gènes se rencontre avec le **colza**, la **betterave** et le **tournesol**. Dans le cas du colza, de nombreuses crucifères apparentées existent ; elles sont inter-fertiles et présentent des périodes de reproduction concomitantes avec celle du colza cultivé. Pour la betterave, si les cultures pour la production de racine ne fleurissent pas, des flux de gènes vers la forme adventice, induisant l'acquisition du trait TH, sont en revanche possibles dans les parcelles en production de semences. Pour le tournesol, le risque d'hybridation concerne essentiellement les tournesols "sauvages", formes adventices déjà présentes dans les parcelles. Plus les adventices sont proches botaniquement de la culture, plus les VTH paraissent intéressantes comme solution de désherbage sélectif de la culture, mais plus les fréquences de transfert du trait TH sont élevés.

Dans le cas du maïs en Europe, la transmission du trait TH n'est possible que par le pollen. Elle ne peut avoir de conséquences indésirables que si celui-ci féconde des variétés non TH, et ce, dans l'hypothèse où l'on souhaiterait établir une séparation de filières de consommation. Des distances d'isolement de quelques dizaines de mètres ainsi que le détournement d'une bande de plusieurs mètres des champs cultivés, pourraient permettre de réduire la probabilité de tels croisements, et donc de limiter la proportion d'hybrides dans les récoltes.

D'une façon générale, une dispersion du trait TH ne devrait pas modifier de manière essentielle le comportement des adventices devenues tolérantes hors pression de sélection liée à l'usage de l'herbicide. En effet, l'expression des caractères de tolérance induit le plus souvent des effets négatifs sur la croissance des hybrides, à une exception notable (croisement colza x navette), ce qui permet d'imaginer leur disparition et celle de leurs descendants en l'absence d'une pression sélective favorisante. La situation sera probablement toute autre en présence de l'herbicide ; dans ce cas le risque de voir se développer des repousses, des populations férales et/ou hybrides tolérants est élevé,

Diverses options biologiques (ex. décalage dans le temps des périodes de floraison) ou biotechnologiques (ex. insertion du transgène dans l'ADN des chloroplastes, qui ne sont pas transmis par le pollen...) ont été proposées pour réduire la probabilité de transfert du gène de tolérance par reproduction sexuée ; aucune ne permet cependant d'éliminer totalement ce risque de transfert vers les adventices apparentées.

## Un phénomène générique : les dérives de flore et l'apparition de résistances

Chaque changement d'herbicide ou de pratique de désherbage conduit à une adaptation et une évolution du cortège d'espèces constituant la flore des parcelles, générant potentiellement des problèmes nouveaux pour l'agriculteur. L'ESCo s'est attachée à évaluer à quel point ce phénomène d'évolution de la flore peut être plus ou moins exacerbé en système TH, et peut remettre en cause la durabilité du système de culture.

En premier lieu, l'évolution de la composition spécifique de la flore adventice est une conséquence de l'élimination efficace d'espèces auparavant problématiques, ce qui libère une niche écologique pour des espèces moins sensibles à l'herbicide. Si ce phénomène de "**dérive de flore**" est évident avec un herbicide sélectif, qui par définition n'est pas actif contre toutes les familles botaniques, il existe également avec un herbicide "total", dont l'application sélectionne les espèces naturellement moins sensibles ou qui se développent après la période d'efficacité de l'herbicide. Ainsi, des adventices qui n'étaient pas auparavant des espèces déterminantes dans le désherbage des cultures conventionnelles sont devenues préoccupantes dans le soja, le maïs ou le coton tolérants au glyphosate. Les espèces susceptibles de bénéficier de cette nouvelle situation dépendent aussi des caractéristiques pédologiques et hydriques, qui peuvent conditionner le type de flore présente. Il est impossible d'anticiper précisément ce phénomène sans avoir de modèles démographiques ni de base de données spécifiques sur la sensibilité des espèces aux différents produits, aux différents stades de croissance et sous des conditions climatiques et édaphiques particulières.

En second lieu, l'adaptation de la flore adventice sous l'effet de la pression sélective exercée par l'herbicide conduit au **développement spontané d'adventices résistantes**, quel que soit le mode d'apparition de la résistance. Ce phénomène est bien connu, observé depuis longtemps pour toutes les classes d'herbicides et repéré à ce jour chez 200 espèces végétales. La vitesse d'apparition puis d'expansion des adventices résistantes varie selon le mode d'action de l'herbicide, ses modalités d'applications (nombre et doses), selon la taille des populations adventices traitées, selon les surfaces concernées... En France par exemple, plus d'une vingtaine de

biotypes sauvages étaient déjà répertoriés en 1997 comme étant résistants à une ou plusieurs molécules d'herbicides utilisées largement dans les systèmes de culture classiques.

L'apparition et l'expansion de telles résistances n'est pas une conséquence spécifique de la culture des VTH, mais peuvent être amplifiées par les conditions d'utilisation de l'herbicide en système TH. Cependant, dans le cas du glyphosate, son emploi massif dans des cultures TH (Roundup Ready®) à partir des années 1990 a accéléré l'évolution de la résistance à cet herbicide en Amérique. Actuellement au niveau mondial, 21 espèces présentent des populations résistantes au glyphosate. Pour d'autres modes d'action au contraire, l'acquisition de résistances, plus fréquente est liée à une utilisation antérieure à large échelle qui a induit le développement de nombreux mutants résistants avant l'introduction de VTH. Le phénomène est particulièrement marqué pour les classes A, B et C, qui ont pu donner lieu à la création de VTH à partir de mutations spontanées. Les variétés tolérantes à ces herbicides sélectifs, dans des conditions d'usage massif, sont donc celles qui seront les plus rapidement confrontées au développement d'adventices résistantes, et ce d'autant plus que les herbicides concernés sont déjà largement utilisés hors systèmes de culture ayant recours aux VTH. Ainsi, dans le monde, 109 espèces présentent des résistances aux herbicides inhibiteurs de l'acétolactate synthase (notamment aux imidazolinones et/ou aux sulfonyl-urées). En France, ces herbicides sont déjà très largement utilisés en grandes cultures, et la résistance à ces molécules atteint déjà un niveau préoccupant pour quelques espèces. L'introduction, et la culture à large échelle, de variétés de nouvelles espèces tolérantes à ces herbicides (par exemple tournesol et colza) et l'évolution associée des pratiques de désherbage augmente potentiellement, dans l'espace et le temps, la pression de sélection sur les espèces ciblées qui n'ont pas encore acquis de résistance et contribue à l'extension de la résistance au sein des espèces adventices chez lesquelles elle a déjà évolué. Un élargissement de la pression de sélection à de nouvelles espèces d'adventices est également une possibilité.

Les changements de pratiques souvent associés à l'adoption des VTH – notamment la simplification ou l'abandon du travail du sol – peuvent contribuer à renforcer ces deux effets puisqu'il est avéré que l'abandon du labour entraîne rapidement une augmentation de la présence des adventices, surtout graminées et espèces pérennes, et des repousses des cultures. Du fait de l'augmentation des populations d'adventices qui subissent le désherbage, la sélection de plantes résistantes aux herbicides s'opère alors sur un plus grand nombre d'individus, ce qui a pour effet d'accroître la probabilité d'aboutir à la production d'une adventice résistante. Cette sélection sera d'autant plus rapide que les mêmes herbicides sont utilisés dans toutes les cultures de la rotation, et que ces cultures ont des périodes de croissance similaires, favorables au développement de la même flore. Ces phénomènes sont bien étayés par les observations faites en Amérique du Nord essentiellement (abandon travail du sol), mais aussi en Europe (abandon du labour).

## Plus ou moins d'herbicide ?

Tous les éléments présentés plus haut amènent à se poser une question centrale dans cette étude : l'adoption des VTH conduit-elle à une réduction de l'usage des herbicides ? En effet, à court terme, la substitution d'un programme de désherbage comportant plusieurs produits sélectifs par un seul herbicide à large spectre induit potentiellement une réduction des doses pour une même efficacité.

L'analyse de la situation dans le continent américain confirme qu'en général l'adoption des VTH se traduit par un désherbage avec le seul herbicide total associé, en lieu et place de plusieurs herbicides spécifiques. Cette substitution de molécules actives est un phénomène clef lié à l'adoption des VTH, qui s'accompagne généralement d'une diminution de la quantité utilisée sur de courtes périodes (de 1 à 3/5 ans) après l'adoption des VTH. Ainsi, il apparaît aux USA une économie de 10% des doses d'herbicides agricoles utilisés en lien avec l'adoption de VTH transgéniques (de type Roundup Ready®). Toutefois, l'analyse des consommations réelles montre qu'à moyen terme (de 3 à 10/13 ans), cet avantage de moindre quantité épandue varie selon l'espèce cultivée et peut disparaître. Plusieurs études récentes indiquent ainsi une tendance générale à l'augmentation de la consommation d'herbicides dans les cultures TH : le différentiel de consommation d'herbicides entre cultures RR® et non-TH, initialement en faveur des VTH, régresse en quelques années jusqu'à devenir défavorable pour le soja et le coton.



Toujours aux USA, ce surcroît d'utilisation d'herbicides se traduit au niveau des quantités employées mais également en termes de diversité des molécules utilisées, puisque les pratiques culturales mises en œuvre ont conduit à l'apparition d'adventices résistantes (voir section ci-dessus), difficiles à éliminer. Ce phénomène induit assez systématiquement une augmentation des doses d'herbicides utilisées et/ou un accroissement du nombre des traitements et/ou un **recours curatif à des traitements herbicides supplémentaires**.

Les pratiques phytosanitaires associées à l'adoption de variétés tolérantes à un herbicide sélectif sont peu documentées au niveau mondial. Avec ces variétés, la réduction d'utilisation d'herbicides n'est d'ailleurs pas nécessairement visée : la VTH peut permettre de compléter un désherbage classique de pré-levée pour remédier à un problème particulier. En France, la prise en compte du phénomène d'apparition inéluctable d'adventices résistantes conduit certains obtenteurs et les instituts techniques à recommander aux agriculteurs d'accompagner l'introduction de VTH Clearfield® ou ExpressSun® dans la rotation, d'un **emploi préventif**, en mélange ou successivement, **de plusieurs substances herbicides**, stratégie dont l'intérêt a été établi par des études théoriques. Ainsi, sont préconisées, dès la première année de culture, la rotation des modes d'action et l'adoption de programmes herbicides (comportant l'application de plusieurs produits), sur la VTH elle-même (maintien d'un traitement complémentaire de pré-semis ou pré-levée à base d'herbicides classiquement utilisés sur les variétés conventionnelles), ainsi que sur les céréales en rotation avec la VTH. Si ces recommandations sont suivies dans les exploitations, elles induiront une augmentation immédiate du nombre de traitements herbicides sur l'ensemble de la rotation, annulant le bénéfice annoncé par un possible traitement unique en post-levée. De plus, cette stratégie de traitement avec un mélange de 2 classes est même inappropriée lorsqu'une résistance à l'une des classes préexiste dans les flores cibles présentes (le mélange conduit alors à l'acquisition de la double résistance parmi les individus déjà dotés d'une résistance).

Au-delà de la question de l'intérêt technique de ces VTH, liée au problème du désherbage, une augmentation des doses et du nombre de molécules utilisées pour la culture accroît la probabilité d'un impact pour les espèces non cibles, animales, algales, ou microbiennes, et renforce entre autres le questionnement relatif aux impacts des mélanges de molécules actives sur ces populations non cibles. Cette augmentation des doses et du nombre de traitements, pose également la question de la "rentabilité" de long terme de telles cultures pour l'exploitant agricole puisque, on l'a vu plus haut, un des déterminants forts de l'adoption des VTH est la réduction des coûts et simplification des pratiques associées au programme de désherbage.

## La contamination chimique des milieux

L'examen de la littérature a permis de répertorier différentes conséquences de l'usage des VTH, qui ne sont - pour la plupart - pas liées à la variété en elle-même, mais à l'usage des herbicides qui y sont associés. Le risque de contamination chimique du sol et des eaux, déjà existant dans des conditions d'usage hors système VTH, pourrait être plus élevé dans un contexte d'adoption massive de VTH, en raison de l'amplification consécutive de l'usage de ces herbicides ("scale up"), tant en quantités d'herbicides utilisées par unité de surface qu'en taille des surfaces traitées. Il ne s'agit pas des doses d'herbicides "toutes molécules confondues", mais de celles du ou des quelques herbicides associés à ces VTH. Or on a pu constater que dans les pays du continent américain où ces lignées sont disponibles, elles ont été massivement et rapidement adoptées, se substituant complètement aux variétés antérieures sur un pas de temps de 10 à 15 ans, et faisant évoluer de manière concomitante les stratégies de désherbage. Ce phénomène de substitution de molécules actives pourrait conduire à l'apparition d'effets secondaires qui étaient restés jusque-là très limités voire non mis en évidence.

En lien avec ce qui précède, il convient de rappeler que seuls quelques pour cent des volumes de solutions d'herbicides dispersés sur les parcelles seront *in fine* absorbés par les végétaux, le reste étant dispersé dans l'air, ou se déposant sur le sol. Les molécules herbicides utilisées avec les VTH proposées aujourd'hui sont en majorité très solubles dans l'eau. Elles sont donc susceptibles d'être entraînées par ruissellement vers les cours d'eau, ou de contaminer les nappes d'eau souterraines par infiltration dans les sols. Certains herbicides, même peu volatiles, sont aussi retrouvés dans l'air, certes à des doses faibles, possiblement en lien avec la dispersion des aérosols lors des pulvérisations.

L'accumulation dans l'environnement des herbicides, voire leur concentration dans les chaînes trophiques, peut bien sûr engendrer des impacts écologiques et écotoxicologiques notables. Deux points méritent d'être soulignés. Le premier est que ces herbicides subissent dans le milieu des modifications chimiques (ex. photolyse) et biologiques (ex. biodégradation) qui engendrent des dérivés parfois plus écotoxiques et persistants que les molécules d'origine. De plus, si les prévisions de rémanence dans l'environnement déduites des mesures réalisées au laboratoire sont le plus souvent cohérentes avec la réalité du terrain, les suivis de terrain ont cependant révélé que le devenir de certaines molécules en conditions réelles peut diverger de ces prévisions. Cette divergence entre systèmes modèles et réalité du milieu naturel est d'autant plus marquée que les rapports entre percolation et lessivage varient d'un type de sol à l'autre, d'une région à l'autre, etc. Le cas de l'atrazine et celui de l'AMPA, métabolite dérivé du glyphosate, sont emblématiques puisque les rémanences mesurées sont très supérieures aux rémanences calculées d'après les valeurs obtenues en laboratoire.

Le deuxième point concerne les résidus d'herbicides dans les végétaux traités. Cette question se pose de façon spécifique dans le cas des VTH, étant données les conditions d'application particulières des herbicides associés et des mécanismes de tolérance : traitement appliqué en post-levée sur une plante déjà bien développée, mécanisme de dégradation ou accumulation possible de la substance herbicide dans la plante. A ce sujet, l'ESCo souligne que très peu de données issues de littérature scientifique existent sur ce sujet. Si les instances autorisant l'usage d'un herbicide sur une espèce cultivée disposent probablement de ces données au travers des dossiers d'homologation, elles ne sont cependant pas facilement accessibles.

## Effets sur les espèces non cibles : des questions de recherche en suspens

*A priori*, l'introduction d'une VTH, en remplacement d'une variété non-TH de la même espèce, se traduit par :

- le développement d'une plante dont le métabolisme peut être légèrement différent du fait de la possession d'un trait génétique particulier ;
- l'application d'un herbicide à large spectre après la levée des adventices ;
- une évolution/adaptation du système de culture, avec notamment l'accentuation de la simplification du travail du sol, en cours depuis plusieurs années pour réduire les coûts de production ou la charge de travail.

Les effets directs éventuels de plantes possédant le trait TH sur la biodiversité sauvage ont fait l'objet de peu de travaux, bien qu'en théorie, l'introduction du trait TH dans une variété puisse s'accompagner d'autres effets non désirés sur le génome, se traduisant par des différences phénotypiques inattendues (voir Chapitre 1). Aucune différence de comportement des pollinisateurs entre variétés TH et non-TH n'a été mise en évidence, mais ces études restent très rares, leur robustesse méthodologique parfois questionable, et seuls les colzas résistant au glufosinate ou au glyphosate en ont fait l'objet. Il n'est donc pas possible de conclure, sans réserve, à l'absence d'impact détectable des VTH sur ces insectes.

Globalement, les connaissances relatives aux effets non intentionnels propres aux variétés TH sur leur environnement apparaissent lacunaires. Les effets directs et indirects sur la flore, des herbicides et des pratiques agricoles associés aux VTH, ont fait l'objet d'études plus nombreuses, sur une plus large gamme d'espèces cultivées. La plus significative est la série de relevés effectués dans le cadre des Farm Scale Evaluations, entre 1999 et 2003. Comme dans toute parcelle cultivée, l'usage d'herbicides entraîne une diminution de la banque de graines du sol et en modifie la composition. Dans le cas de la culture de VTH, bien que certaines des pratiques agricoles associées puissent favoriser le développement des adventices (voir Chapitre 4), les effets des herbicides à large spectre semblent plus forts que ceux des pratiques culturales, expliquant que la flore adventice des parcelles cultivées avec des variétés TH présente une diversité spécifique plus faible que dans les parcelles non TH. Il faut ajouter que le développement inévitable d'adventices résistantes conduit à l'application de traitements herbicides supplémentaires en pré-levée. La toxicité des herbicides sur la faune inféodée aux territoires agricoles n'a pas été largement étudiée, mais à quelques exceptions près, les herbicides utilisés avec les VTH ne semblent pas avoir d'effets directs majeurs sur ces organismes. Par ailleurs, la présence d'herbicides n'entrave pas le fonctionnement global de l'écosystème microbien ni le niveau d'activité des grandes fonctions

associées aux microorganismes. Néanmoins, ces molécules sont susceptibles de perturber certains des équilibres microbiens des sols.

Cette expertise rappelle le manque de données qui permettraient de mieux apprécier l'impact écotoxicologique réel des herbicides, que ce soit aux doses actives utilisées au champ, ou sous forme de traces, par exemple sous forme de résidus sur les surfaces végétales. En effet, les questions des effets liés : aux expositions chroniques aux faibles doses ; à la combinaison matière active / adjuvants ; aux "cocktails" de molécules herbicides ; aux phénomènes d'accumulation des molécules herbicides dans la chaîne trophique, restent en suspens car la littérature relative à ce sujet reste extrêmement limitée.

La culture des VTH exerce donc un effet majoritairement indirect sur la faune, conditionné par l'efficacité du contrôle des adventices : la réduction de la diversité spécifique et la spécialisation de la flore qui constitue une ressource trophique entraîne la diminution des animaux consommateurs de graines et de plantes, se répercutant sur les taxons situés plus haut dans la chaîne alimentaire. A cet égard, la culture de VTH entraîne une diminution de la diversité de la faune plus importante que dans les parcelles non TH équivalentes.

Les questions abordées dans cette section s'inscrivent en grande partie dans le cadre des phénomènes susceptibles d'engendrer une érosion de la biodiversité. Parmi les éléments importants à prendre en compte et pourtant peu documentés, figure la question récurrente des "témoins", ou en d'autres termes celle de la définition d'un état initial et d'équilibre d'un écosystème.

## La pérennité agro-économique du système de culture impliquant des VTH

L'ensemble des données analysées dans l'ESCo montre les limites de l'usage de VTH et des herbicides associés. Les raisons en sont multiples mais restent essentiellement liées aux questions de dérives de flore et d'apparition de populations adventices résistantes, évoquées plus haut, en relation avec la durabilité agronomique et économique du système de culture. Ces phénomènes ont cependant été mis en évidence en conditions essentiellement nord-américaines, c'est-à-dire dans des systèmes de culture très simplifiés, ce qui pose la question de leur transposition aux systèmes de culture européens et français. Or, bien que les systèmes de culture européens soient plus diversifiés, la tendance actuelle est à leur simplification, à la fois en termes de raccourcissement des rotations, et de simplification du travail du sol – déjà à l'origine de difficultés de désherbage.

A partir des conclusions des études portant sur les VTH dans des systèmes de culture américains, et en raisonnant *a contrario*, d'autres scénarios d'utilisation des VTH restent cependant envisageables et demanderaient à être plus explorés. Ainsi un recours temporaire, localisé et raisonné à des VTH, réservé à la gestion de situations particulières de désherbage problématique, peut constituer une solution technique. Les VTH utilisées de manière raisonnée et intégrée à d'autres pratiques, constitueraient alors un élément d'enrichissement de la palette des outils agronomiques à la disposition des agriculteurs.

Il paraît également important de souligner que la technologie VTH, comme d'autres technologies lourdes, pourrait conduire à une réduction de la biodiversité cultivée. En effet, la mise en place de cette innovation est coûteuse en termes d'investissement en recherche, et de temps de développement des variétés. Il existe donc un risque de concentration des efforts d'amélioration variétale sur un plus petit nombre d'espèces, probablement celles de très grande culture, et peut-être également sur un petit nombre de variétés "élites". Ce scénario se double de la possibilité de voir les VTH remplacer à terme complètement les variétés conventionnelles (réduction de la biodiversité cultivée intraspécifique) selon des stratégies de firmes liées à la protection du trait TH ou de l'herbicide par un brevet, comme cela est déjà observé sur des marchés où la demande de variétés conventionnelles reste faible en raison de problèmes de désherbage importants. Ceci aurait pour conséquence de réduire les possibilités de choix permettant aux agriculteurs de réaliser des rotations diversifiées.

La pérennité économique du système de culture incluant des VTH pourrait également être remise en cause en regard d'un coût potentiel associé à l'éventuelle création de filières spécifiques aux variétés TH et non-TH, et dans l'hypothèse où ce coût ne serait pas compensé par une création de valeur. L'observation du cas des OGM indique d'ailleurs que cette séparation repose sur deux éléments fondamentaux, à savoir : (i) l'idée de permettre

au consommateur un libre choix des produits qu'il achète, et (ii) l'exigence d'une traçabilité des produits, devenue obligation légale. Cette dernière est un outil de transparence, de gestion des risques et d'information vis-à-vis de la société. C'est également un moyen d'imputation de responsabilité. A l'heure actuelle, il n'existe cependant pas de réglementation spécifique aux VTH, ni de demande explicite pour la création de filières séparées si ce n'est celle qui conditionne l'usage et la commercialisation des OGM. Si une telle demande émergeait, il serait possible de s'appuyer sur les dispositions relatives aux OGM, pour lesquelles différentes stratégies permettent d'envisager une coexistence au champ existant (exemples : instauration de distance d'isolement fixe, mise en place de zones tampons, c'est-à-dire zone non OGM autour de zones OGM avec possibilité de mettre en place un marché des zones tampons, auto-organisation au niveau local vers la construction de zones de culture homogènes). Dans cette hypothèse, il resterait à déterminer si le coût associé doit être pris en compte par une chaîne de valeurs qui crée un surplus de valeur, ou, de manière plus large, par la société.

## Les VTH dans le contexte français

Si l'analyse du cas nord-américain a mis en évidence des risques associés à une culture massive de certaines VTH, ces résultats ne sont pas directement transposables à la situation française. Les implications d'une éventuelle diffusion significative de VTH en France sont à raisonner en fonction des caractéristiques actuelles des systèmes de culture, mais aussi des évolutions en cours susceptibles de favoriser l'adoption des VTH ou d'influer sur ses conséquences. Ces effets dépendront également du type de VTH concernées.

Le contexte social (perception des innovations biotechnologiques par la société) et le cadre réglementaire distinguent aussi les cas américain et européen. En Amérique, les OGM n'ont pas rencontré d'opposition significative, et les VTH transgéniques se sont développées depuis une quinzaine d'années. En Europe au contraire, et particulièrement en France, le contexte social n'est pas favorable aux OGM, et le conflit qui s'est développé à leur propos a conduit à encadrer leur évaluation préalable et leur éventuelle mise en culture, et à limiter pour l'instant le nombre de variétés transgéniques inscrites dans les catalogues communautaire et français. Récemment, les controverses autour du "dossier OGM" ont fortement évolué en France et dans d'autres pays européens, pour basculer de façon probablement irréversible d'une logique d'opposition vers une logique de conflit, qui fait que le discours sur les OGM est maintenant stabilisé autour de positions clivantes. Celles-ci reprennent en partie les oppositions qui existent entre une agriculture dite productiviste et une agriculture se revendiquant comme "paysanne" et cherchant à valoriser les services fournis par les écosystèmes.

Actuellement, 2 variétés de maïs transgéniques TH sont inscrites au Catalogue européen ; en France, leur culture n'est pas interdite par un moratoire mais l'herbicide auquel elles sont tolérantes n'est pas homologué pour cet usage. Les seules VTH cultivées et en cours d'inscription sont donc non transgéniques. Elles font cependant l'objet, à leur tour, d'une contestation qui s'est traduite par plusieurs arrachages publics de parcelles portant des VTH obtenues par mutagenèse. A noter que si la culture de VTH transgéniques n'est actuellement pas pratiquée en Europe, ni envisagée à court terme, elle ne peut être exclue à plus longue échéance. En effet, le moratoire interdisant en France la culture des OGM porteurs de l'événement mon810 (variétés de maïs Bt) a été levé fin novembre par le Conseil d'Etat. De plus, le comité scientifique et le comité économique, éthique et social du Haut Conseil des Biotechnologies, ont été saisis à plusieurs reprises en 2010 et 2011 par les autorités françaises pour rendre des avis et recommandations au sujet de demandes d'AMM pour diverses VTH transgéniques<sup>2</sup>.

### Contexte agronomique français

A l'exception des enquêtes "pratiques culturales" réalisées par le service statistique du ministère en charge de l'Agriculture, l'important déficit de données concernant les pratiques des agriculteurs ne permet qu'une vision très globale et imparfaite de la situation actuelle et de son évolution. De grandes tendances peuvent néanmoins être décrites sur la base de ces enquêtes, d'analyses plus qualitatives et de l'application des raisonnements agronomiques (avec une réserve sur la poursuite de ces tendances, dans l'attente des résultats de l'enquête 2011).

---

<sup>2</sup> <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/spip.php?rubrique1>

Les cas d'école nord et sud-américains ont mis en évidence le couplage fort entre adoption des VTH et abandon du labour. Ces agricultures américaines sont de plus fondées sur des rotations très courtes ou des monocultures susceptibles d'amplifier les difficultés de désherbage. Ce contexte contribue à une adoption massive, voire généralisée, des VTH. En France, le non-labour est encore minoritaire mais en expansion (en 2006, il concernait déjà 34% des parcelles de grandes cultures, plus de 50% dans les exploitations de plus de 300 ha). Les assolements et successions culturales restent aussi plus diversifiés, cependant la tendance est à la simplification des rotations, plus courtes et insérant de moins en moins des cultures de printemps dans des assolements de cultures d'hiver.

## Utilisation de VTH et points de vigilance

La principale spécificité de la situation française/européenne réside dans le fait que, pour l'instant du moins, seules des variétés obtenues par sélection traditionnelle ou mutagenèse sont cultivables. Elles sont tolérantes à un herbicide sélectif (classe B), et peuvent apparaître comme une solution à des difficultés de désherbage effectivement rencontrées dans les principales espèces cultivées en France, et notamment celles dues aux adventices apparentées inter-fertiles voire de même espèce que la culture (betterave, tournesol, colza), aux espèces envahissantes telles que l'ambrosie, et aux plantes parasites comme l'orobanche (tournesol). Or on a vu que le risque de transfert du trait TH aux adventices appartenant aux espèces inter-fertiles est particulièrement élevé. Il existe par ailleurs une forte probabilité de développement de résistance chez l'ambrosie, espèce à forte dissémination, déjà très abondante en France et devenue résistante à des herbicides des classe A, B et G dans d'autres régions du monde.

Par ailleurs, les herbicides de la classe B sont déjà très employés sur les céréales. L'introduction dans des rotations céréales-oléagineux de colza ou de tournesol tolérants aux herbicides de cette classe augmentera donc la fréquence d'utilisation de ce mode d'action herbicide dans les parcelles concernées, et par conséquent la pression de sélection exercée sur les adventices.

Pour prévenir ce risque de développement de résistance et celui de diffusion du trait TH, les conseils techniques diffusés actuellement pour la mise en culture du tournesol TH préconisent de réserver l'usage de ces variétés aux situations de flores difficiles, et dans ce cas en combinant plusieurs modes d'action sur la culture TH elle-même ou/et à l'échelle de la rotation. Le respect de tels programmes de désherbage suppose des consommations d'herbicides supérieures à celles enregistrées en cultures conventionnelles (en 2006).

En France, les phénomènes de transfert du trait TH et de développement de résistances, ainsi que leurs répercussions sur la consommation d'herbicides, dépendront des conditions d'utilisation des VTH. Une utilisation de ces VTH limitée dans le temps et dans l'espace, dans le cadre de "bonnes pratiques agronomiques", intégrant des moyens mécaniques de gestion des adventices et des rotations diversifiées, pourrait être à même de limiter ces risques et de préserver l'efficacité de la technologie TH dans le temps. La question se pose alors de l'instauration de mesures d'accompagnement de la culture de VTH, incitant à ces bonnes pratiques. Aux Etats-Unis, des résultats d'enquête ont toutefois montré que les agriculteurs apparaissent peu enclins à adopter préventivement les mesures susceptibles de réduire les risques de développement des résistances lorsque celles-ci vont à l'encontre des simplifications (du travail du sol et des traitements herbicides) qui ont motivé le choix des VTH.

Les premières cultures de tournesols tolérants à des herbicides de la classe B (Clearfield® tolérant à une imidazolinone, et Express Sun® tolérant à une sulfonyle-urée) sont apparues en France, en 2010, et ont couvert une surface estimée à 80 000 ha en 2011 (soit plus de 10% de la sole de tournesol française). Ces surfaces devraient déjà apparaître dans l'enquête nationale "Pratiques culturales" 2011, et pourraient également justifier la mise en place d'enquêtes spécifiques, enregistrant les motifs et les situations agronomiques d'adoption, les pratiques phytosanitaires effectivement appliquées et les évolutions conjointes de la flore adventice.

Les variétés tolérantes à des herbicides sélectifs telles que celles utilisées en France et en Europe, peuvent apparaître comme des outils complémentaires intéressants face à certaines situations de désherbage difficile ou dans le cadre d'une diversification des itinéraires de désherbage. Cependant, leur utilisation répétée, et/ou ne prenant pas en compte l'évolution concomitante de la flore adventice, peut rapidement les rendre inefficaces et

faire ressurgir les mêmes difficultés, éventuellement plus complexes encore à gérer. Cette problématique n'est pas spécifique aux VTH et concerne plus généralement l'utilisation des produits phytosanitaires ou des résistances variétales à des bioagresseurs. Le caractère pérenne de l'innovation dépend de l'efficacité de l'accompagnement de leur mise en œuvre sur la parcelle et au niveau régional. La connaissance et la compréhension plus fines de la biologie et de l'écologie des adventices difficiles à éliminer, et des effets des rotations culturales sur leur développement, contribueraient à la mise au point de tels outils de gestion. Enfin, la mise en œuvre de ces innovations pose la question des objectifs pertinents de maîtrise de la flore adventice, compatibles avec les politiques actuelles de préservation de la biodiversité des espaces agricoles et de réduction de l'utilisation des pesticides.

# Glossaire

## Vocabulaire relatif au fonctionnement biologique d'un organisme vivant

**ADN ligase** : enzyme créant de nouvelles liaisons covalentes (liaisons phosphodiester) entre deux segments d'ADN. Ces enzymes sont souvent impliquées dans la réparation des cassures affectant les brins d'ADN *in vivo*.

**Alkyl / alkylant** : un alkyl est un groupe chimique hautement réactif, formé par exemple par la perte d'un atome d'hydrogène sur une chaîne carbonée. Les agents alkylant peuvent réagir avec les bases de l'ADN entraînant soit un arrêt de la réplication, soit une erreur de réplication.

**Allèles** : une des différentes formes que peut prendre un même gène. Les allèles occupent la même position (locus) sur les chromosomes homologues. Chaque allèle se différencie par une ou plusieurs différences de la séquence de nucléotides.

**Allogame, allogamie** : système de reproduction à fécondation croisée.

**Allopolyploïdie** : état d'un génome formé par la juxtaposition de plusieurs génomes diploïdes. Exemple : avec 2 génomes le colza est un allotétraploïde, avec 3 génomes le blé est allohexaploïde.

**Apomixie (apomictique)** : système de reproduction sans fécondation croisée (sans croisement sexué).

**Appariements** : capacité des bases d'ADN et d'ARN de s'associer pour former un ADN double brin ou un complexe double brin ADN /ARN. Les bases A font face aux bases T (ou U), et les bases C aux bases G.

**ATP** : adénosine triphosphate. Dans le métabolisme des procaryotes et des eucaryotes, l'Atp est la molécule principale permettant de stocker l'énergie sous forme de liaison phosphate.

**Autofécondation** : système de reproduction par lequel une plante se reproduit avec elle-même.

**Cytosol** : composante liquidienne du cytoplasme de la cellule.

**Diploïde (voir aussi "ploïdie")** : état génétique d'une cellule caractérisé par une organisation des chromosomes en paires.

**Endocytose** : processus par lequel une région de la membrane cytoplasmique s'invagine pour former une petite vésicule membranaire fermée, capable de migrer dans le milieu intracellulaire.

**Encombrement stérique** : volume occupé par un atome, un groupe fonctionnel ou une partie d'une molécule susceptible de gêner l'approche d'une autre partie de la molécule ou d'une autre molécule.

**Endonucléase (ou endonucléase de restriction)** : enzyme dont l'activité conduit à la coupure des brins d'ADN.

**Endosymbiote** : caractérise un organisme symbiotique qui vit à l'intérieur d'une autre cellule ou d'un autre organisme (ex. les *Rhizobiaceae* sont des organismes endosymbiotiques lorsqu'ils sont associés aux légumineuses dans les nodosités).

**Enzyme allostérique** : enzyme dont l'activité peut être modifiée par un effecteur dit effecteur allostérique. En se liant à un site autre que le site actif, cet effecteur induit un changement de configuration de l'enzyme, ce qui en module l'activité.

**Enzyme de restriction** : enzyme qui peut couper un fragment d'ADN au niveau d'une séquence de nucléotides caractéristique appelée site de restriction.

**Épigénétique** : terme s'appliquant aux modifications transmissibles et réversibles de l'expression des gènes, ne s'accompagnant pas de changements des séquences nucléotidiques. Ce type de régulation peut cibler l'ADN, l'ARN ou les protéines et agir au niveau du noyau ou du cytoplasme. Les modifications épigénétiques constituent l'un des fondements de la diversité biologique.

**Epinastie** : courbure des tissus en croissance.

**Fasciation** : épaisissements de tissus végétaux (tiges, fleurs, etc.) et/ou croissance en faisceau de l'extrémité d'une tige. Les fasciations sont souvent causées par des agents pathogènes (virus ou bactéries).

**Génotype** : Ensemble des caractères génétiques d'un organisme. Le génotype d'un individu implique la connaissance des différentes formes d'allèles de gènes portés par cet individu.

**Hétérozygote (voir aussi homozygote)** : Un organisme est dit hétérozygote pour un gène quand il possède au moins deux allèles différents de ce gène à un même locus.

**Homoplasmie/mique** : se dit d'un individu dont tous les organistes sont génétiquement identiques.

**Homozygote (voir aussi hétérozygote)** : Un organisme est dit homozygote pour un gène quand tous les allèles de ce gène à un même locus sont identiques. Par définition les organismes haploïdes (ne possédant qu'une copie de leur(s) chromosome(s)) sont homozygotes.

**Immunoglobuline** : Protéines multimériques jouant un rôle essentiel dans la reconnaissance cellulaire et la défense de l'organisme contre les agressions. Les anticorps sont des immunoglobulines.

**Inhibiteurs allostériques** : inhibiteur induisant un changement de conformation spatiale de la protéine enzymatique ayant pour conséquence de modifier le site de liaison au(x) substrat(s), réduisant l'activité de l'enzyme.

**Inhibiteurs compétitifs** : inhibiteur empêchant la fixation du substrat sur le site actif de l'enzyme en se fixant sur ce site ou au voisinage du site. Cette inhibition peut être réversible ou irréversible, si dans ce dernier cas il s'établit une liaison covalente entre inhibiteur et enzyme.

**Liposome** : vésicule en général artificielle formée par une bicouche lipidique. Les liposomes sont souvent utilisés pour exporter vers des cellules des molécules bioactives.

**Mésenchyme foliaire** : terme utilisé de façon quelque peu abusive pour désigner le parenchyme de la feuille, c'est-à-dire l'ensemble des tissus photosynthétiques situé en général en dessous de l'épiderme.

**Monomère/monomérique** : se dit d'une protéine constituée d'une seule chaîne peptidique (le monomère).

**Multimère/multimérique** : se dit d'une protéine constituée de plusieurs chaînes peptidiques identiques ou différentes.

**Myélomateux** : relatif au myélome, tumeur de la moelle osseuse.

**Organite** : structures spécialisées contenues dans le cytoplasme et délimitées du reste de la cellule par une membrane lipidique. Il existe de nombreux types d'organites dans les cellules eucaryotes, dont les plus connus sont les mitochondries et les chloroplastes.

**Phage** : virus spécifique des bactéries. Ceux-ci se fixent à la surface de bactéries, injectent leur matériel génétique dans l'hôte qui : a) soit le multiplie et l'empaquette dans des structures protéiques pour former de nouveaux virus libérés par lyse de la cellule ; ou b) l'intègre dans son génome où le phage devient silencieux et se trouve répliqué dans toutes les bactéries filles lors des divisions. Ce phage peut dans certaines conditions se « réveiller » et amorcer le cycle lytique décrit plus haut.

**Plasmide** : chez les procaryotes, molécule d'ADN à réplication autonome et non indispensable à vie de la cellule. Les plasmides portent des déterminants génétiques conférant souvent un avantage sélectif dans des environnements particuliers (ex. virulence, résistance aux antibiotiques, aux métaux lourds, etc.).

**Ploïdie (voir aussi diploïde / polyploïde)** : état génétique d'une cellule caractérisé par l'organisation de ses chromosomes. Une cellule diploïde possède deux paires de chromosomes homologues, une cellule triploïde, trois paires, etc. On oppose, en termes de ploïdie, les cellules haploïdes (un seul chromosome, donc aucune paire, comme chez les bactéries) aux cellules polyploïdes (n paires de chromosomes).

**Polymorphisme** : terme désignant l'existence de différences au sein d'individus d'une même population ou de populations différentes. Le polymorphisme peut être visible à l'œil nu ou non, comme l'est le polymorphisme biochimique ou génétique, qui ne peut être révélé que par des techniques moléculaires.

**Polyploïde** : voir ploïdie.

**Porine** : protéine de la membrane des cellules formant pore, permettant les échanges avec le milieu extérieur.



**Recombinases** : terme générique désignant toutes les enzymes impliquées dans la recombinaison d'ADN. Certaines de ces enzymes agissent comme des endonucléase (voir glossaire) provoquant une coupure sur un des brins de l'ADN, d'autres en rapprochant les brins d'ADN coupés, ou en relâchant ou modifiant les contraintes physiques d'enroulage de l'ADN sur lui-même.

**Séquence d'adressage** : séquence protéique permettant le transfert d'une protéine dans un compartiment cellulaire précis.

**Site actif** : partie de la molécule de la substance active qui interagit avec son récepteur dans la cellule (cible moléculaire) pour exercer son activité biocide.

**Site d'action** : étape d'un site métabolique perturbé par la substance active dans les cellules cibles.

**Splénique** : relatif à la rate.

**Stérilité mâle** : caractéristique d'un végétal relatif à son incapacité à produire les gamètes mâles.

**Tapetum** : tissus nourriciers des sacs à pollen, dans les anthères et indispensable à la maturation du pollen.

**Thylakoïde** : vésicule ou empilement membranaire des chloroplastes, siège de la photosynthèse.

**Translocation** : Echange de segments entre deux chromosomes ou deux régions d'un même chromosome.

**Transposons** : séquence d'ADN (aussi appelée élément mobile ou élément transposable) capable de se déplacer et de se multiplier de manière autonome dans un génome par un mécanisme appelé transposition.

## Vocabulaire relatif au fonctionnement des communautés d'organismes vivants

**Adventice** : Plante qui pousse dans les champs sans avoir été semée.

**Dérive de flore** : évolution de la composition (en espèces) de la flore adventice, suite à la modification des pratiques culturales et notamment de désherbage.

**Diversité spécifique** : concerne l'ensemble des espèces d'un groupe taxonomique donné, ou la totalité des espèces présentes dans un milieu donné.

**Ecosystème** : ensemble formé par une communauté d'organismes vivants (biocénose) et leur environnement (biotope). Unité écologique (structurale et fonctionnelle) de base en laquelle peut se réduire les systèmes écologiques plus complexes. Un agroécosystème est un écosystème transformé par l'agriculture.

**Ecotype (Biotype en anglais)** : Au sein d'une espèce, l'écotype caractérise une population ou les individus d'une population adaptés à des conditions environnementales et des pressions sélectives particulières (ex. sol, climat). L'écotype ne présente pas obligatoirement de signes extérieurs distinctifs, la différence étant surtout physiologique.

**Espèce** : unité taxonomique correspondant à un ensemble d'individus semblables en eux pouvant naturellement se reproduire entre eux en donnant des descendants fertiles.

**Fitness** : peut être traduit par "capacité de survie", ou "valeur adaptative" Dans une population comprenant plusieurs souches, la "fitness" d'une souche pathogène correspond à sa capacité relative à se développer, de se reproduire et de survivre au sein de cette population. Cette notion implique une comparaison entre des phénotypes différents dans un environnement donné.

**Mauvaise herbe** : plante herbacée ou ligneuse indésirable à l'endroit où elle se trouve.

**Peuplement** : ensemble des populations des espèces qui présentent une écologie semblable et occupent le même habitat.

**Population** : ensemble des individus appartenant à une même espèce, occupant une même fraction du milieu de vie et qui se reproduisent entre eux.

**Richesse spécifique** : nombre d'espèces présentes dans un écosystème donné.

## Vocabulaire relatif aux herbicides

**Biocide (ou produit biocide)** : substance active ou préparation contenant une ou plusieurs substances actives destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action chimique ou biologique.

**Dose létale 50 (DL50)** : dose d'une substance provoquant la mort de 50% d'un lot de cellules, colonies cellulaires ou individus dans un protocole expérimental précis. Elle s'exprime en milligramme par kilogramme de poids vif (mg/kg).

**Ecotoxicité** : toxicité pour tous les éléments vivants du milieu naturel, à l'exception de l'homme.

**Herbicide sélectif** : herbicide que peut tolérer une espèce cultivée dans des conditions d'emploi définies. Si ces conditions ne sont pas respectées, il peut devenir non sélectif.

**Herbicide total** : herbicide efficace sur l'ensemble des mauvaises herbes et des espèces cultivées.

**Hydrolyse** : décomposition d'une substance chimique par l'action des ions issus de la dissociation de l'eau.

**Lessivage** : transport de substances chimiques en phase solide (dans le sol, dû aux déplacements de particules solides en suspension (argiles, substances humiques) sur lesquelles elles sont retenues).

**Lixiviation** : transport de substances chimiques en phase liquide (écoulement de la solution du sol).

**Métabolite/produit de transformation** : molécule qui résulte des réactions de transformation subies par les substances actives. On parle de métabolites pour les réactions de biodégradation et de produits de transformation pour les réactions abiotiques (hydrolyse ou photolyse).

**Persistance chimique** : durée d'existence d'un produit phytosanitaire dans l'environnement.

**Photolyse** : décomposition d'une substance chimique sous l'action de la lumière.

**Phytotoxicité** : altération passagère ou irréversible occasionnée à des végétaux cultivés par un produit phytosanitaire.

**Résidu de produit phytosanitaire** : substance susceptible d'être présente dans ou sur des végétaux, des produits végétaux ou animaux, dans un milieu ou l'un des compartiments de l'environnement à la suite de l'emploi d'un produit phytosanitaire. Ce terme englobe les substances actives et leurs produits de dégradation ou de conversion dont la prise en compte est jugée pertinente des points de vue toxicologique et écotoxicologique.

**Sublétale** : concentration d'un toxique immédiatement inférieure à celle provoquant la mort.

**Substance active (matière active)** : substance ou micro-organisme exerçant une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux.

**Xénobiotique** : qualifie une substance introduite par l'homme dans un milieu donné, mais non produite naturellement par un être vivant.

## Vocabulaire relatif à l'obtention de variétés

**ADN-T** : région de l'ADN circulaire d'un plasmide d'*Agrobacterium* qui est transférée puis insérée dans le génome des plantes (agrotransformation).

**Amorces** : petits fragments (en général de 12 à 30 paires de base) d'ADN synthétique (ou oligonucléotides) utilisés dans l'amplification par PCR pour amorcer la réaction de réplication.

**Backcross ou rétrocroisement** : opération qui consiste à transférer, par une série de croisements suivis de sélection, un gène d'un génotype (donneur) à un autre génotype (receveur). Recroisement d'un individu issu de croisement avec l'un de ses parents.

**Biolistique** : technique de transformation directe de l'ADN par bombardement de cellules isolées ou de tissus au moyen de microbilles revêtues de l'ADN à introduire dans le génome.

**Catalogue officiel des variétés** : établi par le Comité technique permanent de la sélection, liste des variétés d'une espèce cultivée qui peuvent être commercialisées en France ou en Europe (l'inscription au Catalogue national donne lieu à l'inscription automatique au Catalogue communautaire). Ces variétés satisfont aux critères de DHS et VAT :

- DHS : distinction, homogénéité, stabilité. Ensemble de critères étudiés pour l'identification d'une variété et sa protection.

- VAT : valeur agronomique et technologique. Ensemble de caractères d'intérêts agronomique et technologique étudiés pour l'inscription d'une variété au Catalogue officiel français et communautaire.

**Certificat d'obtention végétal.** : certificat qui protège l'obtenteur d'une variété, lui permet d'avoir des droits de licence et interdit son utilisation par un tiers sauf comme ressource génétique.

**Comité technique permanent de la sélection** : organisme qui, sous la tutelle du ministère de l'Agriculture, est en particulier chargé de l'inscription des variétés au Catalogue officiel français.

**Electroporation** : technique de transformation directe de l'ADN par application d'un champ électrique induisant la formation de micro-orifices dans les membranes d'une cellule.

**Gène de sélection, marqueur de sélection** : gène qui permet d'identifier les individus ayant incorporé le transgène dans leur génome.

**Hybridomes** : Cellules chimériques résultant de la fusion de deux cellules différentes, dont les chromosomes se mélangent pour former des noyaux hybrides possédant les caractères génétiques des deux espèces de cellules.

**Introgression** : insertion dans le génome d'un individu, d'un gène ou d'un segment chromosomique d'une autre espèce ou variété.

**Isogénique** : se dit de deux cellules, organismes, individus qui portent les mêmes allèles des mêmes gènes. Deux vrais jumeaux sont isogéniques. Une plante génétiquement modifiée est dite quasi-isogénique par rapport à la lignée dont elle dérive car elle porte les mêmes allèles et même gènes que sa parente, mais possède une ou deux copies du transgène que la lignée mère ne possède pas.

**PCR** : acronyme des termes anglais « polymerase chain reaction ». Par l'usage d'une enzyme de type polymérase, la PCR permet de recopier une séquence d'ADN, même présente de très faible quantité. Plusieurs cycles d'action de la polymérase permettent *in fine* d'amplifier le fragment d'ADN ciblé, donc de le visualiser et éventuellement d'en déterminer la séquence.

**Protoplaste** : cellule végétale, bactérienne ou fongique, non sexuelle, débarrassée de sa paroi, en général par un traitement enzymatique ou osmotique. Les protoplastes peuvent être fusionnés, ce qui conduit à la mise en commun de contenus cellulaires.

**Puce transcriptomique** : dispositif (souvent une lame de verre) sur lequel sont déposées de courtes séquences d'ADN correspondant aux gènes potentiellement transcrits d'un organisme. L'étude de la transcription se fait en extrayant de l'organisme à étudier les ARN messagers, en les marquant, et en hybridant ces ARN sur la puce transcriptomique.

**Somaclonale** : relatif aux étapes de cultures *in vitro* de cellules ou tissus végétaux.

**Transgenèse / transgène** : Technique visant à introduire un ou plusieurs gène(s) étranger(s) (appelé(s) transgène(s)) dans le génome d'un organisme.

**Variété** (au sens du généticien sélectionneur) : population artificielle, à base génétique plus ou moins étroite, reproductible et de caractéristiques agronomiques bien définies.

## Vocabulaire relatif à la description du système de culture

**Agroécosystème** : Ensemble des relations entre les cultures, les techniques de production agricole et le milieu environnant.

**Intrants** : Tous éléments (consommables) entrant dans la production d'une culture.

**Itinéraire technique** : Combinaison logique et ordonnée des techniques mises en œuvre pour conduire une culture en vue d'atteindre un ou plusieurs objectifs donnés (de production, de protection de l'environnement...).

**Labour** : voir Travail du sol.

**Pratiques culturales** : Interventions techniques ou opérations culturales mises en œuvre sur une parcelle.

**Semis direct** : Semis sans aucun travail préalable du sol.

**Simplification du travail du sol** : Réduction de la fréquence, voire abandon, de certaines techniques culturales de préparation du sol, en particulier le labour.

**Succession culturale** : Nature des cultures se succédant dans le temps sur une parcelle agricole.

**Système de culture** : Ensemble des modalités techniques mises en œuvre sur des parcelles traitées de manière identique. Chaque système de culture se définit par la nature des cultures et leur ordre de succession, et par les itinéraires techniques appliqués à ces différentes cultures.

**Terre arable** : terre qui peut être labourée ou cultivée. Les terres arables comprennent les terrains en jachère, les cultures maraichères et céréalières et les prairies artificielles.

**Traitement** : opération consistant à appliquer ou à mettre en œuvre un ou plusieurs agents physiques, chimiques ou biologiques en vue de protéger ou d'améliorer la production agricole.

**Travail du sol** : série de façons culturales réalisées à l'aide d'instruments aratoires et destinées à créer dans le sol un milieu favorable au développement des plantes cultivées. Elles peuvent être exécutées avant la mise en place d'une culture, ou pendant son développement. Le labour est l'une des façons culturales du travail du sol.

## Index des abréviations

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ANSES** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire

**COV** : Certificat d'obtention végétale

**CTPS** : Comité technique permanent de la sélection

**EFSA** : European Food Safety Agency

**EC** : European Community

**HCB** : Haut Conseil des Biotechnologies

**IFEN** : Institut Français de l'Environnement

**INERIS** : Institut National de l'Environnement et des Risques

**OGM** : Organisme Génétiquement Modifié par les techniques de modification génétique listées aux annexes IA première partie et IB de la directive 2001/18/CE (voir Annexe 3 du présent rapport)

**ONEMA** : Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques

**PPDB** : Pesticide properties database

**SOeS** : Service de l'Observation et des Statistiques

# Annexe 1. Cahier des charges de l'ESCo VTH

*Document établi en septembre 2010.*

L'arrivée après-guerre des herbicides chimiques de synthèse a considérablement facilité la réduction de la concurrence des adventices, en posant toutefois le problème du risque de phytotoxicité pour la culture. L'industrie phytopharmaceutique recherchait donc des molécules sélectives désherbant au maximum en affectant le moins possible la culture. Depuis quelques années, une alternative à la découverte de nouvelles familles d'herbicides est l'adaptation des variétés cultivées aux substances actives existantes.

Le terme "variétés tolérantes à un herbicide" (VTH) désigne ainsi les plantes cultivées caractérisées par la possession d'un trait génétique de tolérance (ou de résistance) à un herbicide ou certains herbicides (trait TH), trait exploité et/ou revendiqué chez la variété végétale. Toutes les espèces végétales cultivées présentent des tolérances à des herbicides actifs contre d'autres familles botaniques ; le terme VTH distingue des variétés portant des tolérances qui soit ne sont pas natives dans l'espèce, soit sont non encore identifiées lors de l'inscription au Catalogue. Ce caractère TH peut avoir été introduit en ayant eu recours exclusivement à des techniques classiques de sélection, mais également à la transgénèse ou à la mutagenèse. Dans le cas des variétés génétiquement modifiées (dites OGM), la tolérance à un herbicide peut aussi être un caractère introduit avec le transgène d'intérêt pour faciliter le criblage des cellules ayant effectivement intégré le transgène ; de nombreuses plantes OGM présentent donc le trait TH sans qu'il soit revendiqué.

En décembre 2009, le ministère en charge de l'agriculture et le secrétariat d'Etat à l'écologie ont manifesté, par le biais d'un courrier transmis à l'INRA, leur souhait que le CNRS et l'INRA mènent conjointement une expertise scientifique collective (ESCo) sur les variétés tolérantes aux herbicides. Le CNRS, l'INRA, et les commanditaires, se sont accordés sur le cadrage suivant de cet exercice.

## 1. Contexte et enjeux

Des sélectionneurs proposent des variétés présentant une tolérance à un herbicide ou une famille d'herbicides particuliers généralement à large spectre – avec lequel elles peuvent être commercialisées sous la forme d'un "paquet" VTH-herbicide associé. Le trait génétique TH paraît attractif pour l'agriculteur, notamment en termes de facilité d'utilisation et d'efficacité agronomique des herbicides utilisés pour la culture de VTH. Les obtenteurs mettent également en avant un intérêt environnemental, si ledit herbicide présente un profil écotoxicologique plus favorable que les herbicides habituellement utilisés, et/ou parce que la possibilité de traiter une culture déjà développée permet d'adapter le désherbage chimique à la flore adventice effectivement présente dans la parcelle, c'est-à-dire de ne traiter qu'en cas de besoin, et donc a priori moins que par traitement préventif systématique.

Les obtentions revendiquant le trait TH sont soit des variétés transgéniques (non autorisées actuellement en France), soit plus récemment, des variétés obtenues sans recours à la transgénèse et donc exclues du champ d'application de la Directive européenne 2001/18/CE<sup>1</sup> qui encadre la procédure d'autorisation de dissémination volontaire et de mise sur le marché des organismes génétiquement modifiés (OGM).

Ces VTH non-OGM sont actuellement au centre de préoccupations des pouvoirs publics et des instances d'évaluation :

- tout d'abord, face aux demandes d'inscription de ces variétés au Catalogue officiel des espèces et variétés, les ministères en charge de l'agriculture et de l'écologie s'interrogent sur leurs bénéfices réels et de long terme, et notamment sur leur compatibilité avec l'objectif du plan Ecophyto 2018 de réduction de l'utilisation des pesticides en France, et d'autres politiques à visée environnementale ;
- par ailleurs, ces VTH non transgéniques commencent à faire l'objet d'une contestation sociale - des opposants aux OGM les suspectant de n'être qu'un contournement de la réglementation encadrant les OGM -, mais aussi d'interrogations parmi les agriculteurs. Or le développement rapide des techniques de mutagenèse et de

<sup>1</sup> La directive 2001/18/CE couvre les techniques d'obtention suivantes : transgénèse, cisgénèse et fusion cellulaire au moyen de méthodes qui ne sont pas mises en œuvre de façon naturelle. Sont exclues de son champ d'application les techniques entraînant des modifications génétiques mais produisant des organismes non-OGM, que sont notamment la mutagenèse et la fusion de cellules végétales qui peuvent naturellement échanger du matériel génétique.

séquençage à haut débit des génomes, qui permettent de repérer les mutations affectant un gène particulier, accroît sensiblement l'intérêt que les améliorateurs portent à ces techniques de mutagenèse ;

- enfin, la France souhaite être force de proposition dans le contexte d'une possible évolution de la réglementation européenne encadrant l'évaluation des variétés non-OGM, obtenues par des techniques telles que la mutagenèse.

Toutefois, il apparaît opportun de ne pas limiter l'ESCO à ces variétés obtenues par mutagenèse. Tout d'abord, de nombreux travaux d'évaluation des impacts d'une VTH ont été conduits sur des OGM ou en rapport avec des OGM.

Par ailleurs, de nombreux risques agronomiques ou environnementaux potentiellement associés à cette tolérance à un herbicide (difficultés de gestion des repousses de la VTH, emploi accru d'un même herbicide augmentant les risques de pollution et d'apparition et d'invasion d'adventices résistantes, par exemple) sont indépendants du mode d'obtention et d'introduction de ce trait ; ils résultent plus largement de l'utilisation de caractères de tolérance à un ou des herbicides, et de l'herbicide associé.

## 2. Objet et champ de l'expertise

Les éléments d'analyse précédents ont conduit à retenir comme objet/thème de l'expertise : **le trait génétique de tolérance à un herbicide (auquel la famille botanique est normalement sensible), quel que soit le mode d'obtention de cette caractéristique, et l'analyse des diverses conséquences de l'usage de ce trait.**

L'objectif de l'ESCO est de fournir aux pouvoirs publics, et plus largement à la société, un bilan critique des connaissances scientifiques disponibles pour identifier les questions spécifiques que posent ces VTH et pour évaluer les intérêts et risques que peuvent présenter leurs usages, sur les plans agronomiques, environnementaux et socio-économiques – les impacts éventuels sur la santé humaine étant exclus du champ.

Il s'agit, plus précisément, de rassembler et analyser les connaissances disponibles pour établir :

- un bilan des résultats scientifiques disponibles et validés concernant les effets des VTH déjà cultivées ;
- un état des méthodes et protocoles utilisables pour l'évaluation préalable et le suivi de telles variétés ;
- un diagnostic des lacunes et des controverses dans les connaissances et les méthodologies d'évaluation nécessitant la conception et la mise en œuvre de nouvelles recherches.

L'ESCO s'intéressera donc à toutes les variétés TH, quel que soit leur mode d'obtention, et concernera les espèces cultivées annuelles (grandes cultures et légumes de plein champ) des pays à climat tempéré. Une attention particulière sera portée aux espèces faisant actuellement l'objet de demandes d'inscription de VTH au Catalogue français : le maïs, le colza, le tournesol, la betterave, le soja, l'endive et la chicorée.

## 3. Questions et thématiques scientifiques

L'analyse de la littérature scientifique disponible vise l'identification et l'évaluation des effets potentiels liés aux conditions de production et d'utilisation des VTH. Ces impacts finaux, agronomiques, environnementaux ou socio-économiques, peuvent résulter d'effets directs de l'emploi de la VTH et de l'herbicide associé, mais aussi d'effets plus indirects, liés par exemple aux modifications des pratiques culturales et des choix de production induites ou permises par les VTH. Ces impacts peuvent différer selon les caractéristiques des VTH, de l'herbicide qui leur est associé et des systèmes de culture concernés. Les critères potentiellement déterminants pour différencier les situations de risque sont les suivants :

- les **caractéristiques de l'herbicide** (mode d'action, écotoxicité...),
- les **mécanismes biochimiques de la tolérance** (contournement de l'action de l'herbicide par la plante),
- les **techniques d'obtention** de la VTH (utilisées actuellement ou envisageables),
- les **caractéristiques biologiques de l'espèce cultivée** concernée,
- ses **caractéristiques technico-économiques** (place/fonction dans les rotations culturales, part dans les assolements régionaux, usage, poids dans les filières économiques...),

- les **conditions d'application des herbicides** (matériel de pulvérisation...),
- les **caractéristiques du système de culture et de production** dans lequel s'insère la culture TH,
- les **conditions de diffusion de la VTH** (stratégie de la firme obtentrice, réglementation, stratégie de l'agrofourmiture...).

### Les grandes catégories d'impacts

Il s'agit d'extraire les éléments de la littérature scientifique permettant d'examiner si les bénéfices revendiqués de ces VTH sont réels et durables, techniquement possibles et effectivement obtenus sur le terrain, s'ils ne sont pas annulés ou contrecarrés par des effets indirects, et si les risques invoqués apparaissent actuellement scientifiquement fondés. L'ESCO veillera à envisager tous les impacts possibles de l'emploi des VTH, ceux énoncés dans les débats actuels, comme ceux que la recherche pourrait identifier. Ces impacts sont à étudier à différentes échelles temporelles et spatiales, notamment pour prendre en compte les effets cumulatifs et/ou secondaires, liés à l'emploi massif de la VTH et/ou de l'herbicide auquel elle est associée.

#### *Impacts agronomiques (sur le système de culture ; pour l'agriculteur)*

Les impacts à envisager sont :

- à court terme et à l'échelle de la parcelle : la modification de la stratégie de gestion des adventices et de l'itinéraire technique pour la culture ; au-delà, des modifications du système de culture (longueur des rotations, travail du sol...) ;
- à moyen terme et à l'échelle supra-parcellaire : les effets éventuels d'un "succès" des VTH se traduisant par le développement de rotations (et donc de territoires agricoles) avec un nombre réduit de cultures, de variétés et/ou de molécules herbicides.

Les aspects suivants seront examinés en particulier :

- Impact sur l'utilisation des pesticides : évolution des itinéraires de désherbage pour la culture TH, en termes d'emploi de l'herbicide associé à la VTH et de recours éventuel à des herbicides complémentaires (pour gérer les repousses et mauvaises herbes devenues tolérantes), mais aussi en termes d'emploi d'autres pesticides (les évolutions du système de culture associées à la culture des VTH pouvant favoriser des ravageurs ou maladies et nécessiter des traitements phytosanitaires supplémentaires).
- Impact sur la qualité génétique des variétés, les performances génétiques des cultures : on examinera les risques de perturbations du génome induites par l'introduction de la TH chez la plante, non détectées lors de la phase de sélection mais pouvant présenter des conséquences phénotypiques à moyen terme, telles qu'une vulnérabilité accrue à des bioagresseurs ou à des stress abiotiques. A une échelle plus globale, on évaluera les risques liés à une grande homogénéité génétique des cultures, pouvant compromettre une utilisation durable des VTH.
- Impact sur la production (quantité de matière première produite et qualité).

#### *Impacts sur l'environnement*

- Contaminations de l'environnement par les herbicides : on examinera les spécificités de l'emploi des herbicides dans le cas des cultures de VTH qui sont susceptibles d'influer sur les risques de contamination de divers compartiments, biologiques ou physiques, de l'environnement.

Deux compartiments du milieu naturel seront particulièrement ciblés : les sols agricoles et les masses d'eau, superficielles ou souterraines. Le compartiment aérien sera également examiné, mais la bibliographie associée est a priori peu fournie.

- Effets éventuels sur la biodiversité des territoires agricoles :
  - effets de l'utilisation des VTH sur la diversité génétique des cultures, par réduction éventuelle du nombre de variétés semées ;
  - effets de l'herbicide sur la diversité de la flore non cultivée inféodée à la parcelle (diversité et abondance de la flore adventice, impacts en termes de résistance aux herbicides) ;



- effets de l'utilisation des VTH sur la faune associée à la culture et/ou aux adventices (pollinisateurs sauvages et abeilles domestiques, impacts spécifiques sur les mammifères) ;
  - effets de la dispersion de la VTH sur la biodiversité sauvage ; caractère éventuellement envahissant des populations de VTH (dispersion sur des distances fonction de la capacité de dissémination des graines, capacité de maintien par des repousses végétatives, ...) ;
  - transferts horizontaux de la tolérance à d'autres composantes du couvert végétal (espèces sauvages apparentées à la culture, adventices ou des espaces semi-naturels).
- Conséquences sur la consommation d'énergie, la gestion de l'eau et le bilan d'émission de gaz à effet de serre de la culture, liées aux modifications des pratiques culturales associées à l'usage de VTH (suppression du labour, par exemple), si la littérature scientifique le permet.

*Impacts socio-économiques (pour les acteurs / filières agricoles)*

L'ESCo examinera, dans la mesure où des publications scientifiques sont disponibles, les effets économiques de l'emploi des VTH, à l'échelle des exploitations agricoles (impacts sur l'organisation du travail de l'agriculteur et les coûts de production, risque de dépendance vis-à-vis de la firme obtentricrice...) et des filières agricoles (effets de segmentation des marchés...), et au niveau des secteurs semenciers et agrochimiques.

Les conditions susceptibles d'influer sur ces effets relèvent notamment de la gouvernance dans ce domaine : législation encadrant la mise sur le marché et l'utilisation de ces produits et de ces variétés, régime de propriété intellectuelle adopté, politiques publiques...

La perception, par les différents acteurs, de l'innovation dans le contexte de l'exploitation du trait TH sera également caractérisée, dans la mesure où la littérature académique est disponible sur cette thématique et que les données sont transposables au cas français. La perception des OGM en tant que telle ne fera cependant pas l'objet d'une analyse par l'ESCo, celle-ci se limitant à la perception du trait TH.

## Annexe 2. Classification HRAC des herbicides

| classe HRAC      | Mode d'action  | Famille                            | Molécules  |   |   |
|------------------|--|------------------------------------|--|---|---|
| <b>A</b>         | Inhibiteurs de l'acétyl CoA carboxylase (ACCase) (synthèse des lipides)  | Aryloxyphenoxy-propionate 'FOPs'   | clodinafop-propargyl<br>cyhalofop-butyl<br>diclofop-methyl   | fenoxaprop-P-ethyl<br>fluaifop-P-butyl<br>haloxyfop-R-methyl  | propaquizafop<br>quizalofop-P-ethyl   |
|                  |  | Cyclohexanedione 'DIMs'            | alloxydim<br>butoxydim<br>clethodim  | <b>cycloxydim</b><br><i>profoxydim</i><br><b>sethoxydim</b>   | <i>tepraloxym</i><br>tralkoxydim  |
|                  |  | Phenylpyrazoline 'DEN'             | pinoxaden  |   |   |
| <b>B</b>         | Inhibiteurs de l'acétolactate synthase ALS (acétohydroxyacid synthase AHAS) (synthèse de certains acides aminés) | Sulfonylurea                       | amidosulfuron<br>azimsulfuron<br>bensulfuron-methyl<br>chlorimuron-ethyl<br><b>chlorsulfuron</b><br>cinosulfuron<br>cyclosulfuron<br>ethamsulfuron-methyl<br>ethoxysulfuron<br>flazasulfuron<br>flupyrsulfuron-methyl-Na | foramsulfuron<br>halosulfuron-methyl<br><i>imazosulfuron</i><br>iodosulfuron<br>mesosulfuron<br>metsulfuron-methyl<br>nicosulfuron<br><i>oxasulfuron</i><br>primisulfuron-methyl<br>prosulfuron<br>pyrazosulfuron-ethyl | rimsulfuron<br>sulfometuron-methyl<br>sulfosulfuron<br>thifensulfuron-methyl<br>triasulfuron<br><b>tribenuron-methyl</b><br>trifloxysulfuron<br>triflusulfuron-methyl<br><i>tritosulfuron</i> |
|                  |  | Imidazolinone                      | <b>imazapic</b><br>imazamethabenz-methyl   | <b>imazamox</b><br><b>imazapyr</b>  | imazaquin<br><b>imazethapyr</b>   |
|                  |  | Triazolopyrimidine                 | cloransulam-methyl<br>diclosulam   | florasulam<br>flumetsulam   | metosulam<br>penoxsulam   |
|                  |  | Pyrimidinyl(thio)benzoate          | bispyribac-Na<br>pyribenzoxim  | pyriftalid<br>pyrithiobac-Na  | pyriminobac-methyl  |
|                  |  | Sulfonylaminocarbonyl-triazolinone | flucarbazone-Na<br>propoxycarbazone-Na   |   |   |
|                  |  | <b>C1</b>                          | Inhibiteurs de la photosynthèse au niveau du photosystème II   | Triazine  | ametryne<br><b>atrazine</b><br>cyanazine<br>desmetryne<br><i>dimethametryne</i>   |
| Triazinone       | hexazinone   |                                    |  | metamitron  | metribuzin  |
| Triazolinone     | amicarbazone   |                                    |  |   |   |
| Uracil           | bromacil   |                                    |  | lenacil   | terbacil  |
| Pyridazinone     | pyrazon = chloridazon  |                                    |  |   |   |
| Phenyl-carbamate | desmedipham  |                                    |  | phenmedipham  |   |
| <b>C2</b>        | Inhibiteurs de la photosynthèse au niveau du photosystème II   | Urea                               | chlorobromuron<br><i>chlorotoluron</i><br>chloroxuron<br><i>dimefuron</i><br><i>diuron</i><br>ethidimuron  | fenuron<br><i>fluometuron (see F3)</i><br><i>isoproturon</i><br>isouron<br><i>linuron</i><br><i>methabenzthiazuron</i>  | metobromuron<br><i>metoxuron</i><br><i>monolinuron</i><br>neburon<br><i>siduron</i><br><i>tebuthiuron</i>   |
|                  |  | Amide                              | propanil   | pentanochlor  |   |
| <b>C3</b>        | Inhibiteurs de la photosynthèse au niveau du photosystème II   | Nitrile                            | bromofenoxim   | <b>bromoxynil</b>   | ioxynil   |
|                  |  | Benzothiadiazinone                 | bentazon   |   |   |
|                  |  | Phenyl-pyridazine                  | pyridate   | pyridafol   |   |
| <b>D</b>         | Inhibiteurs de la photosynthèse au niveau du photosystème I  | Bipyridylum                        | diquat<br>paraquat   |   |   |
| <b>E</b>         | Inhibiteurs de la ProtoPorphyrinogène oxidase (PPO) (synthèse des chlorophylles)                                 | Diphenylether                      | acifluorfen-Na<br>bifenox<br>chlomethoxyfen  | fluoroglycofen-ethyl<br>fomesafen<br>halosafen  | lactofen<br>oxyfluorfen   |
|                  |  | Phenylpyrazole                     | fluazolate   | pyraflufen-ethyl  |   |
|                  |  | N-phenylphthalimide                | cinidon-ethyl  | flumioxazin   | flumiclorac-pentyl  |
|                  |  | Thiadiazole                        | fluthiacet-methyl  | thidiazimin   |   |
|                  |  | Oxadiazole                         | oxadiazon  | oxadiargyl  |   |
|                  |  | Triazolinone                       | azafenidin   | carfentrazone-ethyl   | sulfentrazone   |
|                  |  | Oxazolidinedione                   | pentoxazone  |   |   |
|                  |  | Pyrimindione                       | benzfendizone  | butafenacil   |   |
| Other            | flufenpyr-ethyl  | profluazol                         | pyraclonil   |   |   |

|    |   |                           |  |   |  |  |
|----|---|---------------------------|--|---|--|--|
| F1 | Inhibiteurs de la synthèse des caroténoïdes à l'étape de la phytoène désaturase (PDS)                     | Pyridazinone              | norflurazon  |   |  |  |
|    |   | Pyridinecarboxamide       | diflufenican   | picolinafen   |  |  |
|    |   | Other                     | beflubutamid<br>fluridone                                      | flurochloridone<br>flurtamone   |  |  |
| F2 | Inhibiteurs de la synthèse des caroténoïdes au niveau de la 4-hydroxyphényl-pyruvate-dioxygénase (4-HPPD) | Triketone                 | mesotrione   | sulcotrione   |  |  |
|    |   | Isoxazole                 | soxachlortole  | isoxaflutole  |  |  |
|    |   | Pyrazole                  | benzofenap   | pyrazolynate  | pyrazoxyfen  |  |
|    |   | Other                     | benzobicyclon  |   |  |  |
| F3 | Inhibiteurs de la synthèse des caroténoïdes (cible inconnue)  | Triazole                  | amitrole   |   |  |  |
|    |   | Isoxazolidinone           | clomazone  |   |  |  |
|    |   | Urea                      | fluometuron  |   |  |  |
|    |   | Diphenylether             | aclonifen  |   |  |  |
| G  | Inhibiteurs de l'EPSP synthase (synthèse d'acides aminés)   | Glycine                   | glyphosate<br>sulfosate  |   |  |  |
| H  | Inhibiteurs de la glutamine synthétase (photosynthèse)  | Phosphinic acid           | glufosinate-ammonium<br>bialaphos = bilanaphos                 |   |  |  |
| I  | Inhibiteurs de la dihydroptéroate synthase (DHP)  | Carbamate                 | asulam   |   |  |  |
| K1 | Inhibiteurs de l'assemblage des microtubules  | Dinitroaniline            | benefin = benfluralin<br><i>butralin</i><br><i>dinitramine</i> | ethalfuralin<br>oryzalin<br>pendimethalin   | trifluralin  |  |
|    |   | Phosphoroamidate          | amiprofos-methyl   | butamiphos  |  |  |
|    |   | Pyridine                  | dithiopyr  | thiazopyr   |  |  |
|    |   | Benzamide                 | propyzamide =<br>pronamide                                     | tebutam   |  |  |
|    |   | Benzoic acid              | DCPA = chlorthal-<br>dimethyl                                  |   |  |  |
| K2 | Inhibiteurs de la mitose / organisation des microtubules  | Carbamate                 | chlorpropham<br>carbetamide                                    | propham   |  |  |
| K3 | Inhibiteurs de la division cellulaire (VLCFAs)  | Chloroacetamide           | acetochlor<br>alachlor<br>butachlor<br><i>dimethachlor</i>     | dimethanamid<br>metazachlor<br>metolachlor<br><i>pethoxamid</i>                   | pretilachlor<br>propachlor<br><i>propisochlor</i><br>thénylchlor |  |
|    |   | Acetamide                 | diphenamid   | naproanilide  | napropamide  |  |
|    |   | Oxyacetamide              | flufenacet   | mefenacet   |  |  |
|    |   | Tetrazolinone             | fentrazamide   |   |  |  |
|    |   | Other                     | anilofos   | cafenstrole   | piperophos   |  |
| L  | Inhibiteurs de la synthèse de la cellulose des parois cellulaires   | Nitrile                   | dichlobenil  | chlorthiamid  |  |  |
|    |   | Benzamide                 | isoxaben   |   |  |  |
|    |   | Triazolocarboxamide       | flupoxam   |   |  |  |
|    |   | Quinoline carboxylic acid | quinclorac (for monocots) (also group O)                       |   |  |  |
| M  | Découplage de la phosphorylation oxydative (chaîne respiratoire)  | Dinitrophenol             | DNOC<br>dinoseb<br>dinoterb                                    |   |  |  |
| N  | Inhibiteurs de la synthèse de lipides (mécanisme différent de la classe A)                                | Thiocarbamate             | butylate<br>cycloate<br>dimepiperate<br>EPTC<br>esprocarb      | molinate<br>orbencarb<br>pebulate<br>prosulfocarb<br>thiobencarb =<br>benthiocarb | tiocarbazil<br>triallate<br>vernolate                            |  |
|    |   | Phosphorodithioate        | bensulide  |   |  |  |
|    |   | Benzofuran                | benfuresate  | ethofumesate  |  |  |
|    |   | Chloro-Carbonic-acid      | dalapon  | flupropanate  | TCA  |  |
| O  | Substances mimétiques de l'acide indole acétique  | Phenoxy-carboxylic-acid   | clomeprop<br>2,4-D<br>2,4-DB                                   | dichlorprop =<br>2,4-DP MCPA<br>MCPB  | mecoprop = MCPP =<br>CMPP  |  |
|    |   | Benzoic acid              | chloramben   | dicamba   | TBA  |  |
|    |   | Pyridine carboxylic acid  | clopyralid<br>fluroxypyr                                       | picloram<br>triclopyr   |  |  |
|    |   | Quinoline carboxylic acid | quinclorac (also group L)                                      |   | quinmerac  |  |
|    |   | Other                     | benazolin-ethyl  |   |  |  |

|                                |                          |  |   |  |
|--------------------------------|--------------------------|--|---|--|
| <b>Z Mode d'action inconnu</b> | Arylamino propionic acid | Flamprop-M-methyl /-isopropyl  |   |  |
|                                | Pyrazolium               | difenzoquat  |   |  |
|                                | Organo selenate          | DSMA   | MSMA  |  |
|                                | Other                    | bromobutide<br>(chloro)-<br>flurenolcinmethylin<br>cumyluron<br>dazomet<br>dymron = daimuron | fosamine<br>methyl-dimuron =<br>methyl-dymron<br>etobenzanid<br>indanofan | metam<br>oxaziclomefone<br>oleic acid<br>pelargonic acid<br>pyributicarb |

Tableau d'après le HRAC (site : <http://www.hracglobal.com/>) et selon Schmidt, 1997

## Annexe 3. Extraits de la Directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement

Les extraits ci-dessous concernent la définition du terme "organisme génétiquement modifié" par la Directive ainsi que son champ d'application.

Deux articles sont concernés, ainsi que les Annexes auxquelles ils font référence.

### Article 2. Définitions

Aux fins de la présente directive, on entend par :

[...]

2) "organisme génétiquement modifié (OGM)": un organisme, à l'exception des êtres humains, dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle.

Aux fins de la présente définition:

a) la modification génétique se fait au moins par l'utilisation des techniques énumérées à l'**annexe I A, première partie**;

b) les techniques énumérées à l'**annexe I A, deuxième partie**, ne sont pas considérées comme entraînant une modification génétique.

[...]

### Article 3. Exemptions

1. La présente directive ne s'applique pas aux organismes obtenus par les techniques de modification génétique énumérées à l'**annexe I B**.

[...]

## **Annexe I A : Techniques visées à l'article 2, point 2)**

### PREMIÈRE PARTIE

Les techniques de modification génétique visées à l'article 2, point 2, sous a), sont, entre autres:

1) les techniques de recombinaison de l'acide désoxyribonucléique impliquant la formation de nouvelles combinaisons de matériel génétique par l'insertion de molécules d'acide nucléique, produit de n'importe quelle façon hors d'un organisme, à l'intérieur de tout virus, plasmide bactérien ou autre système vecteur et leur incorporation dans un organisme hôte à l'intérieur duquel elles n'apparaissent pas de façon naturelle, mais où elles peuvent se multiplier de façon continue;

2) les techniques impliquant l'incorporation directe dans un organisme de matériel héréditaire préparé à l'extérieur de l'organisme, y compris la micro-injection, la macro-injection et le microencapsulation;

3) les techniques de fusion cellulaire (y compris la fusion de protoplastes) ou d'hybridation dans lesquelles des cellules vivantes présentant de nouvelles combinaisons de matériel génétique héréditaire sont constituées par la fusion de deux cellules ou davantage au moyen de méthodes qui ne sont pas mises en oeuvre de façon naturelle.

### DEUXIÈME PARTIE

Les techniques visées à l'article 2, point 2, sous b), qui ne sont pas considérées comme entraînant une modification génétique, à condition qu'elles n'impliquent pas l'emploi de molécules d'acide nucléique recombinant ou d'OGM obtenus par des techniques/méthodes autres que celles qui sont exclues par l'annexe I B, sont:

1) la fécondation in vitro;

2) les processus naturels tels que la conjugaison, la transduction, la transformation, ou

3) l'induction polyploïde.

### **Annexe I B : Techniques visées à l'article 3**

Les techniques/méthodes de modification génétique produisant des organismes à exclure du champ d'application de la présente directive, à condition qu'elles n'impliquent pas l'utilisation de molécules d'acide nucléique recombinant ou d'OGM autres que ceux qui sont issus d'une ou plusieurs des techniques/méthodes énumérées ci-après, sont :

- 1) la mutagenèse;
- 2) la fusion cellulaire (y compris la fusion de protoplastes) de cellules végétales d'organismes qui peuvent échanger du matériel génétique par des méthodes de sélection traditionnelles.

L'intégralité du texte est consultable sur :

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2001:106:0001:0038:FR:PDF>