

HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 6 mai 2010

AVIS

en réponse à la saisine¹ **100226-saisine HCB-dossier 1507 culture**
concernant la partie « culture » du dossier **C/ES/01/01**².

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 24 février 2010 par les autorités compétentes françaises (la Direction générale de l'alimentation du Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche) d'une demande d'avis relative à une nouvelle évaluation de la partie « culture » du dossier C/ES/01/01 relatif à la mise sur le marché du maïs 1507 pour la culture, l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation animale.

Ce dossier est déposé par Pioneer Hi-Bred International, Inc. et Mycogen Seeds (c/o Dow AgroSciences LLC), dans le cadre de la directive 2001/18/CE sous la référence **C/ES/01/01**. La saisine du HCB concernant la partie culture est référencée **100226-saisine HCB-dossier 1507 culture**.

Le Comité scientifique (CS)³ du HCB a procédé à l'examen du dossier le 6 avril 2010 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès.

¹ La saisine « **100226-saisine HCB-dossier 1507 culture** » est reproduite dans l'Annexe 1.

² Un addendum relatif à une information communiquée par le pétitionnaire après la rédaction du présent avis a été intégré en fin d'avis p. 24.

³ La composition du CS ainsi que le rapporteur externe ayant contribué à l'élaboration de l'avis sont indiqués dans l'Annexe 2.

RESUME DE L'AVIS⁴

La saisine reçue par le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) porte uniquement sur l'évaluation des risques associés à la culture de variétés de maïs génétiquement modifiées portant l'événement 1507.

Description du produit

Le maïs 1507 contient deux transgènes : (1) le gène *cry1F*, exprimant la fraction toxique de la toxine insecticide Cry1F de *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai* ; (2) le gène *pat*, exprimant l'enzyme phosphinothricine acétyl transférase (PAT) de *Streptomyces viridochromogenes*.

La protéine Cry1F a une activité insecticide de spectre étroit lié à la présence de récepteurs chez les insectes cibles. L'enzyme PAT confère une tolérance à la phosphinothricine (matière active d'une famille d'herbicides).

Les transgènes, placés en tandem sur un fragment d'ADN de 6186 pb, ont été caractérisés au niveau moléculaire : l'insert est localisé en un site unique dans le génome du maïs (le chromosome n'est pas indiqué), et n'interrompt pas de gène du maïs. Les séquences protéiques transgéniques sont conformes aux produits attendus. Les transgènes et les phénotypes qu'ils induisent sont stables sur plusieurs générations.

Impact sur la santé humaine et animale

Aucun effet défavorable sur la santé humaine et animale n'a été détecté dans les études de toxicité et d'alimentarité du maïs 1507.

Dissémination

Le maïs est une plante annuelle non envahissante et aucune installation de populations férales⁵ n'a été observée en Europe. Toutefois, les grains peuvent survivre deux années dans le sol et donner quelques repousses qui devront être gérées par d'autres moyens que les herbicides à base de phosphinothricine pour lequel ce maïs est tolérant.

La pollinisation maïs à maïs ne présente pas un risque pour l'environnement mais doit être prise en compte dans le cadre de la coexistence entre cultures transgéniques et non transgéniques. Le maïs n'est pas interfécond avec d'autres espèces en Europe.

Résistance au maïs 1507 parmi les insectes cibles

Il existe un exemple de développement d'une résistance en champ suite à l'introduction de maïs 1507 : il s'agit d'une population de *Spodoptera frugiperda* à Puerto-Rico. Cette résistance s'est développée au bout de quatre ans, constituant le cas le plus rapide de développement d'une résistance aux toxines de *B. thuringiensis* en champ. Ce ravageur n'est pas présent sur le continent Européen – en revanche, il est commun en Guadeloupe et en Martinique. Cet exemple démontre la possibilité de développement *in natura* de résistances dans les populations des ravageurs ciblés par certains maïs *Bt*⁶, y compris à des échelles de temps très courtes.

Concernant la cible principale du maïs 1507 en France, *Ostrinia nubilalis*, une souche résistante à la toxine Cry1F a été sélectionnée en laboratoire. Cette résistance est d'un niveau suffisant pour permettre la survie des larves de ce ravageur sur du maïs 1507. Les individus résistants sont toutefois moins performants que les individus sensibles lorsqu'ils se nourrissent de maïs conventionnels.

⁴ Ce résumé ne se substitue pas à l'analyse du dossier développée dans cet avis.

⁵ Se dit d'animaux ou plantes qui de l'état de culture ou de domesticité sont repassés à l'état sauvage.

⁶ Maïs exprimant une toxine de *B. thuringiensis*.

La sélection d'allèles de résistance dans les populations d'insectes cibles ne feraient encourir *a priori* aucun risque environnemental, mais uniquement un risque économique pour l'agriculteur et le pétitionnaire. Ce risque ne pouvant être écarté, le pétitionnaire propose un plan de gestion de la résistance et un suivi de l'évolution de l'éventuelle résistance, basés sur la mise en place de zones refuges. Ces zones permettront de réduire l'intensité de la sélection et donc de retarder, voire d'empêcher, l'éventuelle apparition d'une résistance.

Impacts du maïs 1507 sur les invertébrés non-cibles

Sur la base des connaissances actuelles, nous pouvons *a priori* conclure que la culture du maïs 1507, comme toute autre stratégie de lutte contre les ravageurs, devrait tout au plus avoir un impact indirect sur les hyménoptères parasitoïdes spécialistes d'*O. nubilalis* et de *S. nonagrioides*, résultant de la suppression des larves de ces deux papillons, hôtes de ces parasitoïdes. Un impact sur les autres guildes d'invertébrés paraît improbable étant donné le spectre étroit de la spécificité de l'activité insecticide de Cry1F. A ce jour, les quelques études publiées et celles rapportées par le pétitionnaire ne révèlent aucun effet du maïs 1507 ou de la toxine Cry1F sur les invertébrés non-cibles.

Il est toutefois important de noter que le nombre d'études sur l'impact de la toxine Cry1F ou du maïs 1507 sur les invertébrés non-cibles est extrêmement limité. De plus, ces études ont, le plus souvent, été conduites sur des espèces non européennes.

Impact de l'utilisation de l'herbicide préconisée dans l'itinéraire de culture du maïs 1507

Aucun risque pour la santé ou l'environnement n'a été mis en évidence dans l'analyse de l'utilisation de l'herbicide phosphinothricine préconisée dans l'itinéraire de culture du maïs 1507. Toutefois, considérant les dérives observées lors de l'utilisation d'autres herbicides totaux, les bonnes pratiques agronomiques classiques de l'utilisation d'un herbicide total devraient être rigoureusement appliquées pour éviter le risque de sélection de plantes adventices tolérantes.

Plans de surveillance post-commercialisation

Compte tenu de lacunes importantes dans le présent dossier, il est difficile de cerner si le pétitionnaire a pris la mesure de toute l'importance qui doit être accordée aux plans de surveillance en cas d'autorisation d'une mise en culture. En cas de mise en culture du maïs 1507, le Comité scientifique (CS) du HCB recommande la mise en place de plans de surveillance post-commercialisation (PSPC) spécifique et générale portant sur les deux transgènes introduits (*cry1F* et *pat*).

Le plan de surveillance spécifique est destiné à mettre en évidence les changements prévisibles. En ce qui concerne la surveillance des phénomènes de résistance que pourraient acquérir les insectes, le CS attire l'attention du pétitionnaire sur l'importance des précédents récemment observés en Amérique du Nord et lui demande de préciser les méthodes qu'il compte diligenter à cette occasion. L'établissement de zones refuges — consistant ici en cultures de maïs n'exprimant pas la protéine Cry1F et non traitées avec des biopesticides contenant la protéine Cry1F — permet effectivement de ralentir ou d'empêcher le développement éventuel de résistance à la protéine Cry1F. Les mesures proposées par le pétitionnaire à cet égard sont pertinentes. Elles doivent néanmoins s'adapter et s'intégrer au paysage parcellaire agricole français et européen. Il est demandé au pétitionnaire d'actualiser les données présentées dans le dossier à la lumière des avancées scientifiques récentes.

Le plan de surveillance générale a pour objet de surveiller les effets inattendus sur la santé humaine ou animale et sur l'environnement. Les plans de surveillance se doivent de concerner non seulement les parcelles cultivées avec du maïs 1507 mais aussi les champs limitrophes. Le suivi de l'entomofaune devra s'attacher à choisir des espèces pertinentes à suivre en fonction des zones géographiques considérées et à définir l'échelle d'observation. Le CS du HCB invite le pétitionnaire à décrire les techniques de surveillance prévues plus précisément et conformément à la directive 2001/18/CE et au règlement (CE) 1829/2003.

Mesures propres à assurer la coexistence des filières

Le CS du HCB demande au pétitionnaire de s'assurer de la mise en place de mesures propres à permettre la coexistence entre les cultures de maïs transgéniques 1507, si elles étaient autorisées, et les cultures de maïs non transgéniques, en prenant en compte les caractéristiques locales des paysages agricoles. Ces mesures devront être appliquées au titre de la coexistence des filières selon la loi n° 2008-595 du 25 juin 2008.

En conclusion

Au terme de l'analyse de l'ensemble des données fournies par le pétitionnaire et de données supplémentaires disponibles dans la littérature scientifique, le CS du HCB note que :

- l'apparition de résistances à la toxine Cry1F a été observée en conditions naturelles et sur une échelle de temps courte, sur des ravageurs absents en Europe mais présents dans les DOM-TOM ;
- l'application de phosphinothricine sur les adventices doit être réalisée à un stade précoce de leur développement afin de les éradiquer, sans garantie de succès pour les adventices pérennes ;
- l'analyse statistique des données n'étant pas conforme aux récentes recommandations de l'AESA (postérieures au dépôt du dossier), la conclusion du pétitionnaire sur l'équivalence du maïs 1507 avec le contrôle quasi-isogénique non transgénique ne peut être validée ;
- le dossier fourni par le pétitionnaire aurait mérité une mise à jour ; en particulier les plans de surveillance post-commercialisation sont insuffisamment développés pour que le CS puisse évaluer leur efficacité.

Le CS recommande que la culture du maïs 1507, si elle était autorisée, soit accompagnée de mesures propres à :

- répondre au risque de développement d'insectes résistants à la toxine Cry1F par la mise en place de zones refuges selon les recommandations du présent avis ;
- répondre au risque de sélection de plantes adventices tolérantes à la phosphinothricine par un encadrement rigoureux des pratiques d'utilisation de cet herbicide total ;
- mesurer l'impact sur l'environnement par l'amélioration des plans de surveillance post-commercialisation selon les recommandations du présent avis.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION.....	6
2. CARACTERISTIQUES DES PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES	7
2.1 DESCRIPTION DU PRODUIT	7
2.2 CARACTERISTIQUES DE LA CONSTRUCTION GENETIQUE	7
2.3 METHODE DE TRANSFORMATION	8
2.4 CARACTERISTIQUES DU MAÏS 1507	8
3. SANTE HUMAINE ET ANIMALE	10
3.1 TOXICITE.....	10
3.2 POTENTIEL ALLERGISANT	11
3.3 DIGESTIBILITE	11
3.4 VALEUR NUTRITIONNELLE.....	11
3.5 CONSIDERATIONS STATISTIQUES.....	11
4. EVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT.....	11
4.1 DISSEMINATION POTENTIELLE DES TRANSGENES PAR LES GRAINES.....	12
4.2 DISSEMINATION POTENTIELLE DES TRANSGENES PAR LE POLLEN VERS D'AUTRES PLANTES (TRANSFERT DE GENE VERTICAL)	12
4.3 DISSEMINATION POTENTIELLE DES TRANSGENES VERS LES BACTERIES DU SOL (TRANSFERT DE GENE HORIZONTAL).....	13
4.4 IMPACT POTENTIEL SUR LES ORGANISMES CIBLES : EVALUATION DU RISQUE DE DEVELOPPEMENT DE RESISTANCE CHEZ LES INSECTES CIBLES	14
4.5 IMPACT POTENTIEL SUR LES ORGANISMES NON-CIBLES	16
5. EVALUATION DES RISQUES ASSOCIES A L'UTILISATION PRECONISEE D'HERBICIDE DANS L'ITINERAIRE DE CULTURE DU MAÏS 1507	17
6. MESURES PROPRES A ASSURER LA COEXISTENCE DES FILIERES	20
7. PLAN DE SURVEILLANCE POST-COMMERCIALISATION.....	21
7.1 PLAN DE SURVEILLANCE GENERALE	21
7.2 PLANS DE SURVEILLANCE SPECIFIQUE	21
7.3 COMMENTAIRES ET RECOMMANDATIONS.....	22
8. CONCLUSIONS.....	23
* ADDENDUM.....	24
9. BIBLIOGRAPHIE.....	24
ANNEXE 1 : SAISINE	30
ANNEXE 2 : ELABORATION DE L'AVIS.....	32
ANNEXE 3 : RECOMMANDATIONS EN MATIERE DE BIOSURVEILLANCE	33

1. Introduction

Le maïs 1507⁷ a précédemment reçu deux autorisations de mise sur le marché de la Commission européenne : la première en 2005, pour l'importation et toute utilisation autre que la culture et l'alimentation humaine, incluant l'alimentation animale, au titre de la directive 2001/18/CE (dossier C/NL/00/01) [Décision 2005/772/EC, (EC, 2005)] et la deuxième en 2006, pour l'alimentation humaine, au titre du règlement 1829/2003/CE (dossier EFSA/GMO/NL/2004/02) [Décision 2006/197/EC (EC, 2006)].

Le dossier présent, relatif à la mise sur le marché du maïs 1507 pour la culture, l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation animale, a été déposé en 2001 par Pioneer Hi-Bred International, Inc. et Mycogen Seeds (c/o Dow AgroSciences LLC) auprès des Autorités compétentes espagnoles, dans le cadre de la directive 2001/18/CE, sous la référence C/ES/01/01. Les Autorités espagnoles ont transmis un rapport favorable à la Commission. En France, l'Afssa⁸ et la CGB⁹ ont été saisies pour avis par les Autorités compétentes françaises.

L'Afssa a été saisie le 4 septembre 2003, le 23 janvier 2004 et le 21 avril 2004, par la Direction générale de l'alimentation, de demandes d'avis relatifs au dossier C/ES/01/01 concernant l'utilisation du maïs 1507 à des fins d'alimentation animale. Le 19 février 2004, en se fondant sur les résultats présentés dans le dossier initial et ceux apportés dans les compléments, notamment sur la construction génétique, le métabolisme de la phosphinothricine dans le maïs grain 1507, et l'étude d'alimentarité de vaches laitières nourries avec du maïs grain et la plante entière, l'Afssa conclut que la consommation de maïs 1507 par les animaux présente le même niveau de sécurité sanitaire que la consommation de maïs non génétiquement modifié (Afssa, 2004b). Saisie d'une demande d'avis relative à des compléments d'information en réponse aux objections des Etats membres, l'Afssa confirme cet avis le 6 mai 2004 (Afssa, 2004a).

La CGB a été saisie le 4 septembre 2003, le 21 avril 2004, le 15 mars 2005 et le 22 août 2006, par la Direction générale de l'alimentation, de demandes d'avis relatifs au dossier C/ES/01/01. Au vu de lacunes dans le dossier de l'époque, la CGB n'a pas été en mesure de s'exprimer sur les risques pour la santé et l'environnement en réponse à la première saisine (CGB, 2003). Au regard des compléments d'information apportés ultérieurement, la CGB conclut le 17 mai 2004 que la mise sur le marché du maïs génétiquement modifié 1507 pour tous les usages prévus dans le dossier ne présente pas plus de risques pour la santé que la mise sur le marché du maïs non génétiquement modifié, mais qu'une incertitude persiste concernant les risques pour l'environnement (CGB, 2004). En 2006, la CGB considère que l'impact du maïs 1507 sur les organismes non-cibles n'est toujours pas correctement pris en charge dans le dossier (CGB, 2006).

En 2005, le panel OGM¹⁰ de l'AESA¹¹ conclut que le maïs 1507 n'aura pas d'effets négatifs sur la santé humaine et animale et sur l'environnement dans le cadre des usages proposés (EFSA, 2005). Après une nouvelle évaluation visant à répondre aux objections de certains Etats membres concernant l'impact sur les organismes non-cibles, l'AESA confirme cette conclusion (EFSA, 2006). Une étude bibliographique sur onze articles publiés dans l'intervalle concernant l'impact sur les organismes non-cibles a confirmé la validité de cet avis en juillet 2008 (EFSA, 2008).

Ce dossier a fait l'objet d'un vote en comité réglementaire le 25 février 2009. Aucune majorité qualifiée n'ayant été réunie, il appartient maintenant au Conseil des ministres de se prononcer. Dans cette perspective, le HCB a été saisi¹² le 24 février 2010 par la Direction générale de l'alimentation du Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche d'une demande d'avis relative à une nouvelle évaluation de la partie « culture » du dossier C/ES/01/01.

⁷ L'expression « maïs 1507 » désigne la lignée de maïs 1507 d'origine ainsi que toute lignée contenant l'événement 1507 par croisement avec la lignée 1507 d'origine.

⁸ Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

⁹ Commission du Génie Biomoléculaire.

¹⁰ Organismes génétiquement modifiés.

¹¹ Autorité européenne de sécurité des aliments, ou EFSA : European Food Safety Authority.

¹² La présente saisine du HCB est reproduite dans l'Annexe 1.

2. Caractéristiques des plantes génétiquement modifiées

2.1 Description du produit

Le maïs 1507 exprime deux transgènes : le gène *cry1F* de *Bacillus thuringiensis*, conférant une résistance à des insectes lépidoptères ravageurs du maïs, et le gène *pat* de *Streptomyces viridochromogenes*, conférant une tolérance à une famille d'herbicides dont la matière active est la phosphinothricine¹³.

Le gène *cry1F* a été initialement cloné à partir de la souche *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* EG6346 (Chambers et al., 1991). La protéine Cry1F est toxique contre certains lépidoptères dont la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*, European corn borer) et la sésamie (*Sesamia nonagrioides*, Mediterranean corn borer), ravageurs des cultures de maïs en Europe.

Cette propriété de spécificité insecticide se retrouve chez les toxines de la famille des protéines Cry à trois domaines comme Cry1F. Le mode d'action et la spécificité de ces toxines ont été très bien étudiés. L'ensemble des travaux permet de conclure que leur spectre d'activité est restreint à quelques espèces d'insectes et qu'il dépend de récepteurs spécifiques (des aminopeptidases membranaires et des protéines de type cadhérine) localisés à la surface des cellules épithéliales de l'intestin des insectes sensibles [pour revue : (Bravo et al., 2007; de Maagd et al., 1996; Schnepf et al., 1998)].

Différentes méthodes ont montré que la toxine Cry1F se fixait spécifiquement sur les vésicules de bordure en brosse de l'épithélium intestinal des larves d'*O. nubilalis* et de *S. nonagrioides* (Gonzalez-Cabrera et al., 2006). Certains de ces sites de fixation sont communs avec ceux de la toxine Cry1Ab (Gonzalez-Cabrera et al., 2006; Granero et al., 1996; Hua et al., 2001), utilisée dans les plantes transgéniques MON810 ou Bt11. En termes de spécificité et d'activité insecticide, Cry1F a une activité comparable à celle de Cry1Ab vis-à-vis des larves néonates d'*O. nubilalis*¹⁴, mais significativement inférieure vis-à-vis des larves néonates de *S. nonagrioides*¹⁵, même si cette activité est suffisante pour assurer la protection totale des maïs 1507 contre la sésamie. On peut aussi noter que, contrairement à Cry1Ab, la protéine Cry1F ne présente aucune toxicité contre les larves du papillon Monarque (*Danaus plexippus*)¹⁶ (Hellmich et al., 2001) (voir paragraphe 4.5 sur l'entomofaune non-cible).

Le maïs 1507 exprime la fraction toxique de la protéine Cry1F, telle qu'elle peut être obtenue après digestion de la protéine microbienne à la trypsine *in vitro*, ou après digestion dans un intestin d'insecte. Différentes analyses indiquent qu'il n'y a aucune différence immunologique et biochimique (notamment en ce qui concerne l'absence de glycosylation) entre la protéine produite par la plante et celle produite par une bactérie et traitée à la trypsine.

Par ailleurs, le maïs 1507 exprime l'enzyme PAT (phosphinothricine-*N*-acetyltransférase) de *S. viridochromogenes*, à un niveau qui le rend tolérant à des taux d'application en champ de 1600 g a.i./ha¹⁷ (quatre fois la dose recommandée) d'herbicide à base de phosphinothricine (voir chapitre 5).

2.2 Caractéristiques de la construction génétique

Le plasmide PHP8999 (9504 pb¹⁸) utilisé lors de la transformation porte deux gènes susceptibles de s'exprimer dans un eucaryote.

¹³ La phosphinothricine est aussi connue sous le nom de glufosinate.

¹⁴ Des essais de toxicité réalisés avec des toxines purifiées à partir de *B. thuringiensis* indiquaient une concentration létale 50 (CL50) de 0,027 (0,022-0,033) µg par cm² de surface de nourriture vis-à-vis de larves néonates d'*O. nubilalis* (Chambers et al., 1991), ou de 0,36 (0,18-1,40) µg par mL de nourriture (Hua et al., 2001). Ces très fortes activités sont comparables à celles obtenues avec la toxine Cry1Ab.

¹⁵ Vis-à-vis de larves néonates de *S. nonagrioides*, la CL50 de Cry1Fa est dix fois supérieure à celle obtenue avec la toxine Cry1Ab (Gonzalez-Cabrera et al., 2006).

¹⁶ Vis-à-vis de larves de *D. plexippus*, la CL50 de la protéine Cry1Fa purifiée est supérieure à 30 µg par mL de nourriture. Par comparaison, la CL50 de la toxine Cry1Ab au 2^e ou 3^e stade larvaire est de 0,035 (0,030-0,100) µg par mL (Hellmich et al., 2001).

¹⁷ g a.i./ha (grammes of active ingredient per hectare) : grammes de matière active par hectare.

¹⁸ pb : paires de bases d'ADN.

Le premier gène est constitué :

- du promoteur, de la région 5' non traduite, et du premier intron d'un gène d'ubiquitine du maïs *ubiZM1*(2),
- d'une version tronquée de la séquence codante de *Cry1F* de *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* EG6346 dont les codons sont optimisés pour l'expression dans les plantes,
- de la région de polyadénylation de l'ORF¹⁹25 (mannopine synthase) du plasmide pTi15995 d'*Agrobacterium tumefaciens*.

Le deuxième gène est constitué :

- du promoteur de l'ARN 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV),
- de la séquence du gène *pat* codant la phosphinothricine acétyl transférase de *S. viridochromogenes*, dont les codons sont optimisés pour l'expression dans les plantes,
- du terminateur de l'ARN 35S du CaMV.

Ce plasmide, amplifié dans *Escherichia coli*, porte une origine de répllication bactérienne *ori*, et le gène procaryote de résistance à la kanamycine, *npII*.

La séquence codante du gène *cry1F* tronqué fait 1818 pb et a été optimisée pour présenter des codons spécifiques de la machinerie traductionnelle des végétaux. Un seul acide aminé a été modifié par rapport à la séquence initiale : une leucine remplace une phénylalanine en position 604, afin de créer un site de restriction *XhoI* en fin de séquence nucléique. Elle code une protéine de 606 aa contenant la partie active de la protéine Cry1F (partie amino-terminale de la protéine native de *B. thuringiensis* ssp. *aizawai*).

Hormis les deux gènes *cry1F* et *pat*, un seul cadre de lecture potentiel (ORF4), de 630 pb, peut être détecté sur le fragment d'ADN PHI8999 utilisé lors de la transformation. Les cadres de lecture codant potentiellement des peptides de moins de 100 acides aminés ne sont pas pris en compte dans cette étude, du fait de leur présence en très grand nombre dans le génome de maïs. Néanmoins, aucune région régulatrice (promotrice) potentielle n'est détectée en amont de l'ORF4, ce qui rend son expression très improbable dans le maïs 1507.

2.3 Méthode de transformation

La lignée de maïs 1507 a été obtenue par « bombardement de particules » d'embryons immatures de la lignée de maïs Hi-II avec le fragment *Pmel* (PHI8999, 6235 pb) du plasmide PHP8999, purifié sur gel d'électrophorèse, portant les gènes *cry1F* et *pat*. Les cals issus des embryons traités ont été sélectionnés *in vitro* en utilisant la phosphinothricine comme agent sélectif puis régénérés en plantes entières à partir des cals résistants.

Le plasmide d'origine (PHP8999) porte aussi un gène procaryote de résistance à la kanamycine, mais la transformation ayant été réalisée avec le fragment PHI8999 d'ADN purifié, celui-ci n'est pas présent dans la plante 1507.

La plante d'origine 1507, régénérée à partir d'un cal sélectionné sur phosphinothricine, a été sélectionnée parmi d'autres pour ses aptitudes agronomiques et son bon niveau de résistance à la pyrale.

2.4 Caractéristiques du maïs 1507

- Nombre de sites d'insertions et de copies des transgènes

De nombreuses analyses moléculaires de type Southern ont été réalisées sur de l'ADN de différentes lignées transgéniques issues de rétrocroisements et d'autofécondations de la lignée 1507 d'origine et de témoins non transgéniques. L'insertion du fragment d'ADN portant les deux gènes est unique et pratiquement complète (6186 pb sur 6235 pb). Un fragment de

¹⁹ ORF (*Open Reading Frame*) : cadre ouvert de lecture, correspondant à une séquence d'ADN comprise entre des codons standard d'initiation et de terminaison de traduction, codant potentiellement une protéine.

la séquence codante (environ 330 pb) de *cry1F* est présent en amont de l'insertion (détectable en Southern blot et par séquençage).

Aucune autre région du plasmide d'origine (incluant le gène procaryote *npII* ou l'origine de répllication *ori* du plasmide PH8999) n'est détectable dans ces maïs.

- Séquençage de l'insert et des régions flanquantes

L'insertion (6186 pb) ainsi que 2,8 et 2,1 kb des régions adjacentes 5' et 3', respectivement, ont été séquencées chez le maïs 1507. La séquence a mis en évidence quinze régions contiguës, en se basant sur des analyses d'homologie de séquences nucléiques, et montre que la zone a été remaniée lors de l'insertion :

Région 1	1-669	ADN génomique de maïs, sans homologie connue
Région 2	670-869	ADN génomique de maïs
Région 3	869-1681	Fragment du rétrotransposon Huck-1 de maïs
Région 4	1682-2016	Fragment du gène <i>cry1F</i>
Région 5	2017-2237	Fragment du gène chloroplastique de maïs <i>rpoC2</i>
Région 6	2238-2357	Fragment du gène chloroplastique de maïs <i>trnI</i> (identique à 100%) Fragment du promoteur du gène de maïs <i>ubiZM1(2)</i> présent sur PH18999A (homologue à 82%)
Région 7a	2358-2558	Fragment du gène <i>pat</i>
Région 7b	2559-2696	Fragment du gène <i>pat</i>
Région 7c	2697-2711	Fragment du gène <i>cry1F</i>
Région 8	2712-2829	Fragment du polylinker
Région 9	2830-9015	Insert PH18999A (contenant les transgènes) entier
Région 10	9016-9565	Fragment inversé du terminateur ORF25
Région 11	9566-9695	Fragment du gène chloroplastique <i>rps12</i> rRNA
Région 12	9696-10087	Fragment d'ADN chloroplastique du maïs
Région 13	10088-10277	Fragment du gène <i>pat</i>
Région 14	10278-10358	Fragment du gène chloroplastique de maïs ORF241
Région 15	10359-11361	ADN génomique de maïs, sans homologie connue

Des expériences de PCR montrent que les régions autres que celles de l'insert sont bien des régions de maïs présentes dans le maïs contrôle Hi-II non transgénique, parfois sous une forme remaniée. Ces remaniements peuvent être dus à l'insertion du fragment ou s'être accumulés lors des différents croisements effectués sur la plante d'origine. Des hybridations moléculaires de type Southern, réalisées postérieurement à ce séquençage, confirment la présence de fragments surnuméraires et tronqués de séquences codantes de *pat* et *cry1F*, et confirment l'absence de fragments détectables des régions plasmidiques d'origine (*npII* et *ori* notamment).

Aucun gène du maïs n'a été interrompu par l'insertion du fragment portant les transgènes.

- Stabilité et héritabilité des transgènes et de leur phénotype dans le maïs

Les différentes analyses génétiques et moléculaires réalisées après plus de six générations d'autofécondation et de croisements successifs montrent que l'insertion en un site unique est stablement héritée (ségrégation 1R:1S en croisement et 3R:1S en autofécondation à partir d'une lignée hémizygote pour la résistance à l'herbicide et la résistance à la pyrale).

- Expression des transgènes dans le maïs 1507

Quatre ORF potentielles de plus de 100 aa peuvent être détectées *in silico* dans la région séquencée. Les deux premières correspondent à des séquences de maïs (notamment de parties de rétrotransposons, très nombreux dans le génome du maïs). Pour les ORF3 (250 aa) et 4 (210 aa), leur expression potentielle a été étudiée par hybridation moléculaire de type northern et par RT-PCR. Ces ORF ne sont associées à aucun signal de transcription et ne présentent pas d'homologie avec des ORF connues ayant un effet négatif sur la santé.

L'ORF3 est un mélange de séquences de *cry1F*, de *pat* et d'antisens *pat* ainsi que de gènes et séquences chloroplastiques de maïs. Aucune expression de cette ORF n'est détectable par northern blot sur des graines en développement ou par RT-PCR.

Un faible niveau d'expression de l'ORF4 peut être détecté par RT-PCR (mais non par northern blot), en utilisant des amorces situées dans la région 3' du gène *cry* localisé en 5' de cette ORF. L'explication donnée par les auteurs serait que certains messagers du gène *cry* précèdent seraient plus longs et porteraient l'ORF4, l'ARN polymérase ayant dépassé les signaux de terminaison de transcription du terminateur ORF25. Ces éventuels messagers seraient donc polycistroniques et l'ORF4 n'aurait aucune chance d'être traduite en protéine chez un eucaryote.

Dans des graines en développement, les ARN messagers de *cry* sont détectables par northern blot et RT-PCR, et un signal de taille correspondant à la protéine Cry1F est visible en western blot. Dans les mêmes tissus, seule la RT-PCR permet de détecter l'expression du gène *pat*.

L'analyse par western blot permet de détecter la présence de Cry1F dans les feuilles, le pollen, les soies, les tiges, les grains et la plante entière à des concentrations variant de 50 à 1500 pg/µg de protéines totales suivant les organes et les conditions de culture. La protéine PAT n'est détectée par western blot que dans les feuilles.

L'ensemble des données de génétique moléculaire est cohérent et permet une caractérisation très poussée de l'événement de transformation qui est simple et stable.

3. Santé humaine et animale

L'Afssa a conclu en 2004 que la consommation de maïs 1507 par les animaux présentait le même niveau de sécurité sanitaire que la consommation de maïs non génétiquement modifié (Afssa, 2004a). L'AESA a conclu en 2005 qu'il était improbable que le maïs 1507 ait des effets négatifs sur la santé humaine et animale (EFSA, 2005). La Commission européenne a autorisé la mise sur le marché du maïs 1507 pour l'alimentation animale et humaine en 2005 et 2006, respectivement (EC, 2005, 2006).

Dans un souci d'exhaustivité de son analyse, le CS du HCB a réexaminé la partie du dossier concernant l'évaluation des risques pour la santé humaine et animale du maïs 1507.

3.1 Toxicité

- Toxicité orale aiguë :

Aucun effet néfaste de la protéine Cry1F²⁰ n'a été observé à la plus forte dose testée (576 mg/kg pc²¹) après une administration orale unique chez la souris.

Aucun effet néfaste de la protéine PAT n'a été observé aux plus fortes doses testées chez le rat (50 000 mg/kg pc) et la souris (5000 mg/kg pc) après administration unique orale.

²⁰ Tous les tests de toxicité de Cry1F ont été effectués avec une protéine produite par *Pseudomonas fluorescens*. Cette protéine est identique à la protéine tronquée Cry1F produite par le maïs 1507 à l'exception d'une Phe au lieu d'une Leu en position 604 et d'une extension carboxy-terminale de sept acides aminés. Une série d'analyses a démontré que ces protéines étaient comparables.

²¹ Pc : poids corporel.

- Toxicité orale subaiguë des grains de maïs 1507 :

L'étude de toxicité, menée sur 90 jours chez des lots de rats de la lignée Sprague-Dawley (12 mâles, 12 femelles) consommant des régimes constitués de (1) 11 ou 33 % de maïs grain 1507, (2) 11 ou 33 % de maïs quasi-isogénique²² ou 33 % d'une variété commerciale de maïs (dont les compositions en nutriments et en résidus de pesticides, de métaux lourds et de mycotoxines ont été analysées), n'a pas mis en évidence d'effet biologiquement significatif sur la consommation alimentaire, la croissance pondérale des animaux, ni d'effets cliniques neurologiques ou fonctionnels, ni de perturbations des constantes hématologiques et des paramètres chimiques sanguins et urinaires, ni d'anomalies anatomopathologiques macroscopiques et microscopiques des organes.

3.2 Potentiel allergisant

Ni les protéines Cry1F et PAT, ni les peptides putatifs déduits des ORF 3 et 4 situées dans la zone de l'insert, ne partagent de séquences (d'au moins huit acides aminés contigus) avec des allergènes protéiques connus.

De plus, l'alignement des séquences des peptides putatifs déduits des ORF 3 et 4 avec les banques de données n'a pas mis en évidence de similarité avec d'autres protéines ou enzymes toxiques, de sorte qu'il est improbable que leur expression potentielle entraîne des effets néfastes chez l'animal ou chez l'homme.

3.3 Digestibilité

Des études *in vitro* de digestibilité indiquent que les protéines Cry1F et PAT seront très vraisemblablement rapidement dégradées dans l'estomac des consommateurs potentiels.

3.4 Valeur nutritionnelle

L'étude d'alimentarité menée sur 42 jours chez des lots de 35 poulets (sept réplicats de cinq poulets) consommant des régimes constitués de 55 % de maïs grain 1507 ou de maïs BT1360 (dont les teneurs respectives en Cry1F s'élèvent à 2.8 et 3.2 ng/mg), avec un maïs témoin et quatre variétés commerciales, n'a pas mis en évidence d'effet sur la croissance pondérale des animaux, ni sur l'efficacité alimentaire.

3.5 Considérations statistiques

Les études statistiques auxquelles se réfère le pétitionnaire sont des tests de comparaison qui, s'ils ne mettent pas en évidence de différence significative avec le contrôle quasi-isogénique, n'autorisent pas à conclure à l'équivalence en substance. L'AESA a proposé de nouvelles lignes directrices sur l'analyse statistique (EFSA, 2009) qui devraient être appliquées à l'avenir.

4. Evaluation des risques pour l'environnement

Les risques potentiels pour l'environnement incluent les conséquences d'une dissémination des transgènes, et les effets non intentionnels des transgènes sur les organismes cibles et non-cibles. Suite à la mise en culture de maïs transgéniques 1507, les transgènes *cry1F* et *pat* pourraient théoriquement être disséminés en conséquence d'une dispersion de grains ou de pollen, ou d'un transfert d'ADN vers des bactéries.

²² Le maïs non commercial quasi-isogénique utilisé pour comparaison est la lignée 33P66, non génétiquement modifiée, qui a un background génétiquement comparable au maïs 1507.

4.1 Dissémination potentielle des transgènes par les graines

Le maïs est une plante annuelle. En conditions naturelles, le maïs se reproduit uniquement par l'intermédiaire de ces grains car il ne présente pas de moyens de reproduction végétative. La dispersion des grains résulte de l'intervention de l'homme compte tenu de la structure des épis et du fort attachement des grains sur l'axe des épis hérité au cours de la domestication. La dispersion dans l'espace des grains est donc uniquement à considérer en conséquence d'une fuite des grains hors des engins de semis et/ou de récolte.

La pousse de plants de maïs hors des champs cultivés suite à la dissémination des graines est influencée par différents facteurs, notamment la température, l'humidité du sol (les semences pouvant présenter un état de dormance) et la compétition avec les autres plantes. La température conditionne largement la survie des jeunes plants, ceux-ci ne pouvant survivre que quelques heures à des températures en dessous de 0°C. Ainsi, aucune installation de populations férales²³ de maïs n'a été observée à ce jour en Europe. Les graines peuvent survivre deux années dans le sol. Des observations en Espagne ont montré une dissémination des gènes dans le temps *via* la présence de repousses de maïs l'année suivant une culture de maïs. Cette présence de repousses est quasi systématique mais leur nombre est variable selon les années (Palaudelmas et al., 2009). Il faut noter que les repousses de maïs 1507 seraient insensibles aux traitements herbicides à base de phosphinothricine. Les flux de pollen (voir paragraphe suivant) seraient alors rendus possibles à l'intérieur du champ *via* ces repousses.

4.2 Dissémination potentielle des transgènes par le pollen vers d'autres plantes (Transfert de gène vertical)

Le maïs est une plante essentiellement allogame et son pollen est disséminé de plante à plante par contact physique et par le vent (Bateman, 1947; Treu and Emberlin, 2000). Les fleurs mâles et femelles sont séparées sur la plante, les fleurs mâles étant sur les panicules, au sommet des plantes, et les fleurs femelles étant sur des ramifications à l'aisselle des feuilles, surmontées de longues soies ou styles récepteurs du pollen des fleurs mâles. La plupart des variétés de maïs actuelles expriment de la protandrie, la fleur mâle démarrant sa floraison avant la fleur femelle, ce qui favorise l'allogamie.

- Dissémination potentielle des transgènes par le pollen vers d'autres espèces

Le risque d'échappement génétique de maïs *via* le pollen vers d'autres espèces en Europe est nul car la flore européenne ne contient pas de plantes sexuellement compatibles avec le maïs.

- Dissémination potentielle des transgènes par le pollen de champ de maïs à champ de maïs

Concernant l'échappement génétique *via* le pollen de champ de maïs à champ de maïs, vingt jeux de données sur ce sujet ont été collectés et analysés dans le cadre du projet européen SIGMEA (projet FP6, 2004-2007). L'analyse de ces données a permis de comparer les distances de dispersion du pollen entre échelles spatiales ou sous différents climats (Hüsken et al., 2007; Messéan and Angevin, 2007). Il en ressort notamment (1) une forte décroissance de la dispersion de pollen avec la distance (1/1000 à une distance de 100 m de la bordure du champ donneur); (2) une très grande variabilité des taux en fonction des conditions environnementales et expérimentales; (3) le maintien d'une pollinisation croisée à longue distance à des taux faibles mais non nuls; (4) un effet sensible de la densité des champs transgéniques dans le paysage agricole (résultats obtenus à partir des cultures commerciales en Espagne) et (5) un effet très marqué de la direction du vent. Des études sont en cours pour mieux évaluer l'effet de la dynamique de floraison et celui des hétérogénéités spatiales (haies, forêts, relief, etc.) sur les taux de pollinisation croisée. Concernant la dispersion à longue distance (Bannert and Stamp, 2007; Sanvido et al., 2008), une partie du pollen de maïs est emportée par les mouvements convectifs en altitude (Delage et al., 2007) et la redéposition peut se faire à longue distance et donner lieu à une pollinisation efficace (pollen encore viable) à plusieurs km (Brunet, 2008). La taille relative des champs émetteurs et

²³ Se dit d'animaux ou plantes qui de l'état de culture ou de domesticité sont repassés à l'état sauvage.

donneurs, la distance, la synchronisation des floraisons et les caractéristiques du vent sont les facteurs principaux expliquant les niveaux de pollinisation croisée entre champs de maïs (Klein et al., 2006).

La production de semences de maïs est particulièrement sensible à la pollinisation croisée (Messéan et al., 2006). La plupart des variétés de maïs cultivées sont des hybrides et elles sont produites dans des champs où la quantité de pollen émise est sensiblement plus faible que dans des productions de graines pour deux raisons : (1) le nombre de plantes émettant du pollen est limité car les plantes du parent femelle de l'hybride sont castrées ou mâles stériles (en moyenne, seule une plante sur trois dans un champ de production de semences émet du pollen) ; (2) les plantes femelles sont séparées des plantes mâles (quatre à cinq rangs femelles pour deux rangs mâles par exemple) ce qui rend les plantes femelles plus sensibles au pollen extérieur.

Enfin, les lignées parentales d'un hybride produisent moins de pollen [0,5 à 3 millions de grains par plante (Fonseca et al., 2003)] que l'hybride commercialisé [9.6 to 11.3 millions (Uribelarra et al., 2002)].

Il est à noter qu'une dispersion non efficace (qui ne conduira pas à une fécondation) de pollen de maïs *Bt*²⁴ a été observée sur de longues distances *via* les cours d'eau (Douville et al., 2007; Rosi-Marshall et al., 2007). Ce pollen ainsi que les sous-produits du maïs peuvent être consommés par des insectes présents dans les cours d'eau. Des expériences en conditions contrôlées ont montré que l'ingestion de pollens de maïs *Bt* augmentait significativement le taux de mortalité de *Helicopsyche borealis*, un insecte trichoptère qui se nourrit de biofilm algal (Rosi-Marshall et al., 2007). Il faut noter que cet effet est seulement observé à des concentrations très élevées de pollen *Bt*, concentrations supérieures aux concentrations atmosphériques mesurées dans l'étude. Cet effet ne pourrait donc advenir en conditions naturelles qu'en cas d'une concentration du pollen sur le biofilm.

La pollinisation du maïs est anémophile et ne se fait pas par l'intermédiaire d'abeilles. Cependant, le pollen de maïs peut être récolté par les abeilles (Vaissière and Vinson, 1994). Au cours de relevés, du pollen de maïs génétiquement modifié a été retrouvé dans quelques ruches placées à proximité d'un champ de maïs transgénique (données de la chambre d'agriculture d'Agen, 2006).

- Dissémination potentielle des transgènes à partir de pollen de repousses transgéniques dans les champs de maïs

L'estimation de la contribution à la pollinisation croisée montre que les repousses dans les champs pourraient conduire à une présence de plantes génétiquement modifiées dans la récolte jusqu'à 0,16% (Palaudemas et al., 2009). Dans un cadre de coexistence, cette possibilité de flux de gènes doit donc être prise en compte lorsqu'un agriculteur désire revenir à une culture de maïs conventionnel l'année suivant une culture de maïs génétiquement modifié dans les zones où les hivers sont doux. Des observations de repousses ont aussi été rapportées dans des zones plus septentrionales, par exemple en Allemagne (Communication personnelle, Antoine Messéan).

4.3 Dissémination potentielle des transgènes vers les bactéries du sol (Transfert de gène horizontal)

La possibilité de transfert de gènes entre plantes transgéniques et bactéries de l'environnement a été démontrée au laboratoire sur des modèles d'étude composés de plantes transgéniques variées et de quelques bactéries naturellement transformables utilisées comme réceptrices, principalement *Acinetobacter baylii* (Gebhard and Smalla, 1998; Kay et al., 2002; Pontiroli et al., 2009; Rizzi et al., 2008). Cette possibilité de transfert de l'ADN du transgène est liée à la présence de séquences procaryotiques qui peuvent être intégrées par recombinaison dans les régions de forte similarité nucléotidique présentes dans les génomes bactériens.

Dans le cas des transgènes du maïs 1507, les séquences des promoteurs et terminateurs

²⁴ L'article ne précise pas de quel maïs transgénique ou de quel transgène (exprimant quelle toxine de *B. thuringiensis*) il s'agit.

35S du CaMV se différencieraient, de par leur origine virale, des autres séquences transgéniques, d'origine bactérienne, et présenteraient donc une faible probabilité de transfert. Les séquences *cry1F*, *pat*, terminateur d'*A. tumefaciens*, pourraient rentrer dans la catégorie des régions d'ADN pouvant être transférées dans des bactéries préférentiellement, bien que (1) de tels événements de transfert de gène n'aient jamais été mis en évidence en champ (Demanèche et al., 2008), et (2) les séquences nucléotidiques synthétiques des gènes *cry1F* et *pat* aient été modifiées pour optimiser leur expression dans les plantes.

Si un tel événement se produisait, l'avantage sélectif pour la bactérie serait limité compte tenu des caractéristiques des transgènes. Les gènes *cry1F* et *pat* ont en effet été clonés dans la plante sous le contrôle de promoteurs avec introns pour expression en systèmes eucaryotes sans possibilité d'expression de ces gènes dans les bactéries. De plus, il peut être supposé que ces gènes *cry1F* et *pat*, dont la séquence a été optimisée pour une expression dans la plante, ne devraient apporter aucun avantage adaptatif supplémentaire à une bactérie qui les aurait acquis par transfert horizontal, même dans le cas hypothétique d'une intégration en aval d'un promoteur compatible. La fitness²⁵ de cette bactérie devrait au contraire en être affectée.

Dans tous les cas, l'addition de quelques copies supplémentaires de transgènes bactériens provenant de la plante n'aurait pas de conséquences sur l'équilibre populationnel et fonctionnel de la communauté bactérienne, aucun avantage sélectif n'y étant directement associé (Demanèche et al., 2008).

4.4 Impact potentiel sur les organismes cibles : évaluation du risque de développement de résistance chez les insectes cibles

Le développement de résistance, chez les insectes cibles, au traitement insecticide fourni par le transgène *cry1F* serait un indéniable problème économique. En revanche, la sélection d'allèles de résistance dans les populations des insectes cibles ne fait encourir *a priori* aucun risque environnemental. La perte de sensibilité de ces insectes n'engendre *a priori* aucun impact sur l'agroécosystème. Une absence totale d'efficacité du 1507 reviendrait en effet à une simple absence de traitement. La perte d'efficacité pose toutefois le problème de la perte d'une stratégie utile pour lutter contre la pyrale du maïs et la sésamie, stratégie dont l'impact sur l'environnement est moins important que celui des traitements insecticides (voir la partie impact sur l'entomofaune non-cible, paragraphe 4.5).

Il existe un exemple de développement d'une résistance en champ suite à l'introduction de maïs 1507. Il s'agit d'une population de *Spodoptera frugiperda* à Puerto-Rico. Cette résistance s'est développée au bout de quatre ans, constituant le cas le plus rapide de développement d'une résistance aux toxines de *B. thuringiensis* en champ [(Matten, 2007; Matten et al., 2008), cités dans (Tabashnik et al., 2009)]. Le niveau de résistance est impossible à déterminer (les doses les plus fortes que l'on peut tester en laboratoire sont insuffisantes pour tuer les larves résistantes), mais il est au minimum d'un facteur 100. Ce ravageur n'est pas présent sur le continent Européen ; en revanche, il est commun en Guadeloupe et en Martinique. Cet exemple démontre la possibilité de développement *in natura* de résistances dans les populations des ravageurs ciblés par certains maïs *Bt*, y compris à des échelles de temps très courtes.

Les tentatives de sélection en laboratoire à partir de la toxine Cry1F, contrairement à celles réalisées à partir de la toxine Cry1Ab, sont rares (Tabashnik et al., 2008; Tabashnik et al., 2009). Pour autant, une souche de pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis*, résistante à la Cry1F a été sélectionnée en laboratoire à partir de populations naturelles prélevées aux Etats-Unis (Pereira et al., 2008a). Le niveau de résistance, après 35 générations de sélection, est 3000 fois supérieur à celui des populations naturelles initiales (Pereira et al., 2008a). Cette résistance, autosomale²⁶, monogénique²⁷ et récessive²⁸ (Pereira et al., 2008b), est suffisante pour permettre le développement des larves sur du maïs 1507 (Pereira et al., 2008a; Pereira et al., 2008b). Cette résistance, comme d'autres résistances aux toxines de *B. thuringiensis*

²⁵ La fitness est la valeur adaptative d'un organisme

²⁶ Conditionnée par des gènes qui peuvent être hérités indifféremment du mâle ou de la femelle

²⁷ Conditionnée par un seul gène

²⁸ Qui nécessite deux allèles de résistance au même locus pour s'exprimer

(Gassmann et al., 2009), est associée à un coût génétique²⁹ faible et récessif en l'absence de toxine (Pereira et al., 2010b). Pereira et al. (2008a) ont montré une absence totale de résistance croisée avec la toxine Cry1Ab produite par les maïs MON810 et Bt11. Cette absence de résistance croisée, malgré un partage de certains sites de fixation entre les toxines Cry1Ab et Cry1F (Gonzalez-Cabrera et al., 2006; Granero et al., 1996; Hua et al., 2001), pourrait s'expliquer par la présence d'un mécanisme de résistance inédit, non encore identifié (Pereira et al., 2010a).

Contrairement à la pyrale du maïs, il n'existe à ce jour aucune souche ou population naturelle de sésamie (*Sesamia nonagrioides*) résistante à la Cry1F et donc au maïs 1507. Les larves de ce ravageur sont moins sensibles que celles d'*O. nubilalis* à la toxine Cry1F (Gonzalez-Cabrera et al., 2006). Les doses de cette toxine produites par le maïs 1507 sont toutefois suffisantes pour contrôler le développement des larves de *S. nonagrioides* (dossier C/ES/01/01, annexe 16). L'absence de souche ou de population résistante de *S. nonagrioides* n'apporte que peu d'élément sur la capacité ou non de ce ravageur à développer une résistance à la toxine Cry1F. Il est en effet possible qu'aucune sélection n'ait été entreprise au laboratoire. De plus, cette espèce n'est pas présente dans les pays où la culture du maïs 1507 a été autorisée jusqu'à présent, de telle sorte que nous ne pouvons pas encore évaluer la stabilité de la sensibilité des populations de sésamie à la toxine Cry1F en champ.

Les populations de pyrale du maïs aux Etats-Unis proviennent d'une introduction accidentelle de populations européennes au début du 20^{ème} siècle (Baker et al., 1949). Le polymorphisme génétique des populations américaines de pyrale du maïs reflète donc – au moins en partie – celui des populations présentes en Europe. Ainsi, la sélection d'une souche résistante au maïs 1507 à partir des populations américaines (Pereira et al., 2008a) et le monogénisme de cette résistance (Pereira et al., 2008b) suggère la présence d'allèles de résistance majeure – *i.e.* conférant une résistance substantielle – à des fréquences relativement élevées dans les populations d'*O. nubilalis* en Europe, comme aux Etats-Unis.

Les résultats de Pereira et al. (2008a, 2008b, 2010a et 2010b) montrent qu'il existe une possibilité d'évolution rapide de la résistance aux maïs 1507 dans les populations d'*O. nubilalis*. Ce risque doit être tempéré par le fait que la résistance à la toxine Cry1F (1) peut être contrôlée par l'utilisation de maïs produisant la toxine Cry1Ab, puisqu'il n'y a pas de résistance croisée entre ces deux toxines, (2) est récessive, ce qui renforce l'efficacité de la stratégie haute-dose/refuges³⁰ développée par Alstad et Andow (1995) et proposée par le pétitionnaire, (3) est associée à un coût génétique, bien que ce coût ne soit pas très important et qu'il soit récessif.

Dans le cas de la sésamie, nous n'avons pratiquement aucun élément pour nous prononcer sur les risques d'évolution de la résistance. L'efficacité limitée de la Cry1F sur les larves limitera l'efficacité de la stratégie haute-dose/refuges. En effet, si les doses de toxine produite par le maïs 1507 sont suffisantes pour contrôler les larves sensibles, il n'est pas certain que ces doses soient suffisantes pour tuer les hétérozygotes – autrement dit, il n'est pas certain que la résistance soit fonctionnellement récessive, la récessivité étant un point clef de la stratégie haute-dose/refuges (Alstad and Andow, 1995).

La mise en place de zones refuges permettra de réduire l'intensité de la sélection et donc de retarder, voire d'empêcher, l'évolution de la résistance à la toxine Cry1F. Il est difficile de déterminer *a priori* le pourcentage de refuges nécessaire pour éviter l'apparition de résistance dans les populations d'*O. nubilalis* et *S. nonagrioides*. De même, si ces refuges permettent de retarder l'apparition de résistance, il est impossible de calculer avec précision le nombre d'années ou de décennies qui sépareront la mise en place des premiers champs de maïs 1507 et l'éventuelle propagation de la résistance dans les populations de pyrale et de sésamie. Cette évolution dépendra en outre de la proportion relative des maïs *Bt* produisant la toxine Cry1Ab (MON810 et Bt11) si ces événements sont conjointement autorisés à la culture.

²⁹ Une réduction de la valeur sélective des individus

³⁰ La stratégie haute-dose/refuges combine la production d'une forte quantité de toxine par les plantes transgéniques et la présence de zones refuges, constituées de plantes ne produisant pas de toxine ou n'étant pas traitées par des toxines, permettant le maintien d'individus sensibles.

4.5 Impact potentiel sur les organismes non-cibles

Les études sur l'analyse de l'impact des toxines de *B. thuringiensis* sur les espèces non-cibles sont relativement nombreuses. En effet, Naranjo a dénombré plus de 350 études publiées entre 1995 (date des premières études à ce sujet) et 2008 (Naranjo, 2009). Parmi ces études, 200 permettent une réelle évaluation de l'impact des plantes *Bt*³¹ et/ou des toxines de *B. thuringiensis* sur les invertébrés. Les autres études à ce sujet ne précisent pas les tailles des échantillons ou les parcelles de référence ou encore ne fournissent aucune mesure de variance, d'écart-type, etc., ce qui les rend inexploitable.

Les études se divisent d'une part en expérimentations réalisées en laboratoire (incluant généralement des tests toxicologiques à partir de toxines pures de *B. thuringiensis* ou de tissus/pollen de plantes *Bt*) et, d'autre part, en expérimentations en champ (généralement des comparaisons entre parcelles transgéniques et parcelles non transgéniques, traitées ou non aux insecticides). Ces études comparent des abondances (pour les études en champ) et des taux de survie, de consommation, de reproduction ou encore des temps de développement larvaire (pour les études en laboratoire).

Depuis 2006, des bases de données permettent de compiler les études destinées à mesurer l'impact des plantes *Bt* sur les invertébrés. Ces bases de données, qui ne comprennent que les études permettant une exploitation statistique des résultats, sont celles sur lesquelles Marvier et al. (2007), Wolfenbarger et al. (2008) et Naranjo (2009) ont réalisé leurs méta-analyses (Marvier et al., 2007; Naranjo, 2009; Wolfenbarger et al., 2008). Malheureusement, ces bases ne contiennent pratiquement aucune étude sur la toxine Cry1F ou sur le maïs 1507. Ainsi, la base de données développée par Marvier et al. (2007) contient 109 études dont seulement quatre concernent la toxine Cry1F. La méta-analyse correspondante n'aborde donc pas l'effet de cette toxine, se concentrant sur les études – beaucoup plus nombreuses – estimant l'effet de la toxine Cry1Ab (Marvier et al., 2007).

Parmi les quatre études concernant en partie la toxine Cry1F, répertoriées par Marvier et al. (2007), deux sont des rapports de l'agence américaine de la protection de l'environnement (EPA) (Drottar and Krueger, 1999; Maggi, 1999). Les deux autres ont fait l'objet de publications dans des revues internationales à comité de lecture (Hanley et al., 2003; Hellmich et al., 2001). Depuis, une recherche bibliographique fait état de deux nouvelles études publiées dans de telles revues (Higgins et al., 2009; Wolt et al., 2005).

Les études menées sur les abeilles par Maggi et al. (1999) et Hanley et al. (2003) ne font pas apparaître d'effet de la toxine Cry1F sur les abeilles. La méta-analyse de Duan et al. (2008), qui prend en compte ces deux études, conclut également à l'absence d'effet des toxines de *B. thuringiensis*, dans leur ensemble, sur ce pollinisateur (Duan et al., 2008).

Drottar et Krueger (1999) montrent que ni le pollen de maïs 1507, ni la toxine Cry1F purifiée n'est toxique pour les Daphnies.

Hellmich et collaborateurs montrent que les larves du papillon monarque *Danaus plexippus*, qui sont particulièrement sensibles à la toxine Cry1Ab sont insensible à la toxine Cry1F – qu'elle soit administrée sous forme purifiée ou *via* le pollen de maïs 1507 (Hellmich et al., 2001).

L'étude de Wolt et al. (2005) concerne l'impact potentiel du maïs 1507 au Japon sur le lycénidé, *Pseudozizeeria maha*. Les larves de ce papillon se nourrissent sur l'oxalis corniculé (*Oxalis corniculata*). Les auteurs montrent que la fraction des populations de *P. maha* qui pourrait être soumise à des doses létales de Cry1F – *via* le dépôt de pollen de maïs 1507 sur les oxalis corniculés – est négligeable. L'exposition de *P. maha* serait d'autant plus limitée que les larves de cette espèce se nourrissent sous la surface des feuilles d'oxalis (le pollen de maïs se déposant essentiellement sur la face supérieure des feuilles des plantes disposées à proximité des champs). Les auteurs indiquent que cette conclusion est probablement vraie pour la plupart des espèces de papillons non-cibles au Japon (Wolt et al., 2005). Cette analyse rejoint celle réalisée sur le monarque pour le pollen des maïs produisant la toxine Cry1Ab (Sears et al., 2001).

³¹ Plantes transgéniques exprimant une toxine de *B. thuringiensis*

Higgins et al. (2009), quant à eux, ont réalisé une étude de trois ans en champ dans quatre localités aux Etats-Unis, comparant les abondances de plusieurs insectes non-cibles entre des champs de maïs 1507 et des champs de maïs conventionnels quasi isogéniques. Aucune différence d'abondance – que ce soit à l'échelle de la communauté ou à celle des divers taxa pris individuellement – n'a pu être mise en évidence, en accord avec le spectre étroit de la spécificité de cette toxine.

En dehors des données publiées dans des journaux à comité de lecture, des essais biologiques réalisés par le pétitionnaire montrent que la protéine Cry1F purifiée ne présente aucune toxicité significative par rapport aux contrôles négatifs vis-à-vis des organismes suivants : la chrysopse verte, *Chrysoperla carnae*, à une dose de 480 µg/ml de nourriture (dossier C/ES/01/01, annexe 26) ; la coccinelle, *Hippodamia convergens*, à une dose de 480 µg/ml de nourriture (dossier C/ES/01/01, annexe 27) ; un hyménoptère parasitoïde, *Nasonia vitripennis*, à une dose de 320 µg/ml de nourriture (dossier C/ES/01/01, annexe 28) ; le ver de terre, *Eisenia fetida*, à une dose de 1,7 µg/g de sol (dossier C/ES/01/01, annexe 29) et l'abeille, *Apis mellifera*, à une dose de 560 µg/mL de nourriture (dossier C/ES/01/01, annexe 31).

En résumé, le nombre d'études, notamment celles publiées dans des revues à comité de lecture, est particulièrement faible. De plus, ces études ne concernent qu'une fraction particulièrement limitée d'espèces européennes inféodées au maïs.

Sur la base des rares résultats publiés à ce jour et de ceux fournis par le pétitionnaire, la spécificité de la toxine Cry1F semble, comme pour toutes les toxines Cry produites par les bactéries *B. thuringiensis*, de spectre assez étroit, limité à une partie des espèces de lépidoptères. Cette conclusion est toutefois beaucoup moins étayée que pour la toxine Cry1Ab.

5. Evaluation des risques associés à l'utilisation préconisée d'herbicide dans l'itinéraire de culture du maïs 1507

- Les herbicides à base de phosphinothricine

Le sel d'ammonium de la phosphinothricine est une molécule toxique naturelle produite par des *Streptomyces* (*hygroscopicus* et *viridochromogenes*). Dans les herbicides à base de phosphinothricine, la molécule est couplée à deux molécules d'alanine sous forme de bialaphos³² non toxique, et libérée dans les plantes par une attaque peptidasique (Hoagland, 1999). Les champignons *Streptomyces* se protègent de la toxicité de la molécule par une réaction d'acétylation sous la gouvernance du gène *bar* ou *pat* selon l'espèce (Lydon and Duke, 1999).

- Mode d'action

La cible principale de la toxine, et donc de l'herbicide, est la glutamate synthase. L'herbicide est un inhibiteur irréversible de l'enzyme qui agit par formation d'une liaison covalente. Ceci entraîne une accumulation d'ammoniaque, un déficit en glutamine et une baisse de l'activité photosynthétique (Hess, 2000). Il semble aussi provoquer le blocage de la photorespiration en accumulant le glyoxylate (Wendler et al., 1990), ce qui pourrait expliquer la moindre sensibilité des plantes en C4³³. Les symptômes sont une décoloration et un flétrissement précédant la mort de la plante.

Le produit se comporte comme un herbicide de contact. En effet, bien que variable selon les espèces, sa migration dans la plante est faible (Mersey et al., 1990), plutôt vers le haut (*via* le xylème), et dépend beaucoup des espèces (Neto et al., 2000).

³² Le terme bialaphos indique la composition de la molécule active (deux alanines couplées à la phosphinothricine).

³³ Les plantes sont classées en différents types (C3 ou C4) selon leur mécanisme de fixation du carbone. La plupart des plantes vertes sont dites « en C3 » (la fixation du carbone atmosphérique produit deux molécules à 3 atomes de carbone). Certaines plantes, notamment certaines graminées comme le maïs, sont dites « en C4 » (la fixation du carbone atmosphérique produit une molécule à 4 atomes de carbone). Contrairement aux plantes en C3, chez les plantes en C4, les phases photochimiques et non photochimiques de la photosynthèse sont dissociées dans l'espace et il n'y a quasi pas de photorespiration.

Comme l'enzyme est abondante dans les plantes, surtout dans les tissus chlorophylliens, les doses efficaces doivent être assez élevées : de 250 g à 2000 g/ha de matière active, même pour des espèces annuelles.

- Détoxification dans les plantes

Il y a, selon les espèces, de grandes variations de sensibilité à la phosphinothricine, liées en grande partie à des différences de pénétration, et dans une moindre mesure, à une détoxification, à des niveaux très variables, par une désaminase (Jansen et al., 2000).

- Spectre d'activité

A peu près toutes les espèces sont sensibles, mais cela dépend du stade de la plante : elle doit être jeune (4-6 feuilles), car le produit migre peu. Pour les pérennes, seuls les organes aériens sont détruits, et dans la plupart des cas elles sont capables de repousser après quelque temps. Les plantes en C4 sont sensiblement moins affectées que les plantes en C3.

Amaranthus retroflexus, *Matricaria chamomilla*, *Fumaria officinalis*, *Malva sylvestris*, *Alopecurus myosuroides*, *Lolium* sp, *Poa pratensis*, *Galium aparine* sont parmi les plantes annuelles, malheureusement très fréquentes, les moins faciles à contrôler, nécessitant au moins 1500 g/ha pour une destruction totale, même à des stades jeunes (Jansen et al., 2000).

- Persistance dans le sol

Malgré sa grande solubilité dans l'eau, la phosphinothricine persiste très peu dans le sol ; elle est dégradée par les microorganismes en métabolites non toxiques. La demi-vie de la phosphinothricine a été mesurée à une durée entre 3 et 7 jours (Gallina and Stephenson, 1992), mais elle dépend en fait beaucoup du type de sol. En Europe la valeur retenue est de 6-11 jours (PPDB³⁴). Cela explique l'absence de persistance de l'effet herbicide et les relevées rapides d'adventices après un traitement.

- Résistances des adventices

Même si, *in vitro*, on a pu sélectionner des lignées cellulaires avec une amplification de glutamate synthase sensible [tabac (Ishida et al., 1989), luzerne (Donn et al., 1984)] et plus récemment des mutations conférant une certaine résistance (Pornprom et al 2009, Chompo et al 2008), il n'existe pas de résistances connues actuellement chez les adventices, que ce soit par mutation de la cible ou détoxification de l'herbicide. Le fait que le glufosinate reconnaisse le site actif de l'enzyme entraîne que toute mutation est naturellement très contre-sélectionnée et donc peu susceptible de préexister dans une population avant tout traitement avec l'herbicide. De même, la sélection de l'amplification de cible sensible devrait poser des problèmes de fitness parce que les cellules résistantes devraient synthétiser beaucoup d'enzyme. Il n'a d'ailleurs pas été possible de régénérer la luzerne à partir de cellules contenant une telle amplification. La sélection d'autres mécanismes moins pénalisants pour la plante nécessitera néanmoins une intense et constante pression de sélection, certainement supérieure à celle qui correspond à l'utilisation actuelle de la phosphinothricine.

- Usages en France et en Europe

Compte tenu du fait que la phosphinothricine est un herbicide total, le produit n'est pas sélectif des grandes cultures. Il est homologué en interculture pour détruire les adventices et les relevées de la culture précédente. En vigne, il est utilisé pour l'épamprage ; c'est également un défanant des pommes de terre. Il est utilisé dans les plantations d'arbres ou d'arbustes d'ornement contre les dicotylédones et graminées annuelles ou bisannuelles (ephy³⁵). C'est aussi un herbicide total pour les parcs, jardins et trottoirs. En général, il est utilisé seul. Les doses, relativement importantes (de 750 à 996 g/ha), ne sont efficaces que sur des plantes très jeunes ; en effet, ces doses sont insuffisantes pour un bon contrôle de certaines adventices.

³⁴ PPDB : Pesticide Properties DataBase. La FOOTPRINT PPDB (<http://www.eu-footprint.org/fr/ppdb.html>) est une base de données sur les propriétés physico-chimiques, écotoxicologiques et toxicologiques des pesticides.

³⁵ ephy, <http://e-phy.agriculture.gouv.fr> : le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages des matières fertilisantes et des supports de culture homologués en France.

- Cultures transgéniques

Plus de trente espèces ont été modifiées génétiquement pour la tolérance à la phosphinothricine. Parmi celles qui sont utilisées, les plus fréquentes sont le maïs, le colza et le coton (Vasil, 1996). Elles représentent une très faible part des surfaces en cultures transgéniques. Au-delà de toute considération de marketing, on peut penser que cela tient au fait que le glyphosate, généralement moins cher que la phosphinothricine, a un plus large spectre d'activité et une plus grande flexibilité d'usage. De plus, sa systémie le rend moins sensible au stade des plantes et permet un meilleur contrôle des pérennes.

- Risques associés au gène *pat* et à l'utilisation de la phosphinothricine dans la culture du maïs 1507

Etant donné qu'il n'y a pas de risque de transfert du gène *pat* vers les espèces adventices (voir paragraphe 4.2), le risque de résistance chez les adventices ne dépendra que de la fréquence des résistants dans les populations concernées. A cause du mode d'action de la phosphinothricine par inhibition compétitive, les mutations du gène de la cible sont très rares. Selon l'importance de la pression de sélection, il pourra éventuellement apparaître des amplifications de la détoxification voire d'autres mécanismes moins efficaces comme des réductions de pénétration. Cela dépendra aussi de l'utilisation des cultures transgéniques, notamment si des stratégies abusives telles que celles utilisées pour le glyphosate sont adoptées. Celui-ci était aussi un herbicide peu susceptible de sélectionner des résistances : inhibiteur compétitif, non détoxiqué par les plantes supérieures. Cependant, ses très grandes qualités ont poussé les agriculteurs à s'affranchir totalement des règles agronomiques minimales. Les agriculteurs ont pu opter pour des systèmes de culture en semis direct et non-travail³⁶ du sol, dans lesquels le contrôle des adventices est fondé uniquement sur des traitements au glyphosate, aussi bien dans les intercultures que dans les cultures tous les ans. Avec une telle constance de pression, la sélection d'adventices résistantes est devenue possible, mais par d'autres mécanismes rares et pas très efficaces (réduction du transport phloémien, amplification de la cible sensible), mais suffisants pour contourner le traitement. De surcroît, les gestions de ces résistances sont souvent mauvaises, assurées en associant d'autres herbicides au glyphosate ou en introduisant des plantes transgéniques avec des résistances à plusieurs produits (dont le glyphosate), toutes techniques qui ne peuvent régler le problème. Cela n'est pas un défaut inhérent à la culture transgénique mais une négation des règles de base de l'agronomie.

Outre les pays où elle est cultivée, le maïs 1507 a été testé dans plusieurs pays européens, dont la France, sans problème agronomique notable sur les surfaces, relativement petites, concernées par les essais. Dans les pays qui la cultivent, notamment l'Afrique du sud, l'Argentine, le Brésil, le Chili et les Etats-Unis, il n'a pas été constaté de repousses de la variété l'amenant à devenir une adventice. Compte tenu des caractéristiques de la culture, des années de culture dans plusieurs pays dans le monde sous différentes latitudes et des caractéristiques de la résistance à la phosphinothricine, il y a peu de risques agronomique et environnemental.

- Mesures proposées par le pétitionnaire

D'après le dossier C/ES/01/01 du maïs 1507, la résistance à la phosphinothricine est un caractère simple, monogénique dominant, qui permet de supporter sans dommage 1600 g/ha, la dose recommandée par le pétitionnaire étant de 400 g/ha (ce qui risque d'être insuffisant pour contrôler certaines espèces). Bien que la surveillance soit plus axée sur le gène *cry1F*, le dossier propose pour le gène *pat* de fournir des informations sur la conduite des cultures et la surveillance du milieu. En mobilisant tous les réseaux (organisations publiques, agriculteurs, distributeurs, etc.), il propose de faire remonter toute information anormale et de la faire évaluer par des laboratoires qui fourniront des notifications sur l'origine de ces anomalies et, si besoin, proposeront des mesures qui seront transmises aux autorités sous forme d'un rapport qui pourrait entraîner une modification du plan de suivi. Au-delà de ce qui est proposé dans le dossier, pour optimiser l'efficacité du désherbage en France, il serait bon d'informer les agriculteurs de la nécessité de fonder une bonne gestion sur un contrôle complet assuré par des molécules à modes d'action différents, aussi bien dans une campagne que dans la rotation (qui est préférable à la monoculture).

³⁶ Itinéraire cultural sans labour.

- Conclusion

Autorisée en France comme dans toute l'Europe, la phosphinothricine n'est pas un herbicide sélectif, il n'entre donc pas dans les programmes de désherbage des grandes cultures annuelles. Il est homologué pour des traitements généraux, en zones non cultivées et cultivées en interculture ; dans le désherbage et l'épamprage de la vigne ; le désherbage des arbres et arbustes d'ornement ; le défanage des pommes de terre ; le désherbage des parcs, jardins et trottoirs. Les cultures transgéniques seraient donc une forte extension de son domaine d'utilisation en surface, mais peut-être pas vraiment en termes de diversité des adventices.

Parce qu'il est considéré comme peu persistant dans le sol, il n'a pas été observé dans les eaux en France (faible GUS³⁷) ; mais cela peut être dû aussi à un usage encore limité. Outre le fait que sa cible est une enzyme végétale, c'est un produit peu toxique (Xn³⁸ et R20/22³⁹). Ce n'est donc pas un produit dont l'usage présente des risques agronomiques et environnementaux importants.

Compte tenu de sa faible persistance relative et de son activité peu systémique, il faudrait l'appliquer plusieurs fois dans la même campagne pour exercer une pression de sélection très forte et sélectionner des résistants. Ce qui n'est pas le cas actuellement, et n'est pas recommandé par le pétitionnaire. Son usage, qui va probablement rester plutôt limité par rapport au glyphosate, son concurrent direct, est donc peu susceptible de sélectionner facilement des résistants. D'autant que pour une gestion durable des adventices, il serait bon de le préconiser en association ou en programme avec d'autres molécules sélectives.

6. Mesures propres à assurer la coexistence des filières

La méthode de détection spécifique du maïs 1507 a été validée par le CRL-GMFF⁴⁰.

Le CS du HCB demande au pétitionnaire de s'assurer de la mise en place de mesures propres à permettre la coexistence entre les cultures de maïs transgéniques 1507, si elles étaient autorisées, et les cultures de maïs non transgéniques, en prenant en compte les caractéristiques locales des paysages agricoles. Ces mesures pourront s'appuyer sur des distances d'isolement avec si possible des décalages de floraison (Beckmann et al., 2006; Devos et al., 2009) ou la constitution d'îlots homogènes de production (Coléno et al., 2009). En outre les agriculteurs devront prendre des précautions pour l'utilisation du matériel agricole s'il est en contact avec des parcelles d'agriculture conventionnelle ou d'agriculture biologique afin de minimiser les risques de mélanges (Jank et al., 2006).

Comme signalé dans le paragraphe 4.2, le pollen de maïs peut être récolté par les abeilles (Vaissière and Vinson, 1994), puis stocké sous forme de pelotes dans des ruches du voisinage. Des mesures d'éloignement relatif devront être prises pour minimiser la contamination éventuelle des produits issus de l'apiculture certifiée « biologique ».

³⁷ GUS : index de risque de lixiviation ou Groundwater Ubiquity Score, $GUS = \log(DT50) (4 - \log(Koc))$, où DT50 est la demi-vie du polluant dans le sol, et Koc son coefficient d'absorption.

³⁸ Xn : nocif dans une échelle de classification de toxicité. La signalétique des matières dangereuses est codifiée dans l'annexe II de la directive européenne 67/548/EEC. Une nomenclature consolidée avec les équivalences pour toutes les langues officielles de l'Union européenne est donnée dans la Directive 2001/59/EC.

³⁹ R20/22 : « Nocif par inhalation et par ingestion ». Les phrases de risques (R) sont des phrases types qui indiquent les risques particuliers dérivant des dangers de l'utilisation d'une substance ou préparation dangereuse. Ces phrases peuvent être combinées, comme c'est le cas ici. L'échelle des risques, de R1 à R68, est définie dans l'annexe III de la directive européenne 67/548/EEC : *Nature of special risks attributed to dangerous substances and preparations*, complétée et publiée de nouveau dans la directive 2001/59/EC.

⁴⁰ Community Reference Laboratory for GM Food and Feed of the Joint Research Centre. Laboratoire de référence communautaire, du Centre de recherche commun de la Commission Européenne, instauré par le règlement (CE) 1829/2003.

7. Plan de surveillance post-commercialisation

En matière de surveillance, le règlement (CE) 1829/03 et la directive 2001/18/CE prévoient que soient mis en place :

- un plan de surveillance spécifique, pour tester d'éventuelles hypothèses sur des effets négatifs de la plante génétiquement modifiée dans le cadre de son utilisation et de l'évaluation du risque environnemental. Le plan de surveillance spécifique est destiné à mettre en évidence les changements prévisibles.
- un plan de surveillance générale, pour observer d'éventuels effets non intentionnels ou non anticipés sur la santé humaine et animale ainsi que sur l'environnement. Le plan de surveillance générale vise à mettre en évidence les changements non prévus par les plans de surveillance spécifique.

7.1 Plan de surveillance générale

Le plan de surveillance générale proposé par le pétitionnaire a pour objet d'identifier l'événement 1507 dans les grains de maïs et d'effectuer une traçabilité afin d'anticiper les effets adverses. Ce plan de surveillance générale repose sur des réseaux existants, personnes ou organisations et possédant une expertise liée à des activités agricoles, élevage ou environnement. De nombreux réseaux de ce type existent dans la majorité des Etats membres de l'Union européenne. Le pétitionnaire mentionne des établissements publics (ex: établissements de certification des semences, les services de Protection des plantes, les écoles et universités d'agronomie, les agences de sécurité des aliments, etc.) et privés (fermiers, associations de distributions des semences, consultants indépendants, association de surveillance des animaux et flore sauvages, vétérinaires, etc.). Ces réseaux seraient chargés de vérifier s'il existe des changements notables dans les champs où seraient cultivés les plantes transgéniques. Il serait évalué si des changements sont observés par rapport à ce qui existe lors de pratiques agricoles habituelles. Le pétitionnaire indique qu'il mettra en œuvre les outils statistiques appropriés et recommandés par les instances officielles reconnues. En cas de changement avéré, une notification est effectuée auprès du pays rapporteur et la Commission européenne afin d'adapter le plan d'évaluation du risque environnemental (plan ERA, *Environmental Risk Assessment*) en collaboration avec les Autorités compétentes.

Parmi les démarches que pourrait entreprendre le pétitionnaire, il est proposé de réaliser une information ciblée auprès des producteurs agricoles, sur la procédure à observer et les démarches à suivre en cas d'observation d'effets non intentionnels, la diffusion de littérature technique, et l'accès à un numéro d'appel gratuit.

En cas d'absence de changement notable, le pétitionnaire se propose de faire un rapport tous les trois ans. Il propose aussi de couvrir la surveillance des effets indirects ou des effets retard pendant toute la période ayant fait l'objet de l'agrément et même au-delà (ex. : pendant la durée de la demande de renouvellement d'autorisation). Une surveillance post-autorisation additionnelle pourrait être diligentée si nécessaire.

7.2 Plans de surveillance spécifique

Un groupe de travail, regroupant les sociétés semencières Monsanto Europe SA, Syngenta Seeds SAS, et Pioneer Hi-Bred Int Inc., a été formé en 2001 pour surveiller et gérer les résistances des insectes que pourraient générer les cultures de maïs *Bt* dans l'Union Européenne. Ce groupe a diligenté un plan de surveillance spécifique, reposant sur un plan de gestion de la résistance des insectes (plan IRM, *Insect Resistance Management*). Ce plan IRM développe trois actions prioritaires de suivi, concernant : (1) les zones refuges, (2) la surveillance et définition d'une ligne de base de la sensibilité des insectes cibles, (3) la communication et éducation des utilisateurs de la technologie du maïs *Bt*. L'IRM proposé repose sur les résultats acquis au cours des campagnes effectuées avec divers maïs *Bt* dans des pays du continent américain (Etats-Unis, Argentine) et en Europe.

Le plan préconise des zones refuges de 20 % pour les exploitations de plus de 5 ha de maïs. La stratégie des zones refuges repose sur l'existence de parcelles de maïs sensible aux insectes cibles à l'intérieur ou en périphérie du champ où le maïs 1507 sera cultivé, afin de réduire au minimum le risque d'apparition chez les insectes d'une résistance aux maïs 1507. Ainsi, si des insectes devaient acquérir une résistance aux protéines insecticides, ils pourraient se reproduire avec des insectes sensibles du refuge, ce qui contribuerait à réduire la fréquence d'apparition des gènes de résistance au sein de la population d'insectes. Le seuil de 5 ha est motivé par le fait que les champs en dessous de cette superficie, selon le pétitionnaire, ne présenteraient pas un niveau de risque significatif.

Des études en laboratoire ont été réalisées afin de définir une ligne de base de la sensibilité des insectes cibles, ainsi que des études en champ pour suivre l'évolution de possibles résistances chez les insectes concernés (la pyrale du maïs et la sésamie).

Le volet éducation des utilisateurs repose sur des présentations au niveau professionnel à l'aide de diaporamas et de vidéo, d'informations données sur des sites Internet, de lettres d'actualités, de lignes d'appels téléphoniques dédiées.

7.3 Commentaires et recommandations

Le plan de surveillance générale décrit par le pétitionnaire reste au niveau du cadre global et manque de précision quant aux acteurs des réseaux de surveillance et à la nature des suivis à effectuer. Le CS invite le pétitionnaire à décrire les techniques de surveillance prévues plus précisément et conformément à la directive 2001/18/CE et au règlement (CE) 1829/2003.

Le plan de surveillance spécifique fait appel à une expérience commune et partagée depuis 2001 par plusieurs sociétés semencières expérimentant ou commercialisant les plantes supérieures génétiquement modifiées. Le CS s'étonne que le plan de surveillance spécifique proposé par le pétitionnaire ne s'appuie pas sur les démarches et travaux réalisés dans ce cadre. Il demande au pétitionnaire d'actualiser les éléments du dossier à la lumière des avancées obtenues par ailleurs.

En ce qui concerne la surveillance des phénomènes de résistance que pourraient acquérir les insectes, le CS attire l'attention du pétitionnaire sur l'importance des précédents récemment observés en Amérique du Nord et demande au pétitionnaire de préciser les méthodes qu'il compte diligenter à cette occasion et l'éventail de l'entomofaune surveillée en fonction des zones géographiques de culture.

En matière de zones refuges, la pertinence du plan de gestion du risque de résistance des insectes (Plan IRM), par l'instauration de zones refuges a été démontrée depuis dix ans. Le pourcentage de 20 % pour les surfaces cultivées de maïs *Bt* supérieures à 5 ha est retenu par le pétitionnaire. Le CS insiste sur le fait qu'il conviendra d'adapter le Plan IRM à la situation européenne où les exploitations sont plus morcelées.

Ainsi, le CS du HCB considère que la mise en culture de maïs 1507 en Europe ne peut être réalisée que si les plans de surveillance générale et spécifique sont mis en place de manière rigoureuse.

- Le CS du HCB rappelle au pétitionnaire qu'il est de son devoir, au cours de la période couverte par l'autorisation, si elle est accordée, d'apporter son concours pour la biosurveillance liée à l'utilisation des biotechnologies qu'il commercialise, quand celui-ci sera sollicité par le Comité de surveillance biologique du territoire (CSBT) (Décret n° 2008-1282 du 8 décembre 2008 relatif à la création du comité de surveillance biologique du territoire mentionné à l'article L. 251-1 du code rural). Des recommandations générales concernant la biosurveillance sont indiquées dans l'Annexe 3.
- Les plans de surveillance générale et spécifique devront porter sur les deux caractères introduits dans le maïs 1507 : la résistance aux lépidoptères foreurs du maïs – la pyrale et la sésamie –, et la tolérance aux herbicides à base de phosphinothricine.
- Les plans de surveillance se doivent de concerner non seulement les parcelles cultivées avec du maïs 1507 mais aussi les champs limitrophes.

- Le CS du HCB souligne la pertinence du plan de gestion du risque de résistance des insectes, par l'instauration de zones refuges de 20 % pour les surfaces cultivées de maïs *Bt* supérieures à 5 ha. Cette superficie constitue un seuil qui doit être adapté en France au paysage parcellaire agricole communal ou départemental et faire l'objet d'une surveillance biologique du territoire. Ainsi, il importe de prendre en considération également toute exploitation de l'agriculture conventionnelle ou biologique dont les champs seraient situés à proximité de parcelles cultivées en maïs 1507 et qui utiliseraient dans ses itinéraires phytopharmaceutiques des formulations à base de *B. thuringiensis* ssp. *aizawai*.
- En matière de surveillance générale de la biodiversité des insectes non-cibles, le CS du HCB souligne que la seule possibilité de mettre en évidence une augmentation ou une réduction significative des populations des invertébrés non-cibles est la mise en place d'un suivi sur plusieurs années de ces invertébrés dans le cadre d'un plan de biosurveillance générale. Ce suivi devra s'attacher à choisir des espèces pertinentes à suivre en fonction des zones géographiques considérées et à définir l'échelle d'observation.
- Le CS du HCB demande que l'analyse des données recueillies et des traitements statistiques des plans de surveillance générale et spécifique se réfèrent aux nouvelles règles d'analyse statistique proposées par l'AESA (2009), qui recommandent la mise en oeuvre de procédures statistiques adaptées.
- Les résultats des plans de surveillance générale et spécifique devront être communiqués au CSBT et au HCB par un rapport écrit annuel.

8. Conclusions

Au terme de l'analyse de l'ensemble des données fournies par le pétitionnaire et de données supplémentaires disponibles dans la littérature scientifique, le CS du HCB note que :

- l'apparition de résistances à la toxine Cry1F a été observée en conditions naturelles et sur une échelle de temps court, sur des ravageurs absents en Europe mais présents dans les DOM-TOM ;
- l'application de phosphinothricine sur les adventices doit être réalisée à un stade précoce de leur développement afin de les éradiquer, sans garantie de succès pour les adventices pérennes ;
- l'analyse statistique des données n'étant pas conforme aux récentes recommandations de l'AESA (postérieures au dépôt du dossier), la conclusion du pétitionnaire sur l'équivalence du maïs 1507 avec le contrôle quasi-isogénique non transgénique ne peut être validée ;
- le dossier fourni par le pétitionnaire aurait mérité une mise à jour ; en particulier les plans de surveillance post-commercialisation sont insuffisamment développés pour que le CS puisse évaluer leur efficacité.

Le CS recommande que la culture du maïs 1507, si elle était autorisée, soit accompagnée de mesures propres à :

- répondre au risque de développement d'insectes résistants à la toxine Cry1F par la mise en place de zones refuges selon les recommandations du présent avis ;
- répondre au risque de sélection de plantes adventices tolérantes à la phosphinothricine par un encadrement rigoureux des pratiques d'utilisation de cet herbicide total ;
- mesurer l'impact sur l'environnement par l'amélioration des plans de surveillance post-commercialisation selon les recommandations du présent avis.

Addendum

Le présent avis a été élaboré, en réponse et conformément à la saisine 100226-saisine HCB-dossier 1507, à partir de l'étude des documents transmis⁴¹ par les Autorités compétentes françaises.

Dans un courriel daté du 4 mai 2010 (postérieur à la rédaction de cet avis) destiné au CEES⁴² du HCB, le pétitionnaire a indiqué qu'il avait précédemment informé la Commission européenne de son intention de ne pas revendiquer le caractère de tolérance à la phosphinothricine pour la culture du maïs 1507.

Si cette information est officiellement jointe au dossier C/ES/01/01 sur lequel portera le vote en Conseil des ministres (Conseil de l'Union européenne), la partie de l'avis du CS concernant l'utilisation du caractère de tolérance à la phosphinothricine ne sera plus directement pertinente pour l'arbitrage de la décision d'autorisation de la mise sur le marché du maïs 1507. Les plans de surveillance post-commercialisation devront alors être modifiés pour considérer, non plus l'encadrement, mais l'absence d'utilisation de la phosphinothricine après la levée de la culture.

9. Bibliographie

Afssa (2004a). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à des compléments d'information concernant le dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un maïs contenant l'évènement TC 1507, résistant à certains lépidoptères et tolérant au glufosinate en vue de la mise en culture de semences et son utilisation à des fins d'alimentation animale au titre de la directive 2001/18/CE. Réponse à la saisine 2004-SA-0153 (Maisons-Alfort).

Afssa (2004b). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux compléments d'information relatifs à un dossier d'autorisation de mise sur le marché de grains dérivés de semences de maïs contenant l'évènement TC 1507, résistant à certains lépidoptères et tolérant au glufosinate, en vue de leur importation et utilisation à des fins d'alimentation animale au titre de la directive 2001/18/CE. Réponse à la saisine 2004-SA-0030. (Maisons-Alfort).

Alstad, D.N., and Andow, D.A. (1995). Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. *Science* 268, 1894-1896.

Baker, W.A., Bradley, W.G., and Clark, C.A. (1949). Biological control of the European corn borer in the United States. *USDA Technical Bulletin* 983, 1-185.

Bannert, M., and Stamp, P. (2007). Cross-pollination of maize at long distance. *Eur J Agron* 27, 44-51.

Bateman, A.J. (1947). Contamination of seed crops. II. Wind pollination. *Heredity* 1, 235-246.

Beckmann, V., Soregaroli, C., and Wesseler, J. (2006). Coexistence rules and regulations in the European Union. *Am J Agric Econ* 88, 1193-1199.

Bravo, A., Gill, S.S., and Soberon, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon* 49, 423-435.

⁴¹ Deux lots de documents ont été transmis au HCB :

- un lot de documents concernant directement la saisine, regroupant (1) le dossier C/ES/01/01 déposé par Pioneer Hi_Bred International, Inc. et Mycogen Seeds, et (2) les avis antérieurs, de la CGB, de l'Afssa et de l'AESA, relatifs à ce dossier.
- un deuxième lot, concernant le dossier UK-2005-28 relatif à l'empilage 1507x59122, joint au premier lot pour consultation libre.

⁴² Comité économique, éthique et social

Brunet, Y. (2008). La dissémination du pollen de maïs : le point sur les connaissances actuelles. In Colloque Biotechnologies & Agriculture durable (Paris, France).

CGB (2003). Avis du 2 octobre 2003 de la Commission du Génie Biomoléculaire sur le dossier C/ES/01/01 de demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié 1507, tolérant à l'herbicide glufosinate d'ammonium et résistant à certains ravageurs du maïs (sésamie et pyrale), en vue de la culture et de tout usage comme toute autre variété de maïs conventionnelle dans l'Union Européenne. (Paris, France).

CGB (2004). Avis du 17 mai 2004 de la Commission du Génie Biomoléculaire sur les compléments d'information transmis par la Commission Européenne concernant le dossier C/ES/01/01 de demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié 1507, tolérant à l'herbicide glufosinate d'ammonium et résistant à certains ravageurs du maïs (sésamie et pyrale), en vue de la culture et de tout usage comme toute autre variété de maïs conventionnelle dans l'Union Européenne. (Paris, France).

CGB (2006). Note de la Commission du Génie Biomoléculaire sur le dossier C/ES/01/01 de demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié 1507, tolérant à l'herbicide glufosinate d'ammonium et résistant à certains ravageurs du maïs (sésamie et pyrale), en vue de la culture et de tout usage comme toute autre variété de maïs conventionnelle dans l'Union Européenne. (Paris, France).

Chambers, J.A., Jelen, A., Gilbert, M.P., Jany, C.S., Johnson, T.B., and Gawron-Burke, C. (1991). Isolation and characterization of a novel insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. *J Bacteriol* 173, 3966-3976.

Coléno, F.C., Angevin, F., and Lécroart, 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, 49-56.

de Maagd, R.A., Kwa, M.S., van der Klei, H., Yamamoto, T., Schipper, B., Vlak, J.M., Stiekema, W.J., and Bosch, D. (1996). Domain III substitution in *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin CryIA(b) results in superior toxicity for *Spodoptera exigua* and altered membrane protein recognition. *Appl Environ Microbiol* 62, 1537-1543.

Delage, S., Brunet, Y., Dupont, S., Tulet, P., Pinty, J.-P., Lac, C., and Escobar, J. (2007). Atmospheric dispersal of maize pollen over the Aquitaine region,. Paper presented at: Third International Conference on coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains (Seville, Spain, European Commission).

Demanèche, S., Sanguin, H., Pote, J., Navarro, E., Bernillon, D., Mavingui, P., Wildi, W., Vogel, T.M., and Simonet, P. (2008). Antibiotic-resistant soil bacteria in transgenic plant fields. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 3957-3962.

Devos, Y., Demont, M., Dillen, K., Reheul, D., Kaiser, M., and Sanvido, O. (2009). Coexistence of Genetically Modified and Non-GM Crops in the European Union: A Review. In *Sustainable Agriculture* (Springer-Verlag Berlin), pp. 203-228.

Donn, G., Tischer, E., Smith, J.A., and Goodman, H.M. (1984). Herbicide-resistant alfalfa cells: an example of gene amplification in plants. *J Mol Appl Genet* 2, 621-636.

Douville, M., Gagne, F., Blaise, C., and Andre, C. (2007). Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. *Ecotoxicol Environ Saf* 66, 195-203.

Drottar, K.R., and Krueger, H.O. (1999). Bt Cry1F delta-endotoxin: a 48-hour static-renewal acute toxicity test with the Cladoceran (*Daphnia magna*) using bacterially Cry1F delta-endotoxin, and pollen from maize expressing Bt Cry1F delta-endotoxin. *US EPA MRID # 450202-0*.

Duan, J.J., Marvier, M., Huesing, J., Dively, G., and Huang, Z.Y. (2008). A meta-analysis of effects of Bt crops on honey bees (Hymenoptera: Apidae). *PLoS One* 3, e1415.

EC (2005). Commission decision of 3 November 2005 concerning the placing on the market, in accordance with Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council, of a maize product (*Zea mays* L., line 1507) genetically modified for resistance to certain lepidopteran pests and for tolerance to the herbicide glufosinate-ammonium. *Official Journal of the European Union L 291*, 42-44.

EC (2006). Commission decision of 3 March 2006 authorising the placing on the market of food containing, consisting of, or produced from genetically modified maize line 1507 (DAS-Ø15Ø7-1) pursuant to Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Union L 70*, 82-86.

EFSA (2005). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* 181, 1-33.

EFSA (2006). Clarifications of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms following a request from the Commission related to the opinions on insect resistant genetically modified Bt11 (Reference C/F/96/05.10) and 1507 (Reference C/ES/01/01) maize. *The EFSA Journal Annex to the Opinions of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the insect resistant genetically modified Bt11 and 1507 maize*.

EFSA (2008). Scientific opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the European Commission to review scientific studies related to the impact on the environment of the cultivation of maize Bt11 and 1507. *The EFSA Journal* 851, 1-27.

EFSA (2009). Scientific opinion on Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs, on request of EFSA. *The EFSA Journal* 1250, 1-62.

Fonseca, A.E., Westgate, M.E., Grass, L., and Dornbos, D.L., Jr. (2003). Tassel morphology as an indicator of potential pollen production in maize. *Crop Management*, 1-13.

Gallina, M.A., and Stephenson, G.R. (1992). Dissipation of [C-14] glufosinate ammonium in two Ontario soils. *J Agric Food Chem* 40, 165-168.

Gassmann, A.J., Carriere, Y., and Tabashnik, B.E. (2009). Fitness costs of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu Rev Entomol* 54, 147-163.

Gebhard, F., and Smalla, K. (1998). Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 by transgenic sugar beet DNA. *Appl Environ Microbiol* 64, 1550-1554.

Gonzalez-Cabrera, J., Farinos, G.P., Caccia, S., Diaz-Mendoza, M., Castanera, P., Leonardi, M.G., Giordana, B., and Ferre, J. (2006). Toxicity and mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins in the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre). *Appl Environ Microbiol* 72, 2594-2600.

Granero, F., Ballester, V., and Ferre, J. (1996). *Bacillus thuringiensis* crystal proteins CRY1Ab and CRY1Fa share a high affinity binding site in *Plutella xylostella* (L.). *Biochem Biophys Res Commun* 224, 779-783.

Hanley, A.V., Huang, Z.Y., and Pett, W.L. (2003). Effects of dietary transgenic Bt corn pollen on larvae of *Apis mellifera* and *Galleria mellonella*. *J Apic Res* 42, 77-81.

Hellmich, R.L., Siegfried, B.D., Sears, M.K., Stanley-Horn, D.E., Daniels, M.J., Mattila, H.R., Spencer, T., Bidne, K.G., and Lewis, L.C. (2001). Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 11925-11930.

- Hess, F.D. (2000). Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Sci* 48, 160-170.
- Higgins, L.S., Babcock, J., Neese, P., Layton, R.J., Moellenbeck, D.J., and Storer, N. (2009). Three-year field monitoring of Cry1F, event DAS-1507-1, maize hybrids for nontarget arthropod effects. *Environ Entomol* 38, 281-292.
- Hoagland, R.E. (1999). Biochemical interactions of the microbial phytotoxin phosphinothricin and analogs with plants and microbes. In *Biologically active natural products: agrochemicals*, H.G. Cutler, and S.J. Cutler, eds. (Boca Raton, Florida, CRC Press LLC), pp. 107-125.
- Hua, G., Masson, L., Jurat-Fuentes, J.L., Schwab, G., and Adang, M.J. (2001). Binding analyses of *Bacillus thuringiensis* Cry delta-endotoxins using brush border membrane vesicles of *Ostrinia nubilalis*. *Appl Environ Microbiol* 67, 872-879.
- Hüsken, A., Ammann, K., Messeguer, J., Papa, R., Robson, P., Schiemann, J., Squire, G., Stamp, P., Sweet, J., and Wilhelm, R. (2007). A major European synthesis of data on pollen and seed mediated gene flow in maize in the SIGMEA project. Paper presented at: Third International Conference on coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains (Seville, Spain, European Commission).
- Ishida, Y., Hiyoshi, T., Sano, M., and Kumashiro, T. (1989). Selection and characterization of a herbicide-tolerant cell line of tobacco (*Nicotiana tabacum*, L.). *Plant Sci* 63, 227-235.
- Jank, B., Rath, J., and Gaugitsch, H. (2006). Co-existence of agricultural production systems. *Trends Biotechnol* 24, 198-200.
- Jansen, C., Schuphan, I., and Schmidt, B. (2000). Glufosinate metabolism in excised shoots and leaves of twenty plant species. *Weed Sci* 48, 319-326.
- Kay, E., Vogel, T.M., Bertolla, F., Nalin, R., and Simonet, P. (2002). In situ transfer of antibiotic resistance genes from transgenic (transplastomic) tobacco plants to bacteria. *Appl Environ Microbiol* 68, 3345-3351.
- Klein, E.K., Lavigne, C., Picault, H., Renard, M., and Gouyon, P.H. (2006). Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *J Appl Ecol* 43, 141-151.
- Lydon, J., and Duke, S.O. (1999). Inhibitors of glutamine biosynthesis. In *Plant amino acids: biochemistry and biotechnology*, B. Singh, ed. (New York, NY, Marcel Dekker), pp. 445-464.
- Maggi, V.L. (1999). Evaluation of the dietary effect(s) on honey bee development using bacterially expressed Bt Cry1F delta-endotoxin and pollen from maize expressing Bt Cry1F delta-endotoxin. US EPA *MRID #*: 450415-03.
- Marvier, M., McCreedy, C., Regetz, J., and Kareiva, P. (2007). A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science* 316, 1475-1477.
- Matten, S.R. (2007). Submission (dated July 12, 2007) regarding Fall Armyworm resistance to the Cry1F protein expressed in TC1507 Herculex I insect protection maize in Puerto Rico. Review of Dow AgroSciences (and Pioneer HiBred) *MRID #*: 471760E01.
- Matten, S.R., Head, G.P., and Quemada, H.D. (2008). How governmental regulation can help or hinder the integration of Bt crops within IPM programs. In *Integration of insect resistant genetically modified crops within IPM programs*, J. Romeis, A.M. Shelton, and G.G. Kennedy, eds. (New York, Springer), pp. 27-39.
- Mersey, B.G., Hall, J.C., Anderson, D.M., and Swanton, C.J. (1990). Factors affecting the herbicidal activity of glufosinate ammonium: absorption, translocation, and metabolism in barley and green foxtail. *Pestic Biochem Physiol* 37, 90-98.

Messéan, A., and Angevin, F. (2007). Coexistence measures for maize cultivation: lessons from gene flow and modeling studies. Paper presented at: Third International Conference on coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains (Seville, Spain, European Commission).

Messéan, A., Angevin, F., Gomez-Barbero, M., Menrad, K., and Rodriguez-Cerezo, E. (2006). New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture. Technical report EUR 22102 EN. In Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission, pp. 116.

Naranjo, S.E. (2009). Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 4, 1-11.

Neto, F.S., Coble, H.D., and Corbin, F.T. (2000). Absorption, translocation, and metabolism of C-14-glufosinate in *Xanthium strumarium*, *Commelina diffusa*, and *Ipomoea purpurea*. *Weed Sci* 48, 171-175.

Palau-delmas, M., Penas, G., Mele, E., Serra, J., Salvia, J., Pla, M., Nadal, A., and Messeguer, J. (2009). Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Res* 18, 583-594.

Pereira, E.J.G., Lang, B.A., Storer, N.P., and Siegfried, B.D. (2008a). Selection for Cry1F resistance in the European corn borer and cross-resistance to other Cry toxins. *Entomol Exp Appl* 126, 115-121.

Pereira, E.J.G., Siqueira, H.A., Zhuang, M., Storer, N.P., and Siegfried, B.D. (2010a). Measurements of Cry1F binding and activity of luminal gut proteases in susceptible and Cry1F resistant *Ostrinia nubilalis* larvae (Lepidoptera: Crambidae). *J Invertebr Pathol* 103, 1-7.

Pereira, E.J.G., Storer, N.P., and Siegfried, B.D. (2008b). Inheritance of Cry1F resistance in laboratory-selected European corn borer and its survival on transgenic corn expressing the Cry1F toxin. *Bull Entomol Res* 98, 621-629.

Pereira, E.J.G., Storer, N.P., and Siegfried, B.D. (2010b). Fitness costs of Cry1F resistance in laboratory-selected European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J Appl Entomol in print*.

Pontiroli, A., Rizzi, A., Simonet, P., Daffonchio, D., Vogel, T.M., and Monier, J.M. (2009). Visual evidence of horizontal gene transfer between plants and bacteria in the phytosphere of transplastomic tobacco. *Appl Environ Microbiol* 75, 3314-3322.

Rizzi, A., Pontiroli, A., Brusetti, L., Borin, S., Sorlini, C., Abruzzese, A., Sacchi, G.A., Vogel, T.M., Simonet, P., Bazzicalupo, M., *et al.* (2008). Strategy for in situ detection of natural transformation-based horizontal gene transfer events. *Appl Environ Microbiol* 74, 1250-1254.

Rosi-Marshall, E.J., Tank, J.L., Royer, T.V., Whiles, M.R., Evans-White, M., Chambers, C., Griffiths, N.A., Pokelsek, J., and Stephen, M.L. (2007). Toxins in transgenic crop byproducts may affect headwater stream ecosystems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 16204-16208.

Sanvido, O., Widmer, F., Winzeler, M., Streit, B., Szerencsits, E., and Bigler, F. (2008). Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. *Transgenic Res* 17, 317-335.

Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R., and Dean, D.H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev* 62, 775-806.

Sears, M.K., Hellmich, R.L., Stanley-Horn, D.E., Oberhauser, K.S., Pleasants, J.M., Mattila, H.R., Siegfried, B.D., and Dively, G.P. (2001). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 11937-11942.

Tabashnik, B.E., Gassmann, A.J., Crowder, D.W., and Carriere, Y. (2008). Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. *Nat Biotechnol* 26, 199-202.

Tabashnik, B.E., Van Rensburg, J.B., and Carriere, Y. (2009). Field-evolved insect resistance to Bt crops: definition, theory, and data. *J Econ Entomol* 102, 2011-2025.

Treu, R., and 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. In A report for the Soil Association from the National Pollen Research Unit (Worcester, University College Worcester), pp. 54p.

Uribelarrea, M., Carcova, J., Otegui, M.E., and Westgate, M.E. (2002). Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Sci* 42, 1910-1918.

Vaissière, B.E., and Vinson, S.B. (1994). Pollen morphology and its effect on pollen collection by honey-bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), with special reference to upland cotton, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae). *Grana* 33, 128-138.

Vasil, I.K. (1996). Phosphinothricin-resistant crops. In *Herbicide-Resistant crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory and Technical aspects*, S.O. Duke, ed. (Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc.), pp. 85-91.

Wendler, C., Barniske, M., and Wild, A. (1990). Effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis and photorespiration of C3 and C4 plants. *Photosynthesis Res* 24, 55-61.

Wolfenbarger, L.L., Naranjo, S.E., Lundgren, J.G., Bitzer, R.J., and Watrud, L.S. (2008). Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: a meta-analysis. *PLoS One* 3, e2118.

Wolt, J.D., Conlan, C.A., and Majima, K. (2005). An ecological risk assessment of Cry1F maize pollen impact to pale grass blue butterfly. *Environ Biosafety Res* 4, 243-251.

Annexe 1 : Saisine



MINISTÈRE DE L'ALIMENTATION, DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

Direction générale de
l'alimentation

Service de la prévention
des risques sanitaires de
la production primaire

Sous direction de la
qualité et de la protection
des végétaux

Bureau de la
biovigilance, des
biotechnologies et de la
qualité des végétaux

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

COURRIER ARRIVÉ LE : 3/3/10

Madame BRECHIGNAC
Présidente du Haut conseil des
biotechnologies
à l'attention de Monsieur Hamid Ouahioune
3 place de Fontenoy
75007 PARIS

24 FEV. 2010

Paris, le

Objet : saisine du Haut conseil des biotechnologies sur un dossier de demande de mise sur le marché d'OGM

Références : 100216-saisine HCB- dossier 1507 culture

Affaire suivie par : Anne Grevet
tél. : 01 49 55 58 25 fax : 01 49 55 59 49
courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

PJ : - 1 dossier sous format électronique

Madame la Présidente,

Dans le cadre de la directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement, les dossiers de demande d'autorisation sont déposés auprès d'un Etat membre, qui est alors chargé de l'évaluation initiale de la demande. Lorsque cet Etat membre a transmis son rapport d'évaluation, le dossier est adressé à l'ensemble des États membres qui disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché, puis de 45 jours pour évaluer les informations complémentaires. A l'issue de cette phase, lorsque des objections sont maintenues par certains États membres, la Commission consulte l'EFSA, puis propose un projet de décision au vote des États membres. Un vote à la majorité qualifiée a d'abord lieu en comité réglementaire. En l'absence de majorité qualifiée, le projet de décision est ensuite transmis en Conseil des ministres. Si aucune majorité qualifiée n'est atteinte lors de ce vote, l'adoption d'une décision revient à la Commission. L'Etat membre rapporteur du dossier doit ensuite délivrer un consentement écrit final.

Le dossier C/ES/01/01 relatif à la mise sur le marché du maïs 1507 pour la culture, l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation animale a été déposé en 2001 auprès des autorités espagnoles. Il a été transmis à la Commission avec un rapport favorable des autorités espagnoles. Ce dossier a fait l'objet d'un vote en comité réglementaire le 25 février 2009. Aucune majorité qualifiée n'ayant été réunie, il appartient maintenant au Conseil des ministres de se prononcer.

Dans la perspective du vote en Conseil des ministres, dont la date n'est pas connue à ce jour, j'ai l'honneur de vous demander, par la présente saisine, de bien vouloir procéder à une **nouvelle évaluation du dossier** afin de rendre un avis au plus tard **le 10 mai 2010**. **Seule la culture du maïs 1507 sera considérée dans le cadre de cette évaluation, les autres usages ayant déjà été autorisés.**

Je vous prie de croire, Madame la Présidente, à l'assurance de ma considération distinguée.


La Directrice Générale de l'Alimentation
Pascale BRIAND

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

L'avis a été élaboré par le CS du HCB, composé de :

Jean-Christophe Pagès, Président, Jean-Jacques Leguay, Vice-Président,

et par ordre alphabétique des noms de famille : Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Florence Coignard, François-Christophe Coléno, Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, Maryse Deguergue, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Anne Dubart-Kupperchmitt, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Mireille Jacquemond, André Jestin, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Jane Lecomte, Olivier Le Gall, Yvon Le Maho, Didier Lereclus, Patrice Mannoni, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Bertrand Ney, Jacques Pagès, Daniel Parzy, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Virginie Tournay.

Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec son analyse du dossier.

Un rapporteur extérieur, Jacques Gasquez (INRA), a été sollicité pour compléter l'expertise du CS. Jacques Gasquez a signé un engagement de confidentialité, et a certifié son absence de conflits d'intérêts après avoir pris connaissance du dossier. Il a fourni une analyse du dossier dans son domaine d'expertise, et a été auditionné par le CS. Il n'a toutefois pas contribué directement à la rédaction de l'avis du CS.

Annexe 3 : Recommandations en matière de biosurveillance

Pour l'élaboration du plan de surveillance par le Comité de Surveillance Biologique du Territoire, le CS du HCB recommande l'élaboration de :

- plans de surveillance de durée plus longue que la seule durée d'autorisation en cas de survenue d'anomalies ;
- définition de l'éventail des espèces à surveiller dans le cadre d'une biosurveillance nationale ;
- suivi des espèces cibles et non-cibles, en particulier des espèces auxiliaires en tenant compte des spécificités des territoires en matière de faune et flore sauvages et de cultures et en fonction des zones climatiques ;
- définition des zones refuges sur le territoire métropolitain et dans les DOM en prenant en considération le contexte géo-territorial vicinal, pour les exploitations cultivant du maïs 1507 et également celles de l'agriculture conventionnelle ou biologique utilisant dans ses itinéraires phytopharmaceutiques des formulations à base de *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* ;
- programmes de recherche dédiés à des préoccupations mises en avant par l'actualité (ex : incidence sur de nouvelles espèces invasives) ou par les questions des Etats membres de l'Union Européenne ;
- base centralisée de données sur les plantes génétiquement modifiées, et veille bibliographique, le tout étant interconnecté et interfacé avec d'autres bases de données nationales et européennes sur les pratiques agricoles ;
- publication en ligne des résultats non confidentiels afin d'améliorer la transparence des plans de surveillance.