Meta-Analyses of Statements Commissioned by the French Government on the impact of MON810

Jean-Baptiste Bergé[1] & Agnès Ricroch[2,3]

1. *Director of research (retired). INRA-Sophia Antipolis, 06600 Antibes, France*
2. *Lecturer in Evolutionary Genetics and Plant Breeding. Université Paris-Sud 11. CNRS-AgroParisTech, UMR 8079. Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution, Bâtiment 360. 91405 Orsay, France.*
3. *AgroParisTech. 16 rue Claude Bernard. 75005 Paris, France*

Abstract

On 31 October 2007, the French government decided the temporary suspension of the cultivation of the maize MON810. On 7 December 2007, the Ministry of Ecology created a provisional committee on genetically modified organisms of 34 experts (**C**omité de **P**réfiguration pour une **H**aute **A**utorité sur les OGM, CPHA) including 15 scientists (headed by a politician, Senator Jean-François Le Grand) to examine the impact of MON810 on the environment. On 9 January 2008, the CPHA opinion was submitted to the French government **(see below: section 1.1**). Sen. Le Grand announced to the press that the CPHA found « a number of new negative scientific facts concerning impact on flora and fauna » raising « *serious doubts* ». On 11 January 2008, 12 of the 15 scientific experts from the CPHA protested publicly against Sen. Le Grand's statement: what was only a draft document « does not contain the words '*serious doubts'*, nor does it qualify the new scientific evidences as '*negative*' ». On 7 February 2008, the French government invoked a safeguard measure prohibiting the cultivation of the authorized maize MON810 on its territory. **Using our database, we performed a meta-analysis on the CPHA document to examine this « new evidence » on the environmental impact of GM plants (see below sections 1.2 and 1.3)**. On 30 January 2008, the Monsanto Company published a scientific report to contest the arguments of the CPHA document (http://www.monsanto.es/files/Analyse_scientifique_version_anglaise.pdf). The French Ministry of Ecology requested Prof. Le Maho (a member of the CPHA who did not protest against Sen. Le Grand's statement) to analyze this report. Le Maho's memorandum was published on 21 August 2008. **We also performed a meta-analysis on this memorandum using our database on 2 October 2008 (see below section 2)**.

Contents

1. The French GMO provisional Committee (CPHA) document on the cultivation of MON810 on French territory.
Our meta-analysis of the contents of this document.

1.1. CPHA document (English version)……..1

1.2. Abstract of our **meta-analysis** of the CPHA document ……...4

1.3. **Our meta-analysis** (in French): ……5
'Méta-analyse de l'avis sur la dissémination du MON810 sur le territoire français du comité de préfiguration d'une haute autorité sur les organismes génétiquement modifiés' *par J. B. Bergé & A. Ricroch (7 February 2008)*

2. Le Maho's memorandum commissioned by the French Ministry of Ecology.
Our meta-analysis of Le Maho's memorandum.

2.1 Abstract of **our meta-analysis** of Le Maho's memorandum……32

2.2 **Our meta-analysis** (in French)……33
'Analyse critique du rapport de Y. Le Maho' *par J. B. Bergé & A. Ricroch (2 octobre 2008)*

Documents and analyses

1. **The French GMO provisional Committee (CPHA) document on the cultivation of MON810 on French territory.**
   Our meta-analysis of the contents of this document.

1.1. Notice on the Cultivation of MON810 on the French Territory.

Provisional Committee on Genetically Modified Organisms Instituted by decree # 2007-1719 of December 5, 2007.

The provisional committee on GMOs met in December 2007 and January 2008. It had been tasked to "reevaluate risks and benefits for the environment and health which could be related to the voluntary dissemination of MON810 corn."

The committee set relevant evaluation scopes according to its experts for MON810, and based on the "Grenelle for the Environment" biotech working group's wish to widen the scope of investigation.

It set summary notes for these evaluation scopes, some still showing significant gaps in scientific literature. The whole literature could not be taken into account.

In line with the assignment, issues dealing with justification of any kind of the open-air cultivation of GMOs and concerning all GMOs have not been reviewed.

When discussing each of these summary notes, the committee highlighted that the available results of impact evaluation, clearly stating results already obtained at the first approval, new available results, and additional questions considered as important.

In view of this work,
-The interim committee stresses the publication of several new scientific facts regarding the impact of MON810 on the environment and human health, economy, and agronomy:

. Dissemination: the new fact since 1998 is on the characterization of pollen dispersion (Klein et coll, 2003; Rosi-Marshall et coll, 2007; Brunet 2006) (Kuest; Chapela 2001) on long distances (kilometers) (Messean, 2006) notably due to climatic conditions and events, and natural environment. These results demonstrated that the absence of crossed-pollination between GMO fields and fields without GMOs is impossible at a local scale (small farm region) (A. MESSEAN, 2006). The discussion focused on the importance of such results regarding the impact on planting seed purity, meeting adventitious presence thresholds / contamination and coexistence rules. The dissemination of the Bt toxin and its persistence have been demonstrated and vary according to edaphic, climatic and environmental factors (Icoz et Stotsky; 2007).

. New resistance on target pests: no new fact on the main target insects (no demonstrated resistance) but selection of resistance strain on two secondary target lepidopters (Huang et al, 2007; Van Rensburg, 2007).

. Impact on non-target fauna: new facts confirm the possibility of proven long-term toxic impacts on earthworms (Zwalhen et al. 2003), isopods, nematods, and monarchs (rhopaloers) (Hardwood et al. 2005, Prasifka et al. 2007; Dutton et al, 2005). The exposure of natural populations of monarchs remains very limited (less than 1 percent), notably with damaging behavior impacts (Marvier et al, 2007). Publications demonstrate the potential presence of Bt toxin

in the trophic chain (Obrist et al, 2006) as well as an observed persistence of insecticide molecules in water (Douville et al, 2006; Rosi-Marshall et al, 2007) or in draining sediments of a plot (more than 20 to 40 days) (Ipoz, Slotsky, 2007), when in contact with roots and in the soil (Saxena et Slotzky, 2005; Mulder et al, 2006; Castaldini et al, 2005) with insect populations exposure (Griffith et al., 2006; Johnson et al, 2006) more upstream in tropic chains. A global analysis on non-target entomofauna (Marvier et al 2007) demonstrates an impact of Bt corn cultivation on several families of invertebrates, impact being however lower than that caused by insecticide treatments. Finally, no evidence was provided regarding direct toxicity in the Marvier study.

. Human health: new facts reveal the impact of Bt corn on mycotoxin contents that can be reduced by 90 to 95 percent (AGSSA, 2004) compared with conventional hybrids not treated with insecticides, insecticide treatments not allowing such strong reduction. Fumozinin contents (listed as probable carcinogen in humans 2B CIRC group) for conventional hybrids regularly exceeds 2000 ppb depending on insect attacks in Midi-Pyrenees and Aquitaine regions.

-The committee notes issues insufficiently taken into account or new issues that should be taken into consideration in the evaluation of impacts of any GMO:

. Molecular and biochemical characterization: the protein produced by the transgene is not identical to that produced by Bacillus thuringinsis. Its properties in terms of folding, post-traduction modification, biodegradability, remanence or specificity, presentation (etc.) can differ from the properties of the natural CRY 1 AB toxin. Only studies conducted on corn containing the MON810 event are relevant to evaluate the human and environmental toxicity. It would be interesting to know the interaction between the transgene and various genetic backgrounds. Peptide production by MON810 with unexpected sequences was also discussed, as well as their impact on the development of insects and vertebrates, and the weakness of the evaluation file on this issue has been underscored, but there has been no consensus reached on this point. The possible production and the fate of metabolites derived from the degradation of the Bt toxin was also discussed, but found no answer.

. Impact on pollinating insects: impact studies on bees must be conducted on hives under normal production conditions in order to take into account cumulative effects. No consensus was reached on this point.

. Toxicology elements: no new facts other than toxic impacts indicated above, but a large majority of participants underscored that the 90 day test was insufficiently powerful. Indeed, the methodology used (validated by OECD) on rats doesn't permit to decide on the absence or presence of significant difference between test groups and control groups, and on the biological interpretation of the observed differences (Lavielle, 2007). The protocol must be rethought. The committee therefore considers necessary to implement long-term studies on adapted genetic materials (in French, "fonds genetiques"), on other species, and above all, on larger samples. The committee stressed the absence of evaluation of endocrine, teratogenic, and transgenerational impacts.

. Biological and microbiological impacts: biological and microbiological impacts of the observed dissemination or persistence of Bt molecules or of the transgene in the soil (more than 200 days) (Crecchio, Stotzky, 2001) must be reviewed.

. Epidemiological elements: the committee stresses the importance to set up epidemiologic studies. It notes that the experience of countries that widely consume GMOs cannot be used as no epidemiological study is conducted in these countries, due to the lack of traceability.

. Economic elements: available information only covers the micro-economic scale (for farms) and seems to show in France a positive incidence on gross margins per hectare, based on an infestation rate of 0.3 larvae per stem (i.e., potentially on average for 600 to 700,000 ha of corn for grain), at 40 to 110 euros per hectare, compared to conventional crops. In addition, field observations indicate benefits in terms of use (late harvest, cuts in drying costs). However, important variation factors (climatic, parasitic) make analysis difficult at this level. Furthermore, the potential price differential between the GMO product and the conventional product has not been taken into account. The economic incidence of contaminations on conventional, specific or organic sectors was raised, but no answer could be found in the economic literature. The situation is similar for coexistence costs (isolation, analysis, transportation, segregation of lots, economic and ecological externalities), studies being currently under way. More global economic impact (…) is not taken into account as it is not specific of MON810 but it should be taken into account by the High Authority. Overall, the committee takes note of the insufficient economic analysis at the farm, sector, and international market levels.

. Biological surveillance: the committee stresses the importance of a real-time and long-term monitoring on impact of open field cultivation of MON810 on fauna, flora, fungi, ecosystems, within a biological surveillance program.

. Pesticide use: there must be more studies quantifying the change in pesticides in relation to the use of MON810.

. Analysis of the economic, sociological, and political conditions to organize coexistence among organic, conventional, GMO and other agricultures.

The following new facts have appeared since 1998:

- characterization of long-distance dissemination;
- identification of resistance in some target secondary pests;
- new elements regarding impacts on non-target fauna and flora;
- reduction of mycotoxin production.

Besides, further studies should be conducted on:

- molecular and biochemical characterization;
- toxicological and ecotoxicological study methodology
- epidemiological surveillance system;
- biological surveillance system;
- economic analysis at the farm and sector levels; externalities to be taken into account.

These facts and issues raise questions regarding the possible environmental, health and economic impact of the cultivation and marketing of MON810.

Health-related elements raised by the committee also apply to transformation events authorized to be imported into the European Union. In the longer term, it will also be important to take into account the ecological impact of products authorized for importation.

1.2. Abstract of our meta-analysis on the document of the provisional committee on genetically modified organisms.

Jean-Baptiste Bergé and Agnès Ricroch (7 February 2008)

The provisional committee on GMOs (comité de préfiguration d'une haute autorité sur les organismes génétiquement modifies, CPHA) gave its opinion on the voluntary dissemination of MON810 corn on the French territory on 9 January 2008.

According to the method of Evidence-Based Decision (Guyatt et al. 1992; Pullin & Knight 2001)1 used in medicine and recently in biodiversity management, we performed a metanalysis by means of our database on February 7, 2008. Our database constituted by Dr. J. B. Bergé with EndNote software comprises 7800 references including 7400 references from January 1, 2000 to February 7, 2008. Our database comprises only scientific publications which are quasi exhaustive on environmental impacts of transgenic plants cultivation, *i.e.* scientific knowledge as 'evidence'. The literature references are ranked according to their publication origin (Peer-reviewed journal, Non peer-reviewed journal, Official report (Government, Ministry, etc.), Report, Note, etc.).

According to the CPHA opinion 'new evidences' appeared. If the scientific literature is reviewed with caution, one can found publications which gave a global or a partial answer to the questions related to these 'new evidences'. In our present meta-analysis we analysed each issue and references cited by the CPHA by reviewing the relevant literature. Our meta-analysis follows all the sections of the opinion: Section 1. 1- Dissemination, 2- Resistance of target insects, 3- Effects on non target fauna; Section 2. Questions taken into account insufficiently; Section 3.

We observed the weakness of literature analysis used to elaborate this opinion and the absence of the mention of the rich literature published on this subject. Our meta-analysis concludes that the request of the suspension of the cultivation of MON810 corn is not based on relevant literature references. Indeed recent publications concerning MON810 corn were not cited in the opinion by the committee.

No publication cited by the opinion gave a justification based on the existence of scientific evidences to the suspension the cultivation of MON810 corn. For example, concerning the pollen dissemination issue, the opinion is based on 5 publications to justify the ban of MON810 corn (less than 3% of the relevant references in the literature). The 11 references cited by the opinion concerning non target oragnisms represented 0.5% of the relevant references in the scientific literature. Moreover the opinion mentioned certain references which concern unrealistic conditions and are not conformed to the reality (namely natural conditions).

We observed that the 'new evidences' cited by the committee to justify the MON810 ban are scientific data already analysed in previous publications. To find these previous publications a literature review of more than 7000 publications on GMOs is needed and therefore was not performed by the committee.

Nota bene: Sentences in italics in the following sections come from the opinion. Sentences in blue are Bergé & Ricroch's comments and in green the main Bergé & Ricroch's conclusions.

[1] Guyatt G, Cairns J, Churchill D, et al. ['Evidence-Based Medicine Working Group'] (1992). Evidence-Based Medicine. A New Approach to Teaching The Practice Of Medicine. JAMA, 268: 2420-5

Pullin AS & TM Knight (2001). Effectiveness in Conservation Practice: Pointers from Medicine and Public Health. Conservation Biology, 15: 50-54

1.3. Méta-analyse de l'avis sur la dissémination du MON810 sur le territoire français du comité de préfiguration d'une haute autorité sur les organismes génétiquement modifiés.

Jean-Baptiste Bergé et Agnès Ricroch (7 février 2008)

Table des matières

Préambule 7

Partie 1/ 8

« *Le comité de préfiguration souligne la publication de plusieurs faits scientifiques nouveaux qui concernent, l'impact du MON 810 sur l'environnement sur la santé humaine, l'économie et l'agronomie.* »

1 – Dissémination 8

1-1 Dissémination du transgène 8

1-2 Dissémination de la transprotéine 12

2– Apparition de résistance sur les ravageurs cibles 12

2-1 Référence de Huang et al. (2007 12

2-2 Référence de Van Rensburg (2007) 13

3 – Effets sur la faune non cible 14

3-1 « *des faits nouveaux confirment la possibilité d'effets toxiques avérés à long terme sur les lombrics (Zwalhen et al. 2003)* » 14

3-2 « *des faits nouveaux confirment la possibilité d'effets toxiques avérés à long terme sur les isopodes, les nématodes et sur les monarques (rhopalocères) (Hardwood et al. 2005, Prasifka et al. 2007 ; Dutton et al. 2005)* » 15

3-3 *« L'exposition sur les populations naturelles de monarque reste très limitée (moins de 1%), notamment pour ces derniers via des effets comportementaux dommageables (Marvier et al. 2007). »* 17

3-4 « *Des publications démontrent la présence possible de la toxine Bt dans la chaine trophique (Obrist et al. 2006) »* 17

3-5 *« Des publications démontrent une persistance observée des molécules insecticides dans l'eau (Douville et al. 2006 ; Rosi-Marshall et al. 2007) »* 18

3-6 *« Des publications démontrent une persistance des molécules insecticides dans les sédiments drainant d'une parcelle (plus de 20 à 40 jours) (Ipoz, Stotsky, 2007) »* 18

3-7 « *Des publications démontrent une persistance des molécules insecticides au contact des racines et dans le sol (Saxena et Stotzky, 2005 ; Mulder et al. 2006 ; Castaldini et al. 2005) »* 19

3-8 « Des publications démontrent une persistance des molécules insecticides au contact des racines et dans le sol avec une exposition des populations d'insectes (Griffith et al. 2006 ; Johnson et al. 2006) plus en amont des chaînes trophiques. » 20

3-9 « *Une analyse globale sur l'entomofaune non cible (Marvier et al. 2007) démontre un effet des cultures de maïs Bt sur quelques familles d'invertébrés, ses effets étant toutefois moindres que ceux liés aux traitements insecticides. Enfin, aucune preuve n'est apportée sur la toxicité directe dans l'étude de Marvier ».* 21

Partie 2/ 24
« Le comité de préfiguration fait état de questions insuffisamment prises en compte ou nouvelles comme devant être prises en considération dans l'évaluation des impacts de tout OGM. »

2-1 « *Caractérisation moléculaire et biochimique »* 24

2-2 « *Impact sur les insectes pollinisateurs »* 24

2-3 « *Eléments de toxicologie »* 26

2-4 « *Effets biologiques et microbiologiques »* 26

2-5 « *Eléments épidémiologiques »* 27

2-6 « *Eléments économiques »* 27

2-7 « *Biovigilance »* 27

2-8 « *Usage des pesticides »* 28

2-9 « *Analyse des conditions économiques, sociologiques et politiques d'organisation de la coexistence entre agricultures biologiques, conventionnelles, OGM et autres. »* 28

Partie 3/ *« Du fait de ces éléments, le comité de préfiguration est d'avis que (…) »* 29

Conclusion 30

Annexes 31

Préambule

Lorsque le comité de préfiguration d'une haute autorité sur les organismes génétiquement modifiés (CPHA) a rendu son avis le 9 janvier 2008, nous avons été frappés par la faiblesse de l'analyse bibliographique qui a servi à sa rédaction ainsi que par l'absence de toute mention portant sur la richesse des données bibliographiques existantes à ce jour sur le sujet.

Selon la méthode d'Evidence-Based Decision (Guyatt et al. 1992 ; Pullin & Knight 2001)[2], employée en médecine puis récemment en gestion de la biodiversité, nous avons réalisé une méta-analyse à partir d'une base de données bibliographiques. Cette base constituée par JB Bergé à l'aide du logiciel EndNote comprend 7800 références dont 7400 sont datées de 2000 à aujourd'hui (7 février 2008). Elle ne contient que des références quasi exhaustives se rapportant aux aspects agro-environnementaux de la culture des plantes transgéniques, c'est-à-dire des connaissances scientifiques au sens de « évidence factuelle ». Les références bibliographiques sont indexées suivant leur site de publication (revues à comité de lecture, revues sans comité de lecture, rapports officiels (OCDE, ONU, UE, ministères), rapports non officiels, etc.).

Selon l'Avis du CPHA des faits nouveaux sont apparus. Si on examine superficiellement la bibliographie, on trouve des articles présentant des faits scientifiques nouveaux depuis le dernier rapport national sur les OGM (Annexe 1). Mais, si on explore plus attentivement cette littérature scientifique, on trouve des publications qui répondent en totalité ou partiellement aux questions qu'on peut se poser à la lecture de ces faits nouveaux. C'est cette démarche que nous avons entreprise dans ce rapport en prenant chaque référence de l'Avis du CPHA en suivant sa structure (Partie 1/ 1- Dissémination, 2- Résistance des insectes cibles, 3- Effets sur la faune non cible, Partie 2/ Questions insuffisamment prises en compte et Partie 3/ L'avis du comité de préfiguration).

Nota bene : Dans ce qui suit les phrases en italique sont celles reprises de l'Avis du CPHA alors que les phrases surlignées en bleu sont les commentaires et en vert les principales conclusions de Bergé & Ricroch.

[2] Guyatt G, Cairns J, Churchill D, et al. ['Evidence-Based Medicine Working Group'] (1992). Evidence-based medicine. A new approach to teaching the practice of medicine. JAMA, 268: 2420-5

Pullin AS & TM Knight (2001). Effectiveness in Conservation Practice: Pointers from Medicine and Public Health. Conservation Biology, 15: 50-54

Partie 1/ « *Le comité de préfiguration souligne la publication de plusieurs faits scientifiques nouveaux qui concernent, l'impact du MON 810 sur l'environnement sur la santé humaine, l'économie et l'agronomie.* »

1 – Dissémination

1-1 Dissémination du transgène

Dans notre base de données bibliographiques, 1506 publications scientifiques, rapports officiels (émanant d'organismes reconnus, OECD, ministères, universités,…) ont été recensés dont 168 contiennent le mot « corn » dans le titre ou dans le résumé.

Thèmes « Dispersion et coexistence » par année :

2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
83	114	159	177	171	249	315	240	2

L'Avis du CPHA est basé sur 5 publications pour justifier un moratoire d'un maïs (soit moins de 3% des références portant sur ce sujet).

Il n'y a aucune référence complète dans l'Avis. L'Avis cite « *Kuest ; Chapela 2001* ». Dans notre base de données bibliographiques, il n'y a aucune référence se rapportant à Kuest & Chapella (2001). En revanche, la base de données contient la référence de Quist & Chapela (2001) dont les résultats n'ont pas pu être répétés selon Hodgson (2002) et qui ont fait l'objet de nombreuses controverses et de nombreuses autres publications critiquant les résultats de Quist & Chapela (Annexe 2).

Quist D & IH Chapela (2001). Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. Nature 414: 541–543

Hodgson J (2002). Doubts linger over Mexican corn analysis. Nature Biotechnology, vol. 20, January, 3-4

En conclusion : Cette référence erronée dans l'Avis du CPHA ne justifie pas scientifiquement le moratoire sur le maïs MON810.

On sait depuis plusieurs décennies que les 'particules biologiques' peuvent être transportées sur de longues distances (voir les études épidémiologiques sur les maladies cryptogamiques des plantes, voir aussi Moore (1976)). Les faits nouveaux évoqués par le CPHA montrent que la dispersion du pollen atteint plusieurs kilomètres suivant les conditions climatiques et environnementales. Ce pollen dispersé posera des problèmes environnementaux ou/et économique que s'il est viable à son point d'arrivée et s'il est capable d'entrer en compétition avec le pollen autochtone lors de la fécondation, et synchrone avec l'état de réceptivité des ovules. Or, il faut rappeler que le pollen de maïs a une viabilité moyenne assez réduite en conditions normales (Annexe 3).

Moore PD (1976). How far does pollen travel? Nature 260, 388- 389

La dispersion du pollen de OGM peut donner lieu à une règlementation pour deux aspects :

a) le flux de transgènes vers les espèces sauvages
Ceci n'a pas de sens vis-à-vis de MON810 parce qu'en Europe aucune espèce sauvage apparentée au maïs ne vit de façon sympatrique avec l'espèce cultivée (l'ancêtre sauvage du maïs - la téosinte - a son aire de répartition au Mexique).

b) la coexistence entre différents systèmes de cultures
De ce point de vue, l'UE a émis une décision qui impose de libeller 'OGM' tout ce qui contient plus de 0,9% de matériel provenant d'OGM (Directive 1830/2003). Cette close permet d'établir des distances d'isolement nécessaires pour cultiver des parcelles non OGM au voisinage des parcelles OGM (Sanvido et al. 2007 ; Messéan & Angevin 2006) et laisse à chacun le libre choix du système de production qu'il veut utiliser.

Sanvido et al. (2007). Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. Journal Transgenic Research - Online First - Tuesday, June 12, 2007

Messéan A & F Angevin (2006). Coexistence entre cultures OGM et non OGM en Europe. Edition INRA : http://www.inra.fr/la_science_et_vous/dossiers_scientifiques/ogm/questions_de_recherche/

En résumé, le pollen qui parcourt de grandes distances est le *fait nouveau* du CPHA. Dans ce sens, les faits nouveaux apportés par le CPHA n'impactent pas les règles communautaires portant sur la présence fortuite dû au pollen grand migrateur, parce que ce pollen a ces deux propriétés :

a) le pollen a de faibles chances de représenter une contamination de 0,9% (Bannert & Stamp 2007 ; Klein, Lavigne & Gouyon 2006). Messéan (2006) indique que le taux de 0,9% de contamination des maïs semences peut être géré par des distances d'isolement de parcelles à condition que la contamination des lots de semences non-OGM contiennent moins de 0,5% de contaminant. De son côté, Brunet (2006) trouve que le pollen migrateur peut représenter jusqu'à 2000 grains de pollen/m² et peut féconder, à plusieurs kilomètres du site émetteur, entre 0,05 et 0,25 %, selon que le maïs récepteur est castré ou non. On est bien en deçà de 0,9% seuil fixé par l'Europe et de 0,5% donné par Messéan (2006).

Bannert M & P Stamp (2007). Cross-pollination of maize at long distance. European Journal of Agronomy, Volume 27, Issue 1, July 2007, 44-51

Klein EK, Lavigne C & PH Gouyon (2006). Mixing of propagules from discrete sources at long distance: comparing a dispersal tail to an exponential. BMC Ecol. 2006 Feb 20; 6:3

Messéan A (2006). Projet européen SIGMEA « Sustainable Introduction of Genetically Modified Crops into European Agriculture »

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

b) le pollen a une extrêmement faible probabilité de féconder le maïs semence du fait qu'il représente une faible proportion au milieu des grains de pollen autochtone. Rappelons que le maïs produit environ 4.5 à 25 millions de grains de pollen par plante (Paterniani & Stort 1974), alors que Brunet (2006) a montré que le pollen migrateur prélevé entre 1 000 m et 2 000 m d'altitude représente une concentration de 1 grain/m³ en moyenne, ce qui donne 10 millions de grains par hectare de culture. Si la dissémination des pollens est certaine il faut comparer les chiffres la concernant aux 4,5 à 25 millions de

grains de pollen émis par plante de maïs, soit avec une densité de semis de 130 000 pieds Ha-1 (Pelerin et al., 1990) entre 585.109 et 325.1010 grains de pollen autochtones à l'hectare.

Paterniani E & AC Stort (1974). Effective maize pollen dispersal in the field. Euphytica, 23: 129–134

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

Pellerin S, Trendel R & A Duparque (1990). Relation entre quelques caractères morphologiques et la sensibilité à la verse en végétation du maïs (*Zea mays* L). Agronomie, 6, 439-446

En revanche, ces nouvelles données deviennent pertinentes par rapport à la règlementation européenne si la règle des 0,9% est remise en cause (conduisant à abaisser le seuil) et si on estime que les systèmes de culture de type « Agriculture Biologique » ou/et système de production de semence ne doivent pas contenir d'OGM. Cette position revient de fait à interdire tout OGM, car plusieurs auteurs ont montré qu'il était impossible de garantir, actuellement, le zéro contamination sur des cultures mêmes très éloignées des parcelles OGM.

Bannert M & P. Stamp (2007). Cross-pollination of maize at long distance. European Journal of Agronomy, 27, 1, July 2007, 44-51

Hüsken A, Ammann K, Messeguer J, Papa R, Robson P, Schiemann J, Squire G, Stamp P, Sweet J, & R Wilhelm (2007). A major European synthesis of data on pollen and seed mediated gene flow in maize in the SIGMEA project, Proceedings of the third international conference about coexistence GMCC07, Seville, 20-21 November 2007, 53-56

Messéan A & F Angevin (2007). Coexistence measures for maize cultivation: lessons from gene flow and modelling studies. Proceedings of the third international conference about coexistence GMCC07, Seville, 20-21 November 2007, 23-26

On pourrait imaginer l'alternative suivante : un système d'assurance qui serait un nouveau marché pour les assureurs ou un fonds national. Les assureurs exigeront de disposer des décrets de la future loi dont les modalités d'application sont précisées en Conseil d'État pour pouvoir évaluer précisément le risque de dissémination et la portée concrète du régime de responsabilité. Le fonds national serait abondé par tout exploitant et par des contributions versées par les organismes professionnels et interprofessionnels concernés par l'obtention, la production ou la vente de semences, plantes ou plants génétiquement modifiés. Ce fonds privé d'indemnisation serait géré par l'Office national interprofessionnel des grandes cultures. L'article L. 662-8 du précédent projet de loi relatif aux OGM (adopté par le Sénat et transmis à l'Assemblée nationale le 6 avril 2006, N° 2980) prévoit 50 euros/ha de culture de la variété génétiquement modifiée. L'article 5 du projet de loi (déposé le 19 décembre 2007, N°149, et discuté les 5-6-7 février 2008) instaure lui un régime de responsabilité de plein droit pour le préjudice économique qui pourrait résulter de la présence accidentelle d'OGM dans des cultures conventionnelles et biologiques (art. L. 663-10 du Code rural). L'exploitant, mais aussi le distributeur, le détenteur de l'autorisation de mise sur le marché et le détenteur d'un certificat d'obtention végétale, restent responsables, dans les conditions de droit commun, de tout préjudice (art. L. 663-11 du Code rural). Tout exploitant agricole mettant en culture une variété génétiquement modifiée autorisée à la mise sur le marché devrait alors souscrire une garantie financière couvrant sa responsabilité.

Mais si le but est de modifier le taux des 0,9%, il faut alors revoir toutes les règles de production agricole. Par exemple les règles de l'agriculture biologique ('AB') doivent être changées. Actuellement dans son cahier des charges, ce système de culture a une obligation de moyens

mais pas de résultats c'est-à-dire que **l'agriculture biologique est définie comme « méthode de production» plutôt que comme une garantie sur le produit final**. En conséquence, les produits 'AB' ne sont pas définis ou certifiés comme exempts de toute pollution involontaire. De même que les producteurs 'AB' ne peuvent pas garantir le zéro de contamination par des pesticides qu'ils n'ont pas eux-mêmes utilisés, ils n'ont aucun moyen de garantir que les produits 'AB' ne seront pas pollués par des traces d'OGM. **La proposition du 0% de OGM introduit dans le cahier des charges une obligation de résultats,** dès lors on ne voit pas pourquoi il n'y aurait pas une obligation de résultats **avec les pesticides** (qui nuisent à la santé humaine et sont nocifs pour l'environnement). Le cahier des charges de l''AB' serait alors de produire non pas seulement sans pesticides de synthèse mais aussi de vendre des produits indemnes de pesticides. On voit dès lors l'impasse dans laquelle se trouve l'ensemble du système de production agricole.

En conclusion : La dispersion à grande distance du pollen de maïs MON810 ne pose pas de problème écologique en Europe, en revanche sa dispersion pose une question d'acceptation de règles de coexistence entre différents systèmes de culture. Jusqu'à maintenant les règles établies permettent à chacun de choisir son système de production, soit en établissant des règles de production et en n'exigeant pas des résultats, soit en donnant des limites de présence fortuite acceptables à tout un chacun.

1-2 Dissémination de la transprotéine

L'Avis du CPHA cite de façon erronée l'article de Icoz & Stotzky (2007) pour indiquer la présence de toxine Bt dans le sol. Mais,

- **cet article se rapporte à Cry3Bb1 qui n'a rien à voir avec MON810**,
- la conclusion du résumé de cet article est « These results indicate that the Cry3Bb1 protein does not persist or accumulate in soil and is degraded rapidly. »

> Icoz I & G Stotzky (2007). Cry3Bb1 protein from *Bacillus thuringiensis* in root exudates and biomass of transgenic corn does not persist in soil. Transgenic Research, 13 Sept. 2007 on line first

D'autres articles rapportent des résultats un peu différents de ceux donnés par Icoz & Stotzky (2007), et en particulier Baumgarte & Tebbe (2005) qui donnent des résultats de persistance de Cry1Ab issue de MON810 plus longue que celle indiquée par Icoz & Stotzky (2007).

> Baumgarte S & CC Tebbe (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. Molecular Ecology, 14: 2539-2551

Pour une revue relativement exhaustive de la question de la dissémination de la transprotéine, nous pouvons conseiller la lecture de l'article récent de Icoz & Stotzky (2008) :

> Icoz I & G Stotzky (2008). Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 40: 559–586

En conclusion : Tout indique que l'Avis du CPHA a été fait dans une certaine précipitation et que la demande de moratoire est basée sur des références bibliographiques inadéquates eu égard à d'autres références plus récentes qui se rapportent au MON810 et qui ne sont pas citées dans l'Avis.

2- Apparition de résistance sur les ravageurs cibles

2-1 L'Avis du CPHA cite pour ce chapitre la référence de Huang et al. (2007) comme fait nouveau**,** mais laquelle exactement ? En effet, Huang a publié en 2007 au moins 3 articles qui se rapportent à la résistance des ravageurs cibles de Cry. Sur ces 3 références, une seule se rapporte au maïs :

> Huang F, B. Rogers Leonard, DR Cook, DR Lee, DA Andow, JL Baldwin, Kelly V. Tindall & Xiaoyi Wu (2007). Frequency of alleles conferring resistance to *Bacillus thuringiensis* maize in Louisiana populations of the southwestern corn borer. Entomologia Experimentalis et Applicata, 122 (1) 53–58

Il faut espérer que c'est bien cette référence qui a été utilisée par le CPHA. Dans cette référence, les auteurs concluent : « The F2 screen indicates that Bt resistance allele frequencies in *D. grandiosella* are low among the Louisiana populations and should meet the rare resistance allele requirement of the 'high dose/refuge' strategy » . Donc, dans l'état actuel des choses et en Louisiane, la résistance peut être gérée par le système des zones refuges.
En 2003, Fox constatait déjà, qu'après plusieurs années de culture intensive de cotonier et de maïs Bt, il n'y a pas eu de sélection de souches résistantes. Bates et al. (2005) font cette même observation et ajoutent que si cette durabilité doit beaucoup à la stratégie « haute dose – zone refuge », ce n'est pas la seule qu'il faut employer. Parmi les méthodes complémentaires, il faut utiliser le fait que l'emploi des maïs Bt peut dans certaines conditions apporter une économie de traitements insecticides qui doit être mise à profit pour aider au contrôle biologique des survivants à la toxine Cry.

> Fox JL (2003). Resistance to Bt toxin is surprisingly absent from pests. Nature Biotechnology, 21 (9) 958-959

> Bates S, Zhao JZ, Roush RT & AM Shelton (2005). Insect Resistance Management in GM Crops: past, present and future. Nature Biotechnology, 23, 1: 57-62

En 2007, on n'a toujours pas observé de cas de résistance des principaux ravageurs du maïs sur les cultures Bt (Sivasupramaniam et al. 2007).

> Sivasupramaniam S, Head GP, English L, Li YJ & TT Vaughn (2007). A global approach to resistance monitoring. Journal of Invertebrate Pathology, Vol 95, Issue 3, July 2007, 224-226, Special Issue for SIP 2007

2-2 L'Avis du CPHA présente la référence de Van Rensburg (2007) comme fait nouveau. C'est évidemment un fait nouveau, mais :

- il n'a pas de rapport avec les ravageurs trouvés sur le maïs en Europe puisque cet article concerne une espèce de lépidoptère africain (le foreur africain des graminées),
- d'un point de vue scientifique, l'expérience de la résistance des insectes aux insecticides nous a enseigné : pour qu'une résistance à faible fréquence devienne problématique, il faut que cette fréquence augmente dans le temps. Or, ces données essentielles ne figurent pas dans la publication,
- l'auteur lui-même indique que c'est probablement une mauvaise application de la stratégie de la zone refuge qui est à l'origine de cette résistance.

> Van Rensburg JBJ (2007). First report of field resistance by the stem borer, *Busseola fusca* (Fuller) to Bt-transgenic maize. S. Afr. J. Plant Soil, 24(3) 147

Il semble que dans ce chapitre la publication la plus appropriée est celle de GuoPing et al. (2007). Elle montre qu'il y a une augmentation lente de la fréquence des résistants qui devrait donner des populations posant des problèmes agronomiques dans un délai établi entre 11 et 15 ans.

GuoPing L, KongMing W, Gould F, JianKang W, Jin M, XiWu G & G YuYuan (2007). Increasing tolerance to Cry1Ac cotton from cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, was confirmed in Bt cotton farming area of China. Ecological Entomology, vol. 32 (4) 366-375

En conclusion : On peut dire qu'il n'existe pas actuellement de problème pratique d'acquisition de résistance à la toxine Cry1Ab dont le gène a été introduit dans MON810. Le comble étant que les seuls ravageurs devenus résistants à une toxine Bt au champ ont été sélectionnés par des traitements conventionnels utilisant la bactérie elle-même ou la toxine isolée.

Remarque :

Si on devait assister à la sélection de souches de ravageurs résistantes à Cry1Ab, il existe déjà des solutions comme le pyramiding de gènes de résistance dans les variétés de maïs. Mais la France n'autorisant que la culture de MON810 ne permet pas de diminuer voire d'éliminer la question de la résistance des ravageurs aux transgènes.

En revanche, il semble qu'à ce niveau les experts du CPHA n'ont pas relevé un fait nouveau qui est maîtrisable à condition de savoir qu'il existe et d'enregistrer les signes précurseurs de sa présence. Ce fait nouveau, **mentionné surtout sur le cotonnier**, est l'émergence de ravageurs secondaires devenus ravageurs primaires. En effet, sur le maïs cohabitent des ravageurs primaires (surtout des lépidoptères) et des ravageurs secondaires (aphides, etc.). Dans le cas du maïs non-Bt on traite pour se débarrasser des ravageurs primaires et ces traitements servent souvent à limiter les populations de ravageurs secondaires. Sur le cotonnier Bt, on n'effectue pas de traitements contre les ravageurs primaires, du coup les ravageurs secondaires se trouvent dans une niche écologique sans ravageurs primaire et pratiquement sans pesticides en conséquence, ils peuvent se développer et occasionner des dégâts importants. La solution la moins bonne est de traiter les plantes transgéniques génétiquement modifiées résistantes aux insectes (GMO-IR) pour supprimer ces ravageurs secondaires devenus primaires, la solution la plus pertinente étant d'intégrer les GMO-IR dans un programme de protection intégrée voire de lutte biologique en attendant d'obtenir des variétés résistantes à ces espèces.

Hellmich RL, Calvin DD, Russo JM, & LC Lewis (2005). Integration of Bt Maize in IPM Systems: a U.S. Perspective. In: Proceedings of the Second International Symposium on Biological Control of Arthropods, September 12-16, 2005, Davos, Switzerland. 1: 356-361

Wang SJD, Pinstrup-Andersen P & HE Babcock (2006). Tarnishing Silver Bullets: Bt Technology Adoption, Bounded Rationality and the Outbreak of Secondary Pest Infestations in China. Selected Paper prepared for presentation at the American Agricultural Economics Association Annual Meeting Long Beach, CA, July 22-26, 2006

3 – Effets sur la faune non cible

Au total, 1068 articles ont été publiés entre 2000 et 2007 sur les impacts biologiques des cultures OGM sur les organismes non cibles des transgènes :

2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
57	77	93	121	121	142	216	160

Parmi ces publications, 208 contiennent le mot « corn » dans le titre ou dans le résumé. C'est-à-dire que les 11 références citées dans l'Avis du CPHA représentent 5% des publications recensées sur ce sujet.

On peut se demander pourquoi les membres du CPHA n'ont pas utilisé de bonnes revues sur ce sujet :

> O'Callaghan M, Glare TR, Burgess EPJ & LA Malone (2005). Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. Annual Review of Entomology, 50: 271-292
>
> Romeis J, Meissle M & F Bigler (2006). Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. Nature Biotechnology, 24: 63-71
>
> Sanvido O, Romeis J & F Bigler (2007). Ecological Impacts of Genetically Modified Crop: Ten Years of Field Research and Commercial Cultivation. Adv Biochem Engin/Biotechnol, 107: 235–278

Et, en particulier, celle de 2007 de Zhi et al. qui indiquent que les seuls impacts relevés se trouvent chez les parasitoïdes des ravageurs cibles de Cry du fait que ces parasitoïdes n'ont plus assez de nourriture pour se développer.

> Lan Zhi, Bai ShuXiong, Zhao JianZhou, Wang ZhenYing, Wu KongMing (2007). Progress in ecological biosafety of insect-resistant transgenic cotton and corn in relation to arthropods. Acta Entomologica Sinica, vol. 50 (7)727-736

L'Avis du CPHA ne fait aucune mention des bases de données portant sur l'impact des OGM sur les organismes non cibles - http://delphi.nceas.ucsb.edu/btcrops du NCEAS [(National Center for Ecological Analysis and Synthesis) qui est un Centre de Recherche de l'Université de Santa Barbara (California)]. Les experts du CPHA les ont-ils consultées ?

L'Avis du CPHA indique les faits suivants comme « *faits nouveaux* », mais dans quelle mesure peuvent-ils être inquiétants comme indiqués par le président du CPHA devant les media ? Nous essayons de faire une méta-analyse ci-dessous en reprenant les 9 références citées dans l'Avis :

3-1 « *des faits nouveaux confirment la possibilité d'effets toxiques avérés à long terme sur les lombrics (Zwalhen et al. 2003)* »

> Zwahlen C, Hilbeck A, Gugerli P & W Nentwig (2003). Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. Molecular Ecology, Vol 12, Issue 3, 765-775

Cette publication ne porte pas sur le maïs Bt MON810 mais sur N4640Bt (Syngenta). Une étude de 200 jours maximum est considérée comme du long terme par le CPHA. Les conditions expérimentales sont inadéquates puisqu'il s'agit de lombrics enfermés dans des sacs et mis

pendant 200 jours en laboratoire ou au champ. Les auteurs trouvent une différence de poids au bout de 200 jours entre animaux conservés en laboratoire et nourris au maïs Bt ou non Bt, en revanche, ils ne trouvent aucune différence entre animaux conservés au champ et nourris avec maïs Bt ou non Bt. Ces résultats doivent être comparés avec ceux de Krogh et al. (2007) qui montrent que les méthodes de culture (labour, non labour, etc.) ont plus d'effets sur les lombrics que la comparaison MON810 et maïs nonBt isogénique.

Krogh PH, Griffiths B, Demsar D, Bohanec M, Debeljak M, Andersen MN, Sausse C, Birch ANE, Caul S, Holmstrup M, Heckmann LH & J Cortet (2007). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. Pedobiologia, 51(3) 219-227 [Special issue: ECOGEN, Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops.]

Pour une lecture plus approfondie, se référer à :

Kuntz M & E Matthys-Rochon (2008). Effet sur la mortalité et le poids des vers. http://agribiotech.free.fr/joudrier.htm

Kuntz M (2008). Examen de la partie Effets sur la faune non-cible du projet d'Avis rendu par le Comité de Préfiguration de la Haute Autorité sur les OGM. http://agribiotech.free.fr/joudrier.htm

3-2 « ***des faits nouveaux confirment la possibilité d'effets toxiques avérés à long terme sur les isopodes, les nématodes et sur les monarques (rhopalocères) (Hardwood et al. 2005, Prasifka et al. 2007 ; Dutton et al. 2005)*** »

Harwood JD, Wallin WG & JJ Obrycki (2005). Uptake of Bt endotoxins by non target herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. Molecular Ecology 14 (9) 2815-2823

Prasifka PL, Hellmich RL, Prasifka JR, & LC Lewis (2007). Effects of Cry1Ab-expressing corn anthers on the movement of monarch butterfly larvae. Environmental Entomology, 36(1) 228-233 (6)

Dutton A, J Romeis & F Bigler (2005). Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 114: 161–169

- Hardwood et al. (2005) montrent que des arthropodes non cibles de Bt contiennent de la toxine Bt du fait qu'ils peuvent se nourrir de OGM Bt. En revanche, ils n'indiquent pas les effets de cette toxine sur ces organismes.

  Pour compléter les informations du CPHA, on peut citer les publications suivantes en se limitant à l'année 2007 :

  - Leslie TW, Hoheisel GA, Biddinger DJ, Rohr JR & SJ Fleischer (2007). Transgenes Sustain Epigeal Insect Biodiversity in Diversified Vegetable Farm Systems. Environmental Entomology, 36(1) 234 - 244

  Cette publication rapporte une étude de deux ans qui montre que le maïs Bt n'a aucun impact sur les aspects qualitatifs et quantitatifs de la diversité de l'entomofaune par rapport à des variétés non Bt. Par contre, il est clairement établi que les changements de cultures dans les rotations ont un effet important sur la composition qualitative et quantitative de l'entomofaune.

  - Robyn R & GP Dively (2007). Effects of Insecticide-Treated and Lepidopteran-Active Bt Transgenic Sweet Corn on the Abundance and Diversity of Arthropods. Environmental Entomology, 36(5), October 2007, 1254-1268

  Ces auteurs montrent, sur un suivi de deux ans en terrain expérimental, que le maïs transgénique et le maïs non transgénique présentent des communautés d'arthropodes

identiques. De même le maïs Bt n'a pas d'effet significatif sur les densités de population des ravageurs non cibles, de décomposeurs et d'auxiliaires.

- Toschki A, Hothorn LA & M Roß-Nickoll (2007). Effects of Cultivation of Genetically Modified Bt Maize on Epigeic Arthropods (Araneae; Carabidae). Environmental Entomology, 36(4) August 2007, 967-981

Ces auteurs ont comparé l'évolution des individus de 81 espèces d'arthropodes (arachnides et carabidés) pendant trois ans. Ils montrent que ces communautés ont des compositions qualitatives et quantitatives identiques chez le maïs Bt (MON810) et non Bt. Ils montrent également que les traitements insecticides modifient très fortement ces communautés.

Vu les résultats des publications citées par notre méta-analyse, la publication utilisée dans l'Avis du CPHA ne justifie en rien une demande de moratoire. Cependant, elle ouvre d'intéressantes voies de recherche sur la méthodologie d'évaluation de l'effet des OGM sur les organismes non cibles (voir commentaires de l'article de Obrist et al. (2006) (Point 3-4)).

- Prasifka et al. (2007) montrent que les larves de papillon monarque en présence d'anthères Bt ont des comportements différents des larves en présence d'anthères de maïs non Bt ou élevés sans anthères. Ces différences de comportement résultent dans une diminution de poids et une absence de prise de nourriture par les larves élevées sur milieu avec anthères Bt. Les auteurs eux-mêmes indiquent que cette situation en laboratoire n'est probablement pas la même dans la nature où les larves de monarque qui se trouvent (par hasard) en présence d'anthères de maïs Bt peuvent se déplacer sur la même feuille de « milkweed » (espèces du genre *Asclepias*) ou sur une autre feuille pour trouver un endroit plus appétant, ce que les larves testées dans la publication ne peuvent pas faire.

Nous ne voyons pas en quoi cette publication justifie une demande de moratoire puisqu'elle fait état d'une situation non conforme à la réalité.

- Dutton et al. (2005) ne montrent aucun fait nouveau puisqu'ils indiquent eux même que la toxicité de Cry1Ab était connue sur *Spodoptera exigua* (Lynch et al. 1999 ; Keller et al. 1996) et celle de Cry1Ac sur *S. frugiperda* (Berdegué, Tumble & Moar, 1996). Les travaux de Dutton et al. (2005) ont consisté à quantifier la toxicité de Cry1Ab sur *S. littoralis*.

Lynch RE, Wiseman BR, Sumner HR, Plaisted D & D Warnick (1999). Management of corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) injury on a sweet corn hybrid expressing a cry1A(b) gene. Journal of Economic Entomology, 92: 1217–1222

Keller M, Baruch S, Strizhov N, Prudovsky E, Regev A, Koncz C, Schell J & A Zilberstein (1996). Digestion of δ-endotoxin by gut proteases may explain reduced sensitivity of advanced instar of *Spodoptera littoralis* to Cry1C. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 26: 365–373

Berdegué M, Tumble JT & Moar WJ, 1996. Effects of Cry1C toxin from *Bacillus thuringiensis* on larval feeding behavior of *Spodoptera exigua*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 80: 389–401

Là encore, nous ne voyons pas en quoi ces résultats connus de longue date devraient faire réviser l'autorisation de culture du maïs Bt.

3-3 *« L'exposition sur les populations naturelles de monarque reste très limitée (moins de 1%), notamment pour ces derniers via des effets comportementaux dommageables (Marvier et al. 2007). »*

> Marvier M, McCreedy C, Regetz J & P Kareiva (2007). A Meta-Analysis of Effects of Bt Cotton and Maize on Nontarget Invertebrates. Science, 8 June, 316(5830) 1475– 1477

La forme : l'article cité dans l'Avis (Marvier et al. 2007) **ne concerne pas du tout le monarque**. **Le CPHA a confondu avec l'article de Prasifka et al.** (2007). Le fond : voir ci-dessus notre commentaire sur la publication de Prasifka et al. 2007 (Point 2).

3-4 « *Des publications démontrent la présence possible de la toxine Bt dans la chaine trophique (Obrist et al. 2006). »*

> Obrist LB, A. Dutton, R. Albajes & F Bigler (2006). Exposure of arthropod predators to Cry1Ab toxin in Bt maize fields. Ecological Entomology, 31(2) 143-154

Tout d'abord, cet article concerne le maïs Bt Event 176 et non MON810. Cet article ouvre une piste de recherche intéressante dans la méthodologie d'étude de l'impact des transprotéine sur les organismes non cibles. En effet la méthode proposée classiquement pour évaluer l'impact biologique des OGM dite méthode « à 3 étages » consiste à évaluer les effets en laboratoire d'une transprotéine et à poursuivre les recherches d'exposition sur le terrain pour les organismes qui ont montré une sensibilité au laboratoire afin de déterminer si cette sensibilité a un sens pratique.

> Romeis J, Bartsch D, Bigler F, Candolfi MP, Gielkens MMC, Hartley SE, Hellmich RL, Huesing JE, Jepson PC, Layton R, Quemada H, Raybould A, Rose RI, Schiemann J, Sears MK, Shelton AM, Sweet J, Vaituzis Z & JD Wolt (2006). Moving Through the Tiered and Methodological Framework for Non-Target Arthropod Risk Assessment of Transgenic Insecticidal Crops. Ninth International Symposium on Biosafety of Genetically Modified Organisms Biosafety Research and Environmental Risk Assessment. Jeju Island, Korea, September 24-29, 2006

Les résultats d'Obrist et al. (2006) montrent qu'on peut aller en sens inverse et évaluer l'effet en laboratoire des quantités de transprotéines trouvées dans les organismes sur le terrain. Il existe déjà de nombreuses réponses partielles qui indiquent que sur le terrain il n'y a pas ou qu'il y a des modifications de structure de populations ou de peuplements. La méthode proposée ici pourrait permettre de savoir si les effets observés sont dus directement ou indirectement à la transprotéine, car absorption de Cry ne veut pas forcément dire toxicité comme le montrent les résultats d'ECOGEN.

> Andersen MN, Sausse C, Lacroix B, Caul S & A Messean (2007). Agricultural studies of GM maize and the field experimental infrastructure of ECOGEN. Pedobiologia, 51(3) 175-184 [Special issue: ECOGEN, Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops.]

Cet article ouvre des perspectives originales pour évaluer l'impact des transprotéines sur les organismes. Malgré cela, nous ne pensons pas que cet article puisse être utilisé pour remettre en cause la culture du MON810, en revanche il peut être utilisé pour améliorer les méthodes d'évaluation de l'impact des transprotéines sur les organismes.

<u>En conclusion</u> : l'avis du CPHA est basé soit sur des publications qui ne concerneNt pas MON810, soit sur des extrapolations aventureuses de résultats qui peuvent faire l'objet de travaux ex-post. Il nous semble que baser un mortaoire dans ces conditions est exagéré.

3-5 ***« Des publications démontrent une persistance observée des molécules insecticides dans l'eau (Douville et al. 2006 ; Rosi-Marshall et al. 2007. »***

Douville et al. (2006) référence erronée dans l'Avis, elle correspond à Douville et al. (2007) et mise en ligne le 24/02/2006 à doi:10.1016/j.ecoenv.2006.01.002

Rosi-Marshall et al. (2007)

- Douville M, Gagné F, Masson L, McKay J & C Blaise (2005). Tracking the source of Bacillus thuringiensis Cry1Ab endotoxin in the environment. Biochemical Systematics and Ecology, Vol. 33, Issue 3, March 2005, 219-232

Ces auteurs mettent au point des dosages isotopiques de transprotéines Bt pour différencier Cry1Ab provenant de traitements biologiques ou provenant de l'emploi de maïs Bt. Dans cette même publication, ils indiquent que Cry1Ab est très rare dans le milieu aquatique examiné et que, quand il est présent, c'est en quantité limite de la détection.

- Douville M, Gagne F, Blaise C & C Andre (2007). Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. Ecotoxicol Environ Saf, 2007 Feb, 66(2) 195-203

Cette publication montre que l'ADN transgénique pour Cry1Ab du maïs et l'ADN de Cry1Ab d'origine bactérienne persistent longtemps (plus de 40 jours) dans l'eau et sont détectés dans les rivières entourant les parcelles maïs Bt ou les parcelles traitées au Bt.

- Rosi-Marshall EJ, Tank JL, Royer TV, Whiles MR, Evans-White M, Chambers C, Griffiths NA, Pokelsek J & ML Stephen (2007). Toxins in transgenic crop by products may affect headwater stream ecosystems. PNAS, October 9, 2007. 104(41) 16204-16208

Ces auteurs « estiment les quantités de matériel biologique dérivées de maïs Bt dans les fossés de drainage en bordure des champs ». La sensibilité à la toxine de deux insectes aquatiques présents dans ces fossés a également été mesurée (uniquement en conditions de laboratoire). Une croissance ralentie a été observée pour l'une des espèces, sans mortalité accrue. Une mortalité accrue a été observée pour la deuxième espèce mais à des concentrations de toxines deux à trois fois plus élevées que celles constatées sur sites. Les auteurs en concluent que l'évaluation des risques pour les insectes non ciblés devrait inclure des organismes aquatiques pertinents.

<u>En conclusion</u> : Les références ci-dessus, citées par le CPHA, indiquent d'une part qu'on ne trouve que des traces de toxine Bt dans les eaux au voisinage de champs de maïs Bt (Douville et al. 2005) mais qu'on y trouve aussi de l'ADN Cry1Ab en concentration plus élevée dans les sédiments que dans l'eau. Par contre l'impact biologique n'a pas été mesuré. Bien qu'*a priori* on puisse s'interroger sur l'effet de cry en concentration à la limite de la détection et sur l'impact biologique de l'ADN fixé sur les sédiments le principe de précaution voudrait qu'on tienne compte de ces résultats pour vérifier la réalité de cet impact.

3-6 ***« Des publications démontrent une persistance des molécules insecticides dans les sédiments drainant d'une parcelle (plus de 20 à 40 jours) (Ipoz, Stotsky, 2007) »***

Citation erronée Ipoz, Stotsky (2007), elle correspond à

Icoz I & G Stotzky (2007). Cry3Bb1 protein from *Bacillus thuringiensis* in root exudates and biomass of transgenic corn does not persist in soil. Transgenic Research, Sept 13 (2007) DOI 10.1007/s11248-007-9133-8

Voir notre conclusion avec le point suivant.

3-7 « *Des publications démontrent une persistance des molécules insecticides au contact des racines et dans le sol (Saxena et Stotzky, 2005 ; Mulder et al. 2006 ; Castaldini et al. 2005)* »

> Saxena D, Flores S & G Stotzky (2002). Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events. Soil Biology & Biochemistry, 34: 133-137
>
> Mulder C, Wouterse M, Raubuch M, Roelofs W & M Rutgers (2006). Can Transgenic Maize Affect Soil Microbial Communities? PLoS Computational Biology. www.ploscompbiol.org, September 2006. Vol. 2. Issue 9. e128. 1165-1172
>
> Castaldini M, Turrini A, Sbrana C, Benedetti A, Marchionni M, Mocali S, Fabiani A, Landi S, Santomassimo F, Pietrangeli B, Nuti MP, Miclaus N & M Giovannetti (2005). Impact of Bt Corn on Rhizospheric and Soil Eubacterial Communities and on Beneficial Mycorrhizal Symbiosis in Experimental Microcosms. Applied and Environmental Microbiology, November 2005, 71(11) 6719-6729

Pour les données nouvelles des points 3-6 et 3-7 sur la rémanence des transprotéines dans le milieu, il aurait fallu ajouter les références suivantes :

- Marchetti E, Accinelli C, Talamè V & R Epifani (2007). Persistence of Cry toxins and cry genes from genetically modified plants in two agricultural soils. Agron. Sustain. Dev. 27: 231-236

Cette publication indique qu'on ne retrouve plus de transprotéine (Cry1Ab et Cry1Ac) dans le milieu six mois après la récolte du maïs.

- Wang H Ye Q, Wang W, Wu L & W Wu (2006). Cry1Ab protein from Bt transgenic rice does not residue in rhizosphere soil. Environ Pollut, Oct, 143(3): 449-55

Les auteurs montrent que quand on apporte des transprotéines Bt dans le sol en amendant avec du maïs Bt, la demie-vie de Cry1Ab dans le sol varie entre 11,5 et 34,3 jours.

- Baumgarte S & Tebbe CC (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. Molecular Ecology, 14: 2539-2551

Les auteurs montrent que la toxine de Bt peut persister au moins sept mois après la récolte, mais l'action sur la bactérioflore de cette toxine est inférieure à l'impact de facteurs du milieu (âge de la plante et hétérogénéité des parcelles).

- Herman RA, Evans SL, Shanahan DM, Mihaliak CA, Bormett GA, Young DL & J Buehrer (2006). Rapid degradation of Cry1F delta-endotoxin in soil. Environmental Entomology, 30(4) 642-644

Les auteurs mesurent la toxicité des sols dans lesquels a été ajouté du cotonnier Bt. Ces sols sont toxiques pendant 24 heures puis la toxicité disparaît.

- Dubelman S, Ayden BR, Bader BM, Brown CR, Jiang CJ, & D Vlachos (2005). Cry1Ab protein does not persist in soil after 3 years of sustained Bt-corn use. Environmental Entomology, 34: 915-921

Après trois ans de culture de maïs Bt, on ne détecte pas de Cry1Ab dans le sol en utilisant un dosage biologique (mesure de toxicité).

<u>En conclusion</u> : Il apparaît évident que la persistance de la toxine de Bt dans le sol est très variable. Ce résultat n'est pas surprenant quand on sait que ces transprotéines se fixent sur les

particules du sol et sont protégées ainsi de la dégradation microbiologique. De plus, la constante d'affinité est variable suivant la transprotéine et la constitution physico-chimique des particules (Pagel-Wieder *et al.* 2007). **Donc la rémanence dépendra fortement de la composition du sol dans laquelle la transprotéine est libérée.**

Pagel-Wieder S, Niemeyer J, Fischer WR & F Gessler (2007). Effects of physical and chemical properties of soils on adsorption of the insecticidal protein (Cry1Ab) from *Bacillus thuringiensis* at Cry1Ab protein concentrations relevant for experimental field sites. Soil Biology and Biochemistry, Volume 39, Issue 12, December 2007, 3034-3042

3-8 « *Des publications démontrent une persistance des molécules insecticides au contact des racines et dans le sol avec une exposition des populations d'insectes (Griffith et al. 2006 ; Johnson et al. 2006) plus en amont des chaînes trophiques.* »

Griffiths BS, Caul S, Thompson J, Birch ANE, Scrimgeour C, Cortet J, Foggo A, Hackett CA & PH Krogh (2006). Soil microbial and faunal community responses to Bt-maize and insecticide in two soils. Journal of Environmental Quality, 35: 734-741

Johnson PG, Larson SR, Anderton AL, Patterson JT, Cattani DJ & EK Nelson (2006). Pollen-mediated gene flow from Kentucky bluegrass under cultivated field conditions. Crop Science, 46(5) 1990-1997

Griffiths et al. (2006) indiquent qu'il y a des différences de plusieurs communautés d'organismes entre sol cultivés avec maïs Bt ou non Bt. Mais ils indiquent aussi que ces différences sont moins importantes que celles observées sur les mêmes communautés en fonction des types de sols ou des variétés de maïs indépendamment de la présence ou non du transgène. Ces résultats sont confirmés par Griffiths et al. (2007). "There were no detectable differences in the concentration of Bt protein in plant or soil with any of the Bt -expressing varieties. There were significant differences in the abundance of soil nematodes, but this was not related to the Bt trait".

Griffiths BS, H Lars-Henrik, S Caul, J Thompson, C Scrimgeour & PH Krogh (2007). Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non- Bt maize on soil microbial and nematode community structure. Plant Biotechnology Journal, 5: 60–68

- Johnson et al. (2006) : aucune publication se rapportant à l'impact biologique des plantes-Bt de cet auteur n'est trouvée dans notre base de données. La seule publication trouvée dans la base de données pouvant être valide dans ce document est la suivante mais **elle ne concerne pas l'impact biologique de la culture du maïs Bt.**

Johnson PG, Larson SR, Anderton AL, Patterson JT, Cattani DJ, Nelson EK (2006). Pollen-mediated gene flow from Kentucky bluegrass under cultivated field conditions. Crop Science, 46(5) 1990-1997

Dans un article recent, Demanèche et al. (2008) montrent que **«** In addition, no significant differences were observed in bacterial antibiotic resistance levels between transgenic and non transgenic corn fields, although the bacterial populations were different. **»**

Demanèche S, Sanguin H, Poté J, Navarro E, Bernillon D, Mavingui P, Wildi W, TM Vogel & P Simonet (2008). Antibiotic Resistant Soil Bacteria in Transgenic Plant Fields. PNAS, *in press*

<u>En conclusion</u> : Ces publications ne justifient pas scientifiquement l'interdiction du maïs MON810, car l'amplitude des modifications biologiques relevées entre plante GM et non GM est inférieure à l'amplitude des modifications biologiques dues à des changements d'espèces cultivées (rotations …).

3-9 « *Une analyse globale sur l'entomofaune non cible (Marvier et al. 2007) démontre un effet des cultures de maïs Bt sur quelques familles d'invertébrés, ses effets étant toutefois moindres que ceux liés aux traitements insecticides. Enfin, aucune preuve n'est apportée sur la toxicité directe dans l'étude de Marvier ».*

Marvier M, C McCreedy, J Regetz & P Kareiva (2007). A Meta-Analysis of Effects of Bt Cotton and Maize on Nontarget Invertebrates. Science, 8 June, 316 (5830) 1475–1477

Rappelons que cet article est une revue et une utilisation de données déjà publiées, et dans ces conditions les variations d'impact biologique des maïs Bt ne peuvent pas toujours être comparées à l'impact des variations d'origine variétale (indépendamment du transgène) ou/et pédo-climatiques.

Dans le contexte de tout ce qui précède sur l'impact des cultures OGM, il semble indispensable de dire q'il y a des résultats très intéressants qui montrent **que l'impact des plantes OGM-IR est moins important que l'impact pédo-agronomico-climatique**. On en a vu quelques exemples dans ce qui précède avec l'impact plus important des rotations culturales sur la biodiversité que l'impact des OGM. Mais il y a aussi le fait que les effets des cultures Bt par rapport aux cultures non Bt peuvent être inversés d'une année sur l'autre. Par exemple, les impacts des cultures Bt peuvent être favorables (vis-à-vis de la biodiversité) aux cultures non Bt une année et être favorables aux cultures Bt l'année suivante.

Sur le maïs :

Devare M, Londono RLM & JE Thies (2007). Neither transgenic Bt maize (MON863) nor tefluthrin insecticide adversely affect soil microbial activity or biomass: a 3-year field analysis. Soil Biology & Biochemistry, 39(8) 2038-2047

Griffiths BS, Lars-Henrik H, Caul S, Thompson J, Scrimgeour C & PH Krogh (2007). Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non- Bt maize on soil microbial and nematode community structure. Plant Biotechnology Journal, 5: 60–68

Toschki A, Hothorn LA & M Roß-Nickoll (2007). Effects of Cultivation of Genetically Modified Bt Maize on Epigeic Arthropods (Araneae; Carabidae). Environmental Entomology, 36 (4) 967-981

Duan JJ, Jiang CJ, Head GP, Bhatti MA, Ward DP, Levine SL, Nickson TE & MA Nemeth (2007). Statistical power analysis of a 2-year field study and design of experiments to evaluate non-target effects of genetically modified *Bacillius thuringiensis* corn. Ecological Entomology, 31 (5) 521-531

Eckert J, Schuphan I, Hothorn LA & A Gathmann (2006). Arthropods on maize ears for detecting impacts of Bt maize on nontarget organisms. Environmental Entomology vol. 35 (2)554-560

Bhatti MA, Duan J, Head G, Jiang C, McKee MJ, Nickson TE, Pilcher CL & CD Pilcher (2005). Field Evaluation of the Impact of Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae)-Protected Bt Corn on Ground-Dwelling Invertebrates. Environ. Entomol., 34: 1325-1335

De la Poza M, Pons X, Farinos GP, Lopez C, Ortego F, Eizaguirre M, Castanera P & R Albajes (2005). Impact of farm-scale Bt maize on abundance of predatory arthropods in Spain. Crop Protection, 24: 677-684

Sur le colza :

Schuler TH, Denholm I, Clark SJ, Stewart CN & GM Poppy (2004). Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Insect Physiology, 50: 435-443

Sur le riz :

Schoenly KG, MB Cohen, AT Barrion, W Zhang, B Gaolach & VD Viajante (2003). Effects of *Bacillus thuringiensis* on non-target herbivore and natural enemy assemblages in tropical irrigated rice. Environ. Biosafety Res., 2: 181-206

D'une part, il semble que le CPHA aurait pu donner les résultats du programme Européen ECOGEN qui dans le chapitre de l'impact biologique des plantes transgéniques ont travaillé pendant plusieurs années sur des parcelles au Danemark et en France, les auteurs « conclude that there were no soil ecological consequences for these communities associated with the use of Bt- or HT-maize in place of conventional varieties. »

Griffiths BS, S Caul, J Thompson, ANE Birch, J Cortet, MN Andersen & PH Krogh (2007). Microbial and microfaunal community structure in cropping systems with genetically modified plants. Pedobiologia, 51(3) 195-206 [Special issue: ECOGEN, Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops.]

Dans une seconde publication portant sur l'impact du maïs Bt sur les microarthropodes, les auteurs concluent que « Based on the results, it can be concluded that the effect of Bt maize on soil microarthropods was small and within the normal variation expected in conventional agricultural systems » (Cortet et al. 2007). Debeljak et al. (2007) hiérarchisent les facteurs impactant la faune du sol dans des système de maïs Bt et non Bt.

Cortet J, Griffiths BS, Bohanec M, Demsar D, Andersen MN, Caul S, Birch ANE, Pernin C, Tabone E, Vaufleury A de, Xin K & PH Krogh (2007). Evaluation of effects of transgenic Bt maize on microarthropods in a European multi-site experiment. Pedobiologia 51(3) 207-218 [Special issue: ECOGEN, Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops.]

Debeljak M, Cortet J, Demsar D, Krogh PH & S Dzeroski (2007). Hierarchical classification of environmental factors and agricultural practices affecting soil fauna under cropping systems using Bt maize. Pedobiologia, 51(3) 229-238 [Special issue: ECOGEN, Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops.]

D'autre part, il semble qu'on devrait tenir compte des résultats des programmes de recherche financés en Allemagne par le BMBF. Deux projets ont été financés "Safety research and monitoring methods for the cultivation of Bt-maize" et "Ecological impacts of insect-resistant Bt-maize on various insects and the European corn borer" dont les résultats ont été mis sur le web. En résumé :

1. Bt-maize had no negative effect on soil and plant-dwelling organisms. Butterflies were also not affected by Bt-maize (MON 810). Harmful effects were only seen after treatment with chemical control agents (insecticides): http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/32.doku.html

2. Bt-maize had no negative effects on aphids: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/17.doku.html

3. Bt-maize had no negative effects on beneficial arthropods: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/15.doku.html

4. Bt-maize had no negative effects on scents, which could attract pests or beneficial organisms: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/23.doku.html

5. Bt-maize had no negative effects on spiders: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/16.doku.html

6. Bt-maize had no negative effects on bees: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/68.doku.html

7. Bt-maize caused inconsistent effects on sciarids: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/14.doku.html

8. Bt-maize had no negative effects through accumulation of Bt protein in soil: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/21.doku.html

9. Bt-maize only had negative effects on butterflies when Bt protein was present at high concentrations in pollen (for example in Bt176 maize). This maize variety will no longer be planted in the EU as of 2007: http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/112.doku.html

<u>En conclusion</u> : Le CPHA justifie son moratoire sur des publications non pertinentes avec le sujet (MON810) ou en sélectionnant dans la publication des résultats qui sont ensuites relativisés dans les conclusions, par les auteurs de la publication. De plus, le CPHA ne tient pas compte du fait que les modifications observées entre plantes trangéniques et non transgéniques sont du même ordre que celles observées entre variétés non transgéniques ou en fonction de conditions climatiques variables, sans pour cela remettre en cause l'utilisation de ces variétés non GM.

Partie 2/ *« Le comité de préfiguration fait état de questions insuffisamment prises en compte ou nouvelles comme devant être prises en considération dans l'évaluation des impacts de tout OGM. »*

2-1 « *Caractérisation moléculaire et biochimique : la protéine produite par le transgène n'est pas identique à celle que produit le Bacille de Thuringe. Ses propriétés en termes de repliement, de modification post-traductionnelle, de biodégradabilité, de rémanence ou de spécificité, de présentation (etc.) peuvent être différentes de celles de la toxine CRY 1 AB naturelle. Seules les études à partir de maïs contenant l'événement MON 810 sont pertinentes pour évaluer la toxicité humaine et environnementale.* »

Effectivement si quelques publications utilisent des toxines isolées à partir de Bt, la majorité des publications porte sur les OGM.

« *Il serait intéressant de connaître l'interaction entre le transgène et différents fonds génétiques* »

Cette question est scientifiquement intéressante mais elle n'impacte pas la prise de décision pour l'interdiction de MON810.

« *La question de la production de peptides de séquences inattendues par le MON810 a été soulevée, ainsi que leur impact sur le développement des insectes et vertébrés, et la faiblesse du dossier d'évaluation sur ce point a été soulignée, mais il n'y pas de consensus sur ce point La question de la production éventuelle et du devenir des métabolites issus de la dégradation de la toxine Bt a également été soulevée, sans trouver de réponse.* »

Ces deux points sont scientifiquement importants mais est-ce qu'ils ne sont pas implicitement pris en compte quand on compare des plantes OGM et les lignées isogéniques non OGM, ce qui en principe est fait dans les dossiers d'homologation et dans de nombreux travaux publiés ?

En conclusion : Ce paragraphe n'impacte pas la mise en place d'un moratoire sur le maïs MON810.

2-2 « *Impact sur les insectes pollinisateurs: les études d'impact sur les abeilles doivent être faites sur des ruches en conditions normales d'exploitation, afin de prendre en compte les effets cumulatifs. Ce point n'a pas recueilli de consensus.* »

Voici quelques publications portant sur l'impact des OGM sur les abeilles :

1. EPA (2000). United States Environmental Protection Agency. 2000. Bt plant-pesticides biopesticides registration action *document.* http://www.epa.gov.oscpmont/sap/2000/october/brad3 sment.pdf
2. EPA (2001). Biopesticides registration action document – *Bacillus thuringiensis* plant-incorporated protectants. US Environmental Protection Agency, Washington DC, p 481

3. O'Callaghan M, Glare TR, Burgess EPJ & LA Malone (2005). Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. Ann Rev Entomol, 50: 271

4. Babendreier D, Kalberer NM, Romeis J, Fluri P, Mulligan E & F Bigler (2005). Influence of Bt-transgenic pollen, Bt-toxin and protease inhibitor (SBTI) ingestion on development of the hypopharyngeal glands in honeybees. Apidologie 36(4): 585-594

5. Malone LA (2004). Potential effects of GM crops on honey bee health. Bee World, 85: 29

6. Malone LA, 2002. Literature Review on Genetically Modified Plants and Bee Products. MAF Technical Paper, No: 2002/05

7. Frederick RJ (2002). Environmental implications of plants modified to contain insecticidal genes. http://cfpub1.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=51930

8. Frederick RJ (2003). Non-target and ecosystem impacts from genetically modified crops containing plant incorporated protectants (pips). http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?PrintVersion=True&deid=56547

9. Malone LA & MH Pham-Del`egue (2001). Effects of transgene products on honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus sp.*). Apidologie, 32: 287–304

10. Malone LA & MH Pham-Del`egue (2002). Using proteins to assess the potential impacts of genetically modified plants on honey bees. See Ref. 28a, 290–311

11. Pham-Delègue MH, Jouanin L & JC Sandoz (2002). Direct and indirect effects of genetically modified plants on the honey bee. Edited by Devillers J, Pham-Delègue MH *in:* Honey Bees: estimating the environmental impact of chemicals. Published by Taylor & Francis. 15, 312-326

Toutes ces publications notent une absence d'effet des OGM ou des toxines Bt de type Cry1Ab **sur ces pollinisateurs.** Les données publiées sur cette question sont peu nombreuses. **L'importance du sujet mériterait d'être traitée de façon plus exhaustive**. Il faudrait vérifier que les dossiers d'homologation ne contiennent pas des données sur ce sujet. De plus les Recherches Concertées effectuées en Allemagne et financées par des fonds publics ont conclu que « the wide-ranging investigations carried out show that toxic effects (Bt176 et MON810) on healthy bees under natural conditions can be excluded with a high degree of certainty. »

http://www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/68.doku.html

De nombreuses plantes anémophiles sont butinées par les insectes anthophiles (qui visitent les anthères) y compris les abeilles. Les abeilles domestiques récoltent souvent du pollen de maïs, nettement plus au sud de la France qu'au nord peut-être pour des raisons de disponibilité en pollen. Le butinage du maïs par les abeilles (domestiques ou autres) se traduit par une mise en suspension de ce pollen. Ceci est cependant contrebalancé par le fait que le pollen qui est mis en pelotes sur les pattes postérieures des abeilles n'est plus disponible pour la pollinisation, car il est agrégé avec du nectar ou du miel. Pour des références sur le maïs, se référer à :

Vaissière BE & SB Vinson (1994). Pollen morphology and its collection effectiveness by honey bees, Apis mellifera L. (Hymenoptera : Apidae), with special reference to upland cotton, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae). Grana, 33:128-138

Wille M, Wille H, Imdorf A & G Bühlmann (1987). The pollen types collected by honeybees (*Apis mellifera*) in Switzerland. pp. 158 in J. Eder & H. Rembold (eds.) Chemistry and biology of social insects. (abst.) Verlag Peperny, München.

<u>En conclusion</u> : Ces remarques justifient une amélioration des méthodes d'évaluation des impacts des cultures GM par des surveillances ex-post. Mais les données actuelles ne justifient pas une interdiction du maïs Bt MON810.

2-3 « *Eléments de toxicologie: pas de faits nouveaux autres que les impacts toxiques relevés ci-dessus, mais une large majorité de participants a souligné l'insuffisance du test à 90 jours, dont la puissance est insuffisante. En effet, la méthodologie utilisée (validée par l'OCDE) sur les rats ne permet pas de conclure sur l'absence ou la présence de différence significative entre les groupes test et témoins, et sur l'interprétation biologique des différences observées (Lavielle, 2007). Une réflexion sur le protocole doit être menée. Le comité juge donc nécessaire la mise en place d'études menées sur du long terme, sur des fonds génétiques adaptés, sur d'autres espèces, et surtout, sur des échantillons plus grands. Le comité a souligné l'absence d'évaluation des effets endocriniens, tératogènes, et transgénérationnels* ».

La référence (Lavielle, 2007) citée dans l'Avis du CPHA n'existe pas dans notre base de données. Cette référence correspond à deux documents de travail que l'auteur Marc Lavielle membre du CPHA a bien voulu nous transmettre :

Maïs MON863. Analyse statistique des courbes d'évolution du poids.

Remarques sur les analyses statistiques effectuées au sujet du maïs MON810.

En conclusion : Notre base de données bibliographiques ne prend pas en compte ce genre d'articles. Cependant, la base de ICGEB Biosafety WebPages indique qu'il existe au total 1022 articles portant sur les OGM et la santé humaine depuis 2000 selon cette répartition :

2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
99	174	195	179	143	99	79	54

Pour une lecture plus approfondie, se référer à :

Maurel P (2008). Mycotoxines et maïs Bt MON810. http://agribiotech.free.fr/joudrier.htm

Regnault-Roger C (2008). Incidence au champ du maïs Bt sur les teneurs en mycotoxines mesurées en Midi-Pyrénées au cours de la campagne 2005. http://agribiotech.free.fr/joudrier.htm

2-4 « *Effets biologiques et microbiologiques : les effets biologiques et microbiologiques de la dissémination ou de la persistance observée des molécules Bt ou du transgène dans le sol (plus de 200 jours) (Crecchi, Stotzky, 2001) sont à examiner.* »

Crecchio C & G Stotzky (2001). Biodegradation and insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound on complexes of montmorillonite-humic acids-Al hydroxypolymers. Soil Biol. Biochem, 33: 573-581

Il existe de nombreuses données sur les effets biologiques et microbiologiques des maïs Bt (voir pour une revue : Icoz & Stotzky 2008). Dans la plupart des cas, on ne peut comparer que les aspects dénombrements de l'ensemble ou de grandes classes fonctionnelles, mais on est incapable de dire quel est l'impact sur le fonctionnement des écosystèmes parce qu'on ne connaît pas la part de chacun des organismes dans le fonctionnement des écosystèmes.

Icoz I & G Stotzky (2008). Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 40 : 559–586 Review

<u>En conclusion :</u> Selon nous, il est plus utile de développer cet aspect de l'écologie fondamentale et appliquée plutôt que d'accumuler des données chiffrées qui sont le plus souvent plus fortement sous la dépendance des conditions environnementales (année de culture, climat, rotations culturales, etc.) que sous celles de la culture de maïs Bt ou non Bt.

2-5 **«** *<u>Eléments épidémiologiques</u> : Le comité souligne l'importance de mettre en place des études épidémiologiques. Il constate que l'expérience des pays fortement consommateurs d'OGM ne peut être exploitée à ce titre du fait qu'aucune étude épidémiologique n'y est conduite et du fait d'un manque de traçabilité* **».**

La base ICGEB révèle que parmi les 1022 articles portant sur la santé humaine, 11 concernent l'épidémiologie mais pas explicitement celui du maïs.

<u>En conclusion :</u> Il serait pertinent d'étudier les articles concernant explicitement le maïs.

2-6 « *<u>Eléments économiques</u> : les informations disponibles ne concernent que la dimension micro-économique (pour l'exploitation) et semblent montrer en France une incidence positive sur les marges à l'hectare, à partir d'un taux d'infestation de 0,3 larve / tige (c'est à dire potentiellement en moyenne pour 600 à 700 000 ha de maïs grain), s'élevant de 40 à 110 € / ha, par rapport à des cultures conventionnelles. De plus, des observations de terrain font état d'avantages en termes de commodité d'utilisation (récolte plus tardive, économie de coûts de séchage). Cependant, d'importants facteurs de variation (climatiques, parasitaires) rendent l'analyse difficile à ce niveau. Le différentiel potentiel de prix entre le produit OGM et le produit conventionnel n'a de plus pas été pris en compte.*
L'incidence économique des contaminations sur les filières conventionnelles, spécifiques ou biologiques a été soulevée, sans trouver de réponse dans la littérature économique. Il en est de même pour les coûts liés à la coexistence (isolement, analyse, transport, ségrégation des lots, externalités économiques et écologiques), des études étant actuellement en cours. Les effets économiques plus globaux (…) ne sont pas pris en compte, car ils ne sont pas spécifiques du MON 810 mais ils devraient être pris en compte par la Haute Autorité. D'une façon générale, le comité note l'insuffisance d'analyse économique au niveau de l'exploitation, des filières et du marché international **».**

L'analyse de cet avis relève de compétences en économie. Notre base de données bibliographiques ne tient pas compte de références en micro- et macroéconomie.

2-7 **«** *<u>Biovigilance</u> : le comité souligne l'importance d'un suivi en temps réel et sur du long terme des effets des cultures de plein champ du MON 810 sur la faune, la flore, la fonge, les écosystèmes, dans le cadre d'un programme de biovigilance.* **»**

Il faudra trouver les chercheurs pour le faire et en particulier sur le MON810 qui sera probablement remplacé avant le long terme.

2-8 **«** *<u>Usage des pesticides</u> : la quantification de la modification des pesticides liée à l'utilisation du MON 810 doit être davantage étudiée.* **»**

Dans notre base de données bibliographiques entre 2000 et février 2008, sont recensées 695 références portant sur l'impact des cultures transgéniques sur les quantités de pesticides utilisées. **Toutes ces publications indiquent que les plantes génétiquement modifiées résistantes aux insectes permettent d'économiser les traitements effectués contre les insectes cibles des transprotéines**. En ce qui concerne les maïs Bt, il y a 109 références portant sur l'impact de l'utilisation du maïs Bt sur l'emploi des insecticides. En France, on devrait expérimenter pour avoir une évaluation précise de l'impact des maïs Bt sur l'utilisation des pesticides. Une revue récente de cette question a été faite montrant que **l'emploi de plantes transgéniques est associé à une réduction de matière active par rapport aux plantes non transgéniques** (Kleter et al. 2007).

Kleter GA, Raj Bhula, Bodnaruk K, Carazo E, Felsot AS, Harris CA, Katayama A, Kuiper HA, Racke KD, Rubin B, Shevah Y, Stephenson GR, Tanaka K, Unsworth J, Wauchope RD & S Wong (2007). Altered pesticide use on transgenic crops and the associated general impact from an environmental perspective. Pest Management Science, 63(11) 1107-1115

<u>En conclusion :</u> Il est clair d'après les publications que nous citons, l'économie de pesticides est significative à partir du moment où la pression des ravageurs est importante.

2-9 « *Analyse des conditions économiques, sociologiques et politiques d'organisation de la coexistence entre agricultures biologiques, conventionnelles, OGM et autres.* »

L'analyse de cet avis relève de l'économie, discipline que notre base de données bibliographiques ne tient pas en compte.

Partie 3/ *« Du fait de ces éléments, le comité de préfiguration est d'avis que :*

- *les faits nouveaux suivants sont apparus depuis 1998 :*
  - *Caractérisation de la dissémination à longue distance ;*
  - *Identification de résistance chez certains ravageurs cibles secondaires ;*
  - *Eléments nouveaux sur les effets sur la faune et la flore non-cible*
  - *Réduction de la production de mycotoxines*
- *En outre, les aspects suivants doivent être approfondis ou étudiés :*
  - *Caractérisation moléculaires et biochimique*
  - *Méthodologie des études toxicologiques et écotoxicologiques*
  - *Dispositif de surveillance épidémiologique*
  - *Dispositif de surveillance biologique*
  - *Analyse économique au niveau des exploitations et des filières et prise en charge des externalités*

Ces faits et questions représentent des interrogations quant aux conséquences environnementales, sanitaires et économiques possibles de la culture et de la commercialisation du MON 810. »

D'après ce qui a été démontré ci-dessus dans notre méta-analyse, ces questionnements ont reçu beaucoup de réponses dès lors qu'on effectue une étude bibliographique sérieuse des données publiées.

<u>En conclusion</u> : En tout cas, s'il est intéressant d'approfondir certaines questions, aucune de celles présentées dans l'Avis ne justifie une suspension de la culture du MON810 d'après les arguments apportés du CPHA.

Conclusion

La demande de suspension de la culture du maïs MON810 est basée sur des références bibliographiques inadéquates eu égard à d'autres plus récentes qui se rapportent au MON810 et qui ne sont pas citées dans l'Avis.

Aucune de celles présentées dans l'Avis ne justifie sur la base de preuves scientifiques (évidences factuelles) une suspension de la culture du MON810 d'après les arguments apportés par la Haute Autorité. Ainsi au sujet de la dissémination du pollen, l'Avis est basé sur 5 publications pour justifier un moratoire d'un maïs (soit moins de 3% des références portant sur ce sujet). Les 11 références citées dans l'Avis sur la faune non-cible représentent 0,5% des publications recensées sur ce sujet. Certaines publications citées dans l'Avis font état d'une situation non conforme à la réalité.

On constate que les faits nouveaux avancés par le CPHA pour justifier la suspension de la culture du maïs MON810 trouvent une explication et souvent une relativisation dans une analyse des données déjà publiées. Mais pour trouver ces dernières, il faut dépouiller sérieusement une base de plus de 7000 publications sur les OGM.

Les données nouvelles, qui pourraient être utilisées pour la justifier, ne sont utilisables qu'à condition de modifier les règlements instaurés par la UE, ce qui remet en cause les cahiers des charges des autres systèmes de culture.

Enfin, il faut faire remarquer que le moratoire sur le Mon 810 aura comme effet :

- d'augmenter l'emploi des pesticides destinés à maîtriser les ravageurs lépidoptères du maïs et par contre coup de favoriser les accidents de travail dus aux insecticides et d'augmenter l'impact environnemental négatif de l'agriculture.
- de contraindre les agriculteurs à augmenter le nombre de traitements insecticides avec les conséquences sur la consommation de fuel et son impact sur les gaz à effet de serre
- de favoriser la présence de mycotoxines dans le maïs.

Nous n'avons cité que les raisons les plus importantes pour lesquelles il est scientifiquement justifié de maintenir les plantes transgéniques dans l'agriculture où paradoxalement elles devraient constituer un outil important de la protection intégrée voire de l'agriculture biologique.

Pour une lecture approfondie des références bibliographiques citées dans l'avis, le lecteur peut se reporter au rapport agrémenté d'annexes réalisées par des chercheurs.[3]

[3] Joudrier P (2008). Commentaires sur l' « Avis sur la Dissémination du MON 810 sur le Territoire Français » émanant du comité de préfiguration d'une haute autorité sur les organismes génétiquement modifiés. 22/01/08 http://agribiotech.free.fr/joudrier.htm

Annexes

1- En août 1998, le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche français a autorisé la mise sur le marché de MON 810 selon la directive 90/220/CEE portant sur la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés. Cette autorisation a été attribuée après une revue détaillée, au niveau français, puis européen, de la notification C/F/95/12/02 soumise par Monsanto Europe SA.

2- Les résultats de Quist & Chapela (2001) ont été critiqués rapidement après publication, surtout au niveau technique, par plusieurs scientifiques dont un des trois membres d'expertise de la publication (Wager et al. 2002 ; Metz, Futterer, 2002 ; Kaplinski et al. 2002a,b ; Christou, 2002) et dans une correspondance dans la revue Nature assez fournie (Suarez, 2002 ; Worthy et al. 2002 ; Metz & Futterer, 2002 ; Kaplinski, 2002). Malgré une publication supplémentaire de Quist & Chapela (2002) pour justifier les résultats et répondre aux critiques, **l'éditeur de Nature a retiré la publication de Quist & Chapela de 2002 en arguant que les résultats apportés ne permettaient pas d'affirmer les conclusions de la première publication de Quist & Chapella (2001).**

Quist D & IH Chapela (2001). Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. Nature, 414(6863) 541-543

Wager R, LaFayette P & W Parrott (2001). Analyses of the data presented in "Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico" by D Quist and IH Chapela. Nature 29 November 2001 issue, 414: 541-543. http://www.agbioworld.org/biotech-info/articles/biotech-art/analysesqandc.html

Metz M & J Futterer (2002). Suspect evidence of transgenic contamination. Nature, 416: 600-601

Kaplinski N et al. (2002a). Biodiversity (Communications arising): Maize transgene results in Mexico are artifacts. Nature, 416: 601-602

Kaplinski N et al. (2002b). Conflicts around a study of Mexican crops (Kaplinski reply). Nature, 417: 897

Christou P (2002). No credible scientific evidence is presented to support claims that transgenic DNA was introgresssed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. Transgenic Research, 11: iii-v

Suarez A (2002). Letters: Conflicts around a study of Mexican crops. Nature, 417: 897

Worthy et al. (2002). Letter: Conflicts around a study of Mexican crops. Nature, 417: 897

Metz M & J Futterer (2002a). Biodiversity (Communications arising): Suspect evidence of transgenic contamination. Nature, 416: 600-601

Metz M & Futterer J (2002b). Conflicts around a study of Mexican crops (Metz and Futterer Reply). Nature, 417: 897

Quist D & IH Chapela (2002). Biodiversity (Communications arising (reply)): Suspect evidence of transgenic contamination/Maize transgene results in Mexico are artifacts. Nature, 416: 602

Depuis cette polémique, plusieurs résultats sont venus s'ajouter à ceux déjà publiés. Ortiz-Garcia et al. (2005) ont fait une enquête extrêmement poussée en 2003 et 2004 pour essayer de trouver des éléments du promoteur utilisé dans les OGM de maïs. Ils ont analysé 153 746 graines issues de 870 plantes prélevées dans 125 parcelles de maïs de 18 localités de la région d'Oaxaca (même région que celle échantillonnée par Quist & Chapella, située dans le sud du Mexique). Tous les

résultats ont été négatifs, ce qui conduit les auteurs à conclure que **des graines de maïs transgénique sont absentes ou extrêmement rares dans les parcelles de maïs de la région échantillonnée**. Les auteurs prennent la précaution d'indiquer que ces résultats ne peuvent pas être extrapolés à ceux obtenus précédemment. Ces auteurs ne parlent pas de conclusions erronées de Quist & Chapella, mais plutôt des possibilités pour que les transgènes trouvés ne se soient pas maintenus dans les variétés locales de maïs. Quoiqu'il en soit, il est probable que cette contamination, si elle a eu lieu, soit due à l'utilisation illégale de semences de maïs. De plus, ce papier montre qu'une contamination par fécondation croisée ne veut pas forcément dire pérennité du transgène dans son nouvel hôte.

Ortiz-Garcıa S, Ezcurra E, Schoel B, Acevedo F, Sobero´n J & AA Snow (2005). Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003–2004). www.pnas.org_cgi_doi_10.1073_pnas.0503356102

3- Loubet B, Fouillassier X, et al. (2003) ont montré que pour le maïs la capacité fertilisante (% des grains de pollen qui sont capables de fertiliser) diminue avec l'éloignement de la source et passe de 4-12% à 100 mètres à 2-7% à 250 mètres avec une influence importante de la température, car dans un flux d'air à 70% d'humidité, le grain de pollen survie 2 heures à 20°C et 1 heure à 30°C. De plus, **le pollen le plus léger (celui qui a la potentialité de voyager le plus loin) est le moins viable.**

Loubet B, X Fouillassier et al. (2003). Etude mécaniste du transport et du dépôt de pollen de maïs dans un paysage hétérogène. INRA Thiverval-Grignon - Rapport de fin de projet Convention INSU N° 01 CV 081

2. Le Maho‘s memorandum commissioned by the French Ministry of Ecology. Our meta-analysis of Le Maho‘s memorandum.

2.1. Abstract of our meta-analysis of Le Maho‘s report.

Jean-Baptiste Bergé and Agnès Ricroch (2 October 2008)

On 30 January 2008, the Monsanto Company published a scientific report to contest the arguments of the CPHA draft opinion (see above, page 1: ‘Provisional Committee on Genetically Modified Organisms Instituted by decree # 2007-1719 of December 5, 2007’). The French Ministry of Ecology requested Prof. Le Maho to analyze this report. Le Maho’s memorandum was published on 21 August 2008.

We performed an analysis of Le Maho’s memorandum on 2 October 2008. We used our database of 10954 publications on environmental impacts of transgenic plants cultivation including 3031 references concerning corn from which 1257 references related to insect resistance.

Most of publications indicated that the analysis of impacts of the cultivation of transgenic plants follows a case-by-case approach for both crops (soy, corn, cotton, and canola) and traits (herbicide tolerance, insect resistance). Only this procedure is scientifically validated for environment and health risk assessment. We showed that Le Maho did not distinguish between crops (corn and cotton) and traits (herbicide tolerance and insect resistance). Le Maho’s approach can not be scientifically validated. Le Maho’s memorandum therefore reveals a misunderstanding of the scientific literature and lack of expertise on GMO for an analysis of references.

Remark: In the following section the paragraphs underlined in yellow are Bergé and Ricroch’s comments.

2.2. Analyse critique du rapport de Monsieur Y. Le Maho.

Jean-Baptiste Bergé et Agnès Ricroch (2 octobre 2008)

Argumentaire

L'Avis rendu le 9 janvier 2008 par le Comité de Préfiguration de la Haute Autorité (CPHA) sur les OGM a été validé point à point par l'ensemble des membres présents. Ces derniers comprenaient des scientifiques de toutes disciplines, des représentants des agriculteurs, des consommateurs, des semenciers, des usagers du système de santé, des associations environnementalistes, des représentants des Maires de France, des Départements de France, des Régions de France, du Sénat et de l'Assemblée Nationale.

Par sa composition, le Comité de Préfiguration de la Haute Autorité (ci-après dénommé « le CPHA») a entraîné un élargissement des problématiques traitées par rapport à des comités d'experts en général davantage centrés sur leurs seules disciplines. Cet élargissement répondant au besoin de prendre en compte également les impacts économiques, éthiques et sociaux des OGM Sa composition ne rend pas le CPHA moins compétent au plan scientifique que la CGB à laquelle l'entreprise Monsanto (ci-après dénommée « l'entreprise ») fait référence à plusieurs reprises dans son analyse comme argument d'autorité, dans la mesure où les mêmes disciplines scientifiques y sont représentées.

Par ailleurs, par rapport aux affirmations peu nuancées de l'entreprise, le CPHA a émis un Avis soulevant de multiples interrogations. Toutes subsistent, comme par exemple sur l'effet des plantes transgéniques sur les lombrics, et sur la faune du sol en général. Pour ce qui concerne les tests de comparaison en champs des densités des insectes dans les champs de maïs Bt versus non Bt, la difficulté permanente reste le raccourci systématique selon lequel l'absence d'effet significatif mis en évidence est interprétée comme une absence d'effet, en ne discutant que rarement de la puissance des tests réalisés.

Le CPHA n'a pas par ailleurs remis en cause le fait que les maïs Bt aient eu un impact moindre que les insecticides sur l'environnement : l'Avis cite d'ailleurs la référence de Marvier et al. 2007. Mais s'il est vrai que les quantités d'insecticides utilisés ont initialement été réduites (si l'on ne tient pas compte de la toxine insecticide Bt produite par la plante, qui reste à mieux quantifier), plusieurs sources émanant de différents pays (USDA, INTA) ou d'études menées sur divers continents (Chine, Inde -Qayum (2005) (1) C'est sur le coton ; 2) c'est une publication non relues par des pairs)) indiquent des augmentations parfois considérables par la suite des produits chimique épandus, y compris par rapport aux quantités utilisées sur les cultures conventionnelles antérieures. Pour le maïs, l'augmentation a déjà été constatée à partir de 2002 (citer une publication svp) ; Parallèlement, les données du Ministère de l'Agriculture des Etats-Unis montrent que de 1994 à 2005, les plantes RoundUp Ready de Monsanto ont provoqué une multiplication par quinze des quantités de glyphosate utilisées (Benbrook 2001 & 2003). (1– Les plantes RoundUp ne sont pas des plantes Bt mais des plantes résistantes au glyphosate ; 2- Benbrooks indique clairement qu'il y a des économies d'insecticides avec le maïs Bt ;, ainsi écrit Benbrook CM, dans Genetically Engineered Crops and Pesticide Use in the United States: The First Nine Years. BioTech InfoNet: Technical Paper Number 7 (2004): "*GE corn, soybeans and cotton have led to a 122 million pound increase in pesticide use since 1996. While* ***Bt crops have reduced insecticide use by about 15.6 million pounds over this period,*** *HT crops have increased herbicide use 138 million pounds. Bt crops have reduced insecticide use on corn and cotton about 5 percent, while HT technology has increased herbicide use about 5 percent across the three major crops. But since so much more herbicide is used on corn, soybeans, and cotton, compared to the volume of*

insecticide applied to corn and cotton, overall pesticide use has risen about 4.1 percent on acres planted to GE varieties.").

Le CPHA a aussi relevé l'insuffisance technique et numérique des études présentées, aussi bien dans le domaine des avantages économiques annoncés que dans celui de l'innocuité affirmée des plantes transgéniques pour la santé humaine et animale.

- Par sa composition de scientifiques et de membres divers de la société civile, le CPHA a entraîné un élargissement des problématiques traitées.
- Au plan scientifique, le CPHA avait les mêmes compétences que la CGB ou l'AESA mais rassemblait en sus des experts du monde socioéconomique.
- Par son avis le CPHA a soulevé de nombreuses interrogations qui subsistent toutes encore aujourd'hui du fait des insuffisances relevées dans les études existantes.

➢ **Sur les considérations générales de l'analyse de l'entreprise :**

Le fait que la liste de références ne représente qu'une toute petite fraction de l'ensemble des travaux réalisés sur les différents sujets évoqués est simplement lié au fait que l'Avis a résumé plus d'un mois de travaux de recherche et de compilation par les membres du CPHA. Pour chaque point principal évoqué dans l'Avis, seules quelques références jugées comme les plus pertinentes avaient été retenues (Les publications qui recadrent des données dans un contexte de connaissances acquises sont aussi pertinentes que celles qui établissent des faits nouveaux surtout quand elles montrent que les impacts biologiques trouvés entre une variété Bt et une variété non Bt peuvent être inversés d'une année sur la suivante ou que ces différences sont du même ordre sinon moins importantes que celles trouvées entre variétés non GM lors des rotations de culture). Par souci de simplicité, les références avaient été simplifiées en se limitant aux noms d'auteurs et aux années. On trouvera la liste de ces références complétées en annexe. Les quelques inévitables erreurs (Est-ce responsable qu'un scientifique, expert, trouve qu'il y ait des erreurs inévitables qui ne soient pas corrigées ?) lors de la transmission de ces références par les membres du CPHA ont évidemment été corrigées.

Selon l'entreprise, c'est l'ensemble des publications depuis 1988 dont il faudrait tenir compte pour se faire une opinion sur l'existence éventuelle de risques. Cela signifie-t-il qu'en cas de résistance apparue récemment de la part d'un ravageur, il faudrait prendre en compte toutes les publications des années antérieures en les considérant comme des faits atténuant la portée des derniers résultats obtenus ? C'est oublier le caractère évolutif des processus biologiques, comme c'est évidemment le cas pour l'apparition de la résistance à une toxine produite par une plante transgénique. (Monsieur Le Maho donne un exemple qui va à l'encontre de ce qu'il veut démontrer puisqu'aucune résistance n'a été mise en évidence chez les ravageurs ciblés par le maïs Bt. De plus, la seule résistance observée n'a pour l'instant pas eu de confirmation, or on sait que la présence d'individus résistants doit être confirmée surtout quand le facteur de résistance n'est pas important (se reporter au rapport Bergé & Ricroch, 2008, voir ci-dessus section 1)).

Egalement selon l'entreprise, le CPHA aurait du réaliser une approche « structurée » de l'évaluation des risques, qui nécessite à la fois d'identifier un danger potentiel et de déterminer la probabilité qu'il se réalise. L'évaluation des risques est un processus complet qui n'est pas nécessairement intégralement mis en oeuvre par les pouvoirs publics ou les décideurs, notamment lorsqu'il s'agit de risques dont on ne connaît pas ou mal la cinétique de développement dans l'environnement, ou s'agissant de risques sanitaires lorsqu'on connaît mal l'exposition de la population ou la relation dose réponse. Se pose également la question de risques non avérés ou pour lesquels des doutes peuvent être légitimement émis ou totalement inattendus : sur ce point, l'entreprise ne semble pas tenir compte de l'expérience des pathologies

liées aux maladies à prions, comme la maladie de Creutzfeldt-Jacob (MJC) ou la maladie de la vache folle (ESB). Ces épisodes ont montré que les risques sanitaires inhérents aux nouveaux procédés agronomiques et industriels ont clairement été sous-estimés dans le passé, comme le montre la publication « Signaux précoces, leçons tardives » de l'Agence Européenne pour l'Environnement, et doivent donc être reconsidérés avec plus de sérieux. Il faut rappeler que, s'agissant d'un produit OGM soumis à autorisation en raison des risques potentiels qu'il peut présenter, c'est à l'entreprise qui met sur le marché ce produit, d'évaluer ces risques potentiels identifiés par le CPHA (quel(s) est (sont) le(s) risque(s) potentiel(s) identifiés par le CPHA ?) et de confirmer l'innocuité du produit. Le CPHA a par conséquent été parfaitement dans son rôle en exprimant ses doutes sur la capacité des études et connaissances actuelles à étayer valablement les affirmations d'innocuité que défend l'entreprise.

Le nombre limité de références de l'avis répondait à une volonté de concision mais faisait suite à un travail de synthèse de plusieurs semaines par les experts. (Pourquoi le CPHA n'a-t-il pas replacé ces données dans le contexte des connaissances théoriques et expérimentales acquises au préalable ? Surtout quand ce contexte n'infirme pas forcément les données nouvelles mais les relativise par rapport au fait que ces données nouvelles obtenues en comparant PGM et non PGM sont du même ordre que celles obtenues en comparant l'effet de variétés non PGM entre elles ou que celles obtenues en comparant les effets de rotation dans le temps, effets qui peuvent s'inverser d'une année sur l'autre ? (se reporter au rapport Bergé & Ricroch, 2008, *ibidem*).
Les connaissances et techniques biologiques évoluant en permanence les résultats scientifiques récents ne peuvent pas être réfutés seulement sur le fait qu'ils divergent de résultats antérieurs (mais il ne faut pas les isoler du contexte scientifique connu (voir commentaire précédent)).
La mauvaise connaissance de la cinétique de développement des risques liés aux OGM ainsi que l'éventualité de risques non avérés ou inattendus, ne permettent pas d'en réaliser une évaluation correcte (les risques non avérés ou inattendus existent dans tous les domaines, alors faut-il arrêter toute innovation ? Un des moyens de se prémunir est le suivi ex-post, pour l'instant ce suivi montre que le maïs Bt bien que cultivé sur des millions d'Ha n'a pas eu d'effets non avérés ou inattendus, bien au contraire il a évité de nombreux empoisonnements dus à une diminution de l'utilisation des insecticides).
Les arguments généraux avancés par la Société Monsanto ne permettent donc pas de réfuter le travail du CPHA, qui souligne en particulier le manque de connaissances sur les risques potentiels liés aux OGM.

I. Le comité de préfiguration a souligné la publication de plusieurs faits scientifiques nouveaux qui concernent l'impact du MON 810 sur l'environnement, la santé humaine, l'économie et l'agronomie.

- **Sur la dissémination :**

L'Avis du CPHA fait bien état de résultats nouveaux sur la dissémination du pollen de maïs MON 810 à des distances kilométriques et sur la réalité d'une pollinisation croisée à longue distance des champs de maïs transgéniques.

En effet, on compte plus de 1500 publications scientifiques depuis 1998 sur la dissémination du transgène de maïs et les problèmes de coexistence entre cultures transgéniques ou non. Les travaux montrent à la fois la grande variabilité de la dispersion et le fait qu'elle peut survenir sur de très grandes distances (plus de 50 km par exemple), notamment lorsque des cours d'eau traversent des champs de culture transgénique (Klein et al., 2003, Rosi-Marshall et al., 2007, Brunet 2006, Quist et Capella, 2001) (Les publications citées ne font aucunement mention de cours d'eaux). Or la production de semences de maïs est particulièrement sensible à la pollinisation croisée (Messéan et al. (2006)). Il a été avancé que la plupart des variétés de maïs

cultivées sont des hybrides et qu'elles sont produites dans des champs où la quantité de pollen émise est sensiblement plus faible que dans les productions de graines. En moyenne, du fait des plantes castrées et stériles, seule une plante sur trois dans un champ de production de semences émet du pollen. Les plantes femelles sont par ailleurs plus sensibles au pollen extérieur du fait qu'elles sont séparées des plantes mâles. Enfin, l'hybride commercialisé produit plus de pollen (de 9.6 à 11.3 millions de grains par plante ; Uribelarrea et al., 2002) que les lignées parentales de l'hybride (0,5 à 3 millions de grains par plante ; Fonseca et al., 2003) (Cette problématique est vraie pour la cohabitation entre production de semences et toutes les variétés cultivées, qu'elles soient PGM ou non).

Il faut également tenir compte de la dissémination de pollen génétiquement modifié par les insectes pollinisateurs. Comme cela a par exemple été constaté par huissier en France et rapporté au tribunal, un tel pollen a ainsi été trouvé en proportion importante (environ 40%) dans des ruches situées à plus d'un kilomètre d'un champ de maïs MON 810 (Chambre d'Agriculture d'Agen, 2006, et atelier OGM Grenelle 2007) (Rappelons que le maïs est une espèce à pollinisation anémophile et que si les abeilles butinent sur les fleurs mâles de maïs, elles ne sont aucunement attirées par les fleurs femelles qui ne sont pas nectarifères donc n'interviennent pas dans l'hybridation croisée entre maïs GM et non GM).

En fait, l'entreprise ne semble pas avoir pris en compte l'échelle européenne des territoires, très différente de celle du continent Nord américain. Or, l'interaction entre MON810 et les agrosystèmes environnants serait évidemment beaucoup plus prégnante à l'échelle européenne où les exploitations agricoles sont de petite taille et plus diversifiées (Knols et Dicke, 2003).

Du fait de la plus grande diversité biogéographique, MON810 est également susceptible d'avoir des impacts écologiques très différents (Lang et al., 2007). Or, comme le recommande expressément le Protocole de Carthagène sur la biosécurité, les études de risques doivent prendre en compte cette échelle biogéographique régionale.

Enfin, du point de vue des filières telles que celles de l'agriculture biologique ou des usages spécifiques comme la semoulerie, la coexistence à l'échelle locale est « techniquement impossible » et « en cas de très grande densité de maïs, la séparation géographique entre cultures OGM et cultures conventionnelles apparaît donc être la solution techniquement et économiquement raisonnable » (Messéan et al., 2006). Cependant, même dans ce cas, la présence fréquente (17 à 46% des lots) de graines génétiquement modifiées non désirées dans les livraisons de semences de maïs conventionnel venant de pays tiers, même doté d'une structure agraire à très grandes mailles, montre une sécurisation insuffisante des circuits de production, de stockage et de transport (2006 : services de protection des végétaux et service des douanes). Or la durée de vie des graines sur le sol est de un à deux ans pour le maïs, ce qui induit lors de rotations ou de retour à du maïs conventionnel des délais d'apurement des terres de l'ordre de ceux de la conversion biologique, c'est-à-dire trois ans (Messéan et al., 2006). (Il est surprenant que Monsieur Le Maho n'indique pas que le problème n'est pas tellement le % de présence fortuite de transgène dans des cultures non transgéniques mais qu'il est plutôt sur la définition du taux de tolérance de cette présence fortuite. Actuellement, toutes les publications indiquent que dans le cadre réglementaire de l'UE (0,9% de présence fortuite admise) la coexistence entre maïs GM et non GM est gérable (voir les résultats du symposium GMCC07 - Third International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based Agricultural Supply Chains - Séville les 20 et 21 novembre 2007, http://www.coextra.eu/news/news1208.html ; et voir aussi le commentaire Bergé & Ricroch, 2008 *ibidem)*. Pour la co-existence entre maïs semence ou maïs biologique et maïs GM, l'UE doit encore définir les seuils de présence fortuite admis).

Les éléments suivants ont été mis en évidence pour le maïs :
- Dissémination à distance kilométrique (mais quel % d'hybridation croisée à l'arrivée ?)
- La production de semence de maïs est particulièrement sensible à la pollinisation croisée
- L'hybride commercialisé produit plus de pollen que les lignées parentales
- La dissémination du pollen GM par les insectes est un fait constaté (mais cette dissémination n'impacte pas l'hybridation croisée entre maïs-Bt et non Bt ; voir argumentaire *supra*.)

➔ Ces éléments réunis montrent que le phénomène de contamination accidentelle ne peut être négligé. Sur le territoire européen où les territoires sont beaucoup plus morcelés et les structures agraires beaucoup plus réduites qu'aux Etats unis, une dissémination aura inévitablement des impacts plus grands sur les agro-écosystèmes (si les impacts auxquels pense Monsieur Le Maho concernent les repousses et l'hybridation avec les espèces sauvages apparentées à la culture GM, rappelons que cela ne concerne pas le maïs en dehors du Mexique (voir rapport Bergé & Ricroch, 2008 *ibidem*)

➢ **Apparition de résistance chez les ravageurs**

La culture de maïs et de coton Bt, avec une production constante de la toxine par tous les organes de la plante modifiée, a atteint une surface totale d'environ 40 millions d'hectares dans le monde (James, 2006), offrant ainsi aux ravageurs une opportunité de développement de résistances à des toxines jamais atteinte auparavant. En outre, les expériences relatives au développement des résistances aux antibiotiques ou aux divers pesticides montrent que ce développement a lieu d'autant plus efficacement que les espèces cibles sont exposées à des quantités faibles et continues de substances ; c'est la raison pour laquelle, par exemple, la consommation d'antibiotiques chez l'homme est encadrée pour ne pas accélérer l'extension constatée des résistances. Or la sécrétion continue de Bt produit justement des conditions favorables à la diffusion de résistances. En outre, du fait qu'elles ont un spectre d'action censé être beaucoup plus ciblé que les xénobiotiques, les toxines Bt constituent des protéines insecticides de grande qualité et ceci explique qu'elles soient considérées comme « bien public » aux USA. Les produits insecticides à base de toxine Bt sont également largement utilisés en Europe. Eu égard à la gravité des conséquences qu'aurait par conséquent le développement d'une résistance aux toxines Bt chez les ravageurs, l'EPA (l'Environmental Protection Agency) a imposé en 1999 la stratégie de zones refuges non dévolues aux plantes transgéniques pour en retarder l'échéance. Cette stratégie repose sur l'idée que les allèles de résistance qui apparaissent chez les ravageurs vivant sur plantes transgéniques correspondent à un caractère récessif ; le développement de la résistance serait donc ralenti par l'hybridation des ravageurs avec des individus n'ayant pas développé de résistance car vivant sur des plantes non transgéniques.

L'entreprise, tout en reconnaissant le risque que cette résistance apparaisse, cherche à le minimiser en s'appuyant sur l'efficacité des refuges et de l'effet des hautes doses de toxines. Un premier problème, comme cela a été montré récemment (Nguyen et Jehle, 2007), est que les niveaux de toxines des plantes transgéniques peuvent varier considérablement à l'intérieur d'un champ comme d'un champ à l'autre. Selon l'entreprise,à ce jour aucune espèce de ravageur principalement ciblée par le maïs Bt MON810, c'est-à-dire la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* et la sésamie, *Sesamia nonagroide,* n'a développé de résistance particulière à la toxine produite par ce maïs (Sivasupramaniam etal., 2007). Or il est extrêmement difficile de tirer une telle conclusion de ces études, car cette absence de résistance peut avoir trois origines, non exclusives. La première pourrait effectivement être que les zones refuges mises en place pour ralentir le développement de la résistance sont réellement efficaces. Cependant, une autre explication pourrait être une faible fréquence initiale de résistance, de telle sorte que même si la fréquence des allèles de résistance a augmenté, elle est encore trop faible pour que l'on puisse observer en champs des individus résistants. En d'autres termes, la résistance serait bien en train de se développer mais les individus résistants seraient encore trop rares pour être détectés en champs.

Une troisième possibilité pourrait être une grande importance du coût de la résistance, c'est-à-dire de la réduction de la valeur sélective des individus porteurs des allèles de résistance; ceci limiterait évidemment la vitesse de sélection des allèles de résistance. Mais les résultats présentés ne peuvent aucunement permettre d'éliminer l'hypothèse la plus défavorable.

Comme l'indique très justement l'entreprise, pour que la résistance en plein champ à un produit insecticide mène à la baisse d'efficacité du produit, il faut une haute fréquence (plus de 30% d'insectes résistants dans une population). Justement, le risque est bien réel, comme le prouve la nouvelle revue que vient de faire paraître l'équipe de Bruce Tabashnik de l'Université d'Arizona (Tabashnik et al., 2008). Cette revue, qui est donc postérieure à l'analyse par l'entreprise de l'avis du CPHA, démontre l'apparition de phénomènes de résistance liée à un caractère non récessif chez Helicoverpa zea dans l'Arkansas et le Mississipi pour les cotonniers transgéniques utilisant la toxine Bt Cry1Ac (il faudrait rajouter ici que « *In the case of one insect, the cotton bollworm (Helicoverpa zea), a resistance could be proven to have arisen in nature according to the research article.* ***Such insects were found in cotton fields*** *in the southwest of the USA. With regard to other pests, sensitivity to the Bt toxin was proven to be almost fully unchanged. Insects under investigation included other cotton pests such as the pink bollworm (Pectinophora gossypiella), which is the most significant pest in many regions, as well as the* ***corn borer (Ostrinia nubialis),*** *which is widespread in Europe and threatens maize growers*." From GMO Safety Site - Supported by Federal Ministry of Education and Research - Allemagne). Les zones refuges n'ont donc fait que retarder l'apparition de la résistance. Si la situation est restée sous contrôle, c'est notamment parce que des pesticides ont été utilisés : en effet, la toxine CryAc seule n'est pas suffisante face à des populations importantes du ravageur (US EPA, 1998 et Jackson et al., 2004) (Il est étonnant que des publications de cette date (surtout 1998 qui présente un faible recul par rapport à la date de mise sur le marché du maïs Bt) puissent expliquer des résultats publiés en 2008 ? De plus, la publication de Jackson et al. (2004) est un compte-rendu d'essai montrant l'effet de l'utilisation des PGM Bt et des insecticides, en revanche rien n'indique que ce système est utilisé en pratique). L'explication de l'apparition plus rapide d'une résistance en Arkansas et au Mississipi pourrait être la plus faible proportion de zones refuge (39%) qu'en Caroline du Nord (82%). Ainsi on pourrait considérer en ce qui concerne le maïs MON 810 que la surface des zones refuge correspondant à la totalité des surfaces cultivées en maïs non OGM devrait être au minimum de 70 à 80% de la surface totale cultivée en maïs OGM et non OGM afin d'éviter de favoriser l'apparition de résistances sur le long terme. (On peut se demander pourquoi L'auteur Le Maho mentionne une publication sur le cotonnier alors qu'il en existe de nombreuses sur le maïs. Pour information, ci-dessous quelques unes, 30 publications tout de même, entre 2007 et 2008 et une en 2006 :

1) Schuphan I, 2006. ProBenBt - Protecting the benefits of Bt-toxins from insect resistance development by monitoring and management. 2003 - 2005 EU (Contract number: QLK3-CT-2002-01969) RWTH Aachen University. http://www.bio5.rwth-aachen.de/english/content/index.htm?http://www.bio5.rwth-aachen.de/english/content/Forschung/effect/effect_projects/ProBenBt_engl.htm. (Populations of ECB were collected from Germany, Slovakia and Italy, and MCB from Spain and Greece. About 1345 lines of ECB and 160 lines of MCB were screened. No major resistance alleles to Bt maize were detected. This implies that recessive resistance alleles are rare in these European populations.)
2) Alcalde et al, 2007. Insect Resistance Monitoring for Bt **maize** in the EU : the proposal from the Industry IRM working group programs. Workshop on Post Market Environmental Monitoring of Genetically Modified Plants: Harmonization and Standardization - a Practical Approach. 26-27 April 2007, Berlin-Dahlem. (***No significant changes found so far in susceptibility to Cry1Ab toxin in Sesamia nonagrioides and Ostrinia nubilalis populations*****).**

3) Andreadis et al, 2007. Frequency of Resistance to Bacillus thuringiensis Toxin Cry1Ab in Greek and Spanish Population of Sesamia nonagrioides (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology, Vol. 100, No. 1, February 2007 195-201. (Our results suggest that the frequency of alleles conferring resistance to Cry1Ab, regarding the population of S. nonagrioides, may be rare enough so that the high-dose/refuge strategy could be applied with success for resistance management.)
4) Cullen, 2007. Insect Resistance Management when Planting Bt Corn Hybrids. University of Wisconsin - Integrated Pest & Crop Management. http://ipcm.wisc.edu/WCMNews/tabid/53/EntryID/218/Default.aspx.
5) Dalecky, 2007. La pyrale se disperse-t-elle suffisamment pour limiter durablement la résistance au mais Bt via la stratégie "haute dose/refuge. Cahiers Agricultures vol. 16 (3) 171-176. (Dix ans après les premières cultures de maïs Bt aux États-Unis, aucune larve résistante à ces maïs n'a encore été détectée en champ, sans qu'il soit possible de dire s'il faut y voir une preuve de l'efficacité de la stratégie HDR telle qu'elle est mise en place aux États-Unis – dont les études présentées ici montrent qu'elle n'est pas forcément optimale – ou un répit dû à une fréquence initiale extrêmement basse des allèles de résistance.).
6) Engels, 2007. F2-Screen and field sampling with light trap cages, two methods for a resistence monitoring in transgenic crops. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland. (Neither of the methods revealed any resistant corn borer larvae in Germany.)
7) Huang, 2007. Frequency of alleles conferring resistance to Bacillus thuringiensis maize in Louisiana populations of the southwestern corn borer. Entomologia Experimentalis et Applicata 122 (1), 53–58. (Among Louisiana populations of D. grandiosella, no major resistance alleles were detected in these populations. The results showed that the expected Bt resistance allele frequency in the Louisiana populations was <0.0035 with 95% probability and a detection power of 83.9 ± 0.6%. The F2 screen indicates that Bt resistance allele frequencies in D. grandiosella are low among the Louisiana populations and should meet the rare resistance allele requirement of the 'high dose/refuge' strategy.)
8) Huang, 2007. Use of F2 sreening to identify sugarcane borer resistance in Bt corn: How can this technique be employed more broadly? The 2007 ESA Annual Meeting, December 9-12.
9) Huang, 2007. Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae) Resistance to Transgenic Bacillus thuringiensis Maize. Journal of Economic Entomology, Vol. 100, No. 1, February 2007 pp.164-171.
10) Huang, 2007. F2 screen for resistance to a Bacillus thuringiensis-maize hybrid in the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae). Bull Entomol Res. 2007 Oct; 97(5):437-44. (With the F2 screening method, 213 iso-line families of D. saccharalis were established from field collections in northeast Louisiana, USA and were screened for Bt resistance. **One family** was confirmed to carry a major Bt resistance allele(s).)
11) Kaiser-Alexnat & Wagner, 2007. Studies on the early detection of resistance development of the European Corn Borer (Ostrinia nubilalis) to the B.t.-corn-toxin Cry1Ab and clearing up potential resistance mechanisms. Pflanzenschutzdienstes vol. 59 (12) 302-309. (A study was conducted in Germany during 2001-03 to detect early resistance development of O. nubilalis to Bacillus thuringiensis Cry1Ab toxin. Late instar larvae were collected from transgenic (bt) maize fields and tested via F2 screening. The early first instar F2 larvae were tested in bioassays for their reaction to the toxin. No resistant individuals were found.).
12) LeGloahec & Gahan, 2007. Genetic approach to identifying Bt resistance genes in Heliothis virescens. Information System for Biotechnologu : News Report Nov 2007. http://www.isb.vt.edu/news/2007/nov07.pdf. (Since there is no Bt resistance in field

populations of Heliothis virescens (Hv), we study a Bt-resistant laboratory strain called YHD2.)

13) Li et al, 2007. Resistance to Bacillus thuringiensis endotoxins in the European corn borer, Ostrinia nubilalis. Biopesticides International vol. 3 (2) p.96-107. (The data indicate that resistant insect populations with reduced proteinase activity obtained in laboratory are not able to challenge the efficacy of Bt transgenic crops.)
14) Li et al, 2007. DiPel-Selected Ostrinia nubilalis Larvae Are Not Resistant to Transgenic Corn Expressing Bacillus thuringiensis Cry1Ab. Journal of Economic Entomology, Volume 100, Issue 6,1862–1870. (The data demonstrate that Bt-resistant and unselected control O. nubilalis larvae were similar in susceptibility to MON810 and Bt11 event corn hybrids.)
15) Meise & Langenbruch, 2007. Susceptibility of German populations of the Corn Borer Ostrinia nubilalis (Lepidoptera: Pyralidae) to a Bacillus thuringiensis endotoxin. Pflanzenschutzdienstes vol. 59 (12) 297-301. (The geographical and annual differences seem to be based on fluctuations in natural sensitivity of the populations, because the populations were not exposed to Bt-toxin selection in former years. It has to be concluded from the results presented here, that a large variability of European corn borer (ECB) baseline sensitivity must be expected in case of a resistance monitoring in Germany. Differences in sensitivity of a factor 10 have to be considered as natural fluctuations and are not indicating differences in resistance.) (From J Bergé : cet article montre que dans les populations de O. nubilalis n'ayabnt pas été traitées au bt depuis plusieurs années on observe des variations de DL50 imputables à un polymorphisme génétique existant pour de nombreux caractères chez les organisms. Phénomène bien connu vis-à-vis de la sensibilité aux insecticides.)
16) Siegfried, 2007. European corn borer and corn rootworm resistance to Bt corn: The story of two different resistance monitoring programs. The 2007 ESA Annual Meeting, December 9-12, 2007: Advances in Bt Resistance: From Mechanisms to Monitoring, December 9, 2007.
17) Sivasupramaniam, 2007. A global approach to resistance monitoring. Journal of Invertebrate Pathology, Volume 95, Issue 3, Pages 224-226. (To date, Monsanto has conducted baseline/monitoring studies in Argentina, Australia, Brazil, Canada, China, Colombia, India, Mexico, the Philippines, South Africa, Spain, and the United States. Examples of pests on which resistance monitoring has been conducted include cotton bollworm, Helicoverpa zea, European corn borer, Ostrinia nubilalis, pink bollworm, Pectinophora gossypiella, Southwestern corn borer, Diatraea grandiosella, tobacco budworm, Heliothis virescens, and western corn rootworm, Diabrotica virgifera virgifera, in the United States, cotton bollworm, Helicoverpa armigera, in China, India and Australia, and H. virescens and H. zea in Mexico. No field-selected resistance to Bt crops has been documented.)
18) Wu X et al, 2007. Evaluation of Transgenic Bacillus thuringiensis Corn Hybrids Against Cry1Ab-Susceptible and -Resistant Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Economic Entomology, Volume 100, Number 6, December 2007, 1880-1886. (Bt corn hybrids expressing a "high dose" for European corn borer, Ostrinia nubilalis (Hübner), may not produce a sufficient high dose for the sugarcane borer.)
19) Wang et al, 2007. Mechanism of Resistance to Bacillus thuringiensis Toxin Cry1Ac in a Greenhouse Population of the Cabbage Looper, Trichoplusia ni. Applied and Environmental Microbiology, February 2007, 1199-1207, Vol. 73, No. 4.
20) Anilkumar et al, 2007. Production and Characterization of Bacillus thuringiensis Cry1Ac-Resistant Cotton Bollworm Helicoverpa zea (Bodddie). Appl. Environ. Microbiol. 2008 74: 462-469. (These results aid in understanding why this pest has not evolved B. thuringiensis resistance, and highlight the need to choose carefully the form of B. thuringiensis protein used in experiments.)

21) Eliseu et al, 2007. Selection for Cry1F resistance in the European corn borer and cross-resistance to other Cry toxins. Entomologia Experimentalis et Applicata 126 (2), 115–121. (The lacks of cross-resistance between Cry1F and Cry1Ab suggest that maize hybrids expressing these two toxins are likely to be compatible for resistance management of O. nubilalis.)
22) Felke & Langenbruch, 2008. Susceptibility of European corn borer larvae to pollen of B.t.-176 maize. Pflanzenschutzdienstes vol. 60 (1) p.2-6. (So susceptibility of 2nd instar larvae of the European corn borer to B.t.-176 maize pollen is comparable to susceptibility of larvae of some other European or North American butterfly species which are common in agricultural used habitats.)
23) Ferré et al, 2008. Insecticidal Genetically Modified Crops and Insect Resistance Management (IRM). Book Series - Progress in Biological Control Volume 5, 41-85. (Such "pyramided" Bt crops hold great promise and, in combination with the high dose/refuge strategy, will likely confer maximum protection to the Bt crop technology against insect resistance. So far, no case of resistance evolution to Bt crops has been reported.)
24) Hommel, 2008. Insektenresistenzmanagement von Bt-Mais -- Entwicklung einer GIS-basierten Entscheidungshilfe auf Betriebsebene fur die Refugienplanung. Pflanzenschutzdienstes vol. 60 (1) p.7-10. (The high efficiency of such strategy (refuge) has been documented by robust data gathered in the USA where pest populations being resistant for B. thuringiensis have not been detected after utilization of Bt maize and cotton on Million of hectares for over 10 years. For supporting decision making on farm scale in planning refuges in Germany, a GIS based software tool is being developed in close collaboration with three experienced Bt maize growing farms located in north-east Germany (region Oderbruch).
25) Huang F et al, 2008. Geographical susceptibility of Louisiana and Texas populations of the sugarcane borer, Diatraea saccharalis (F.) (Lepidoptera: Crambidae) to Bacillus thuringiensis Cry1Ab protein. Crop Protection Volume 27, Issues 3-5, March-May 2008, 799-806. (The results of this study suggest that field populations of D. saccharalis remain generally susceptible to the Cry1Ab (trans)protein after 8 years use of transgenic Bt corn in Louisiana and the Gulf Coast area of Texas.)
26) Huang et al, 2008. Allele Frequency of Resistance to Bacillus thuringiensis Cry1Ab Corn in Louisiana Populations of Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Economic Entomology, Volume 101, Number 2, April 2008,492-498.) (indique en conclusion de son résumé, « Major Bt resistance allele frequencies in Louisiana sugarcane borer populations seem to be low, and they should support the rare resistance allele requirement of the high dose/refuge strategy.")
27) Lefko et al, 2008. Characterizing laboratory colonies of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) selected for survival on **maize** containing event DAS-59122-7. Journal of Applied Entomology 132 (3), 189–204. (An allele conferring major resistance to DAS-59122-7 was not identified in either selected colony. The assessment also concluded that major resistance gene(s) are rare in populations of D. v. virgifera in the United States, and that a minor trait(s) conferring a low level of survival on DAS-59122-7 maize was present. The tolerance trait identified in this study was considered minor with respect to its impact on DAS-59122-7 maize efficacy, and the role this trait may play in total effective refuge for major resistance genes with recessive inheritance is the basis of future work.)
28) Nowatzki et al, 2008. Validation of a novel resistance monitoring technique for corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) and event DAS-59122-7 maize. Journal of Applied Entomology 132 (3) , 177–188. (Souche resistante sélectionnée en laboratoire).
29) Pereira et al, 2008. Selection for Cry1F resistance in the European corn borer and cross-resistance to other Cry toxins. Entomologia Experimentalis et Applicata 126 (2), 115–121. (Sélection en laboratoire)

30) Witkowski et al, 2008. Bt Corn & European Corn Borer-Long-Term Success Through Resistance Management. Editors: K.R. Ostlie, W.D. Hutchison, & R. L. Hellmich - Reviewed 2008.

Outre le fait que l'on peut s'interroger sur la possibilité d'imposer effectivement une limitation des surfaces cultivées en MON 810 à une proportion de 20 à 30% des terres cultivées afin de préserver une proportion de zones refuge suffisante, cela pose le problème de la cohabitation entre les différentes filières. A l'échelle très morcelée des territoires en Europe, il est difficile d'imaginer que l'on doive compter sur l'agriculture biologique pour procurer les zones refuges nécessaires au ralentissement du développement de la résistance des ravageurs aux toxines Bt induite par les plantes transgéniques. (le problème, c'est que cette étude concerne le coton et que pour le maïs toutes les publications indiquent qu'il n'y a pas de résistance sur le terrain) (Il est étonnant que Monsieur Le Maho n'ait pas cité des articles décrivant des solutions possibles au problème des souches résistantes à Bt. On peut citer par exemple l'article de Bravo & Soberon, 2008. How to cope with insect resistance to Bt toxins? Trends Biotechnol. 2008 (10):573-579, ou encore celui de Soberón et al., 2007. Engineering Modified Bt Toxins to Counter Insect Resistance. Science, 318 (5856) (7 dec 2007) 1640–1642 ou encore celui de Eliseu et al., 2007. Selection for Cry1F resistance in the European corn borer and cross-resistance to other Cry toxins. Entomologia Experimentalis et Applicata 126(2), 115–121. (The lacks of cross-resistance between Cry1F and Cry1Ab suggest that maize hybrids expressing these two toxins are likely to be compatible for resistance management of O. nubilalis.) ou encore celui de Andow et al., 2008. Pesticide and transgenic plant resistance management in the field. Global pesticide resistance in arthropods 118-145 Editors: Whalon, M. E.; Mota-Sanchez, D.; Hollingworth, R. M. Publisher: CABI, Wallingford, UK. (..., *a portion of the chapter summarizes the use of transgenic Bt crops and their role in IPM.*).

Qui plus est, comme l'a rapporté le CPHA dans son avis, des faits nouveaux montrent que l'on a bien déjà une résistance à la toxine du maïs Bt MON810 chez des ravageurs qui sont considérés aujourd'hui comme des cibles secondaires. Huang et al. (2007) ont trouvé des allèles de résistance à Cry1AB dans une population d'insectes foreurs de la canne à sucre, résistance qui pourrait être favorisée par la sécrétion constante de la toxine Bt par la plante (Dans l'article, ces auteurs indiquent que *Diatraea saccharalis* est moins sensible à cry que les autres ravageurs du maïs cibles du maïs Bt. La fréquence du gène de résistance est de 0,0023 qui ne pose pas de problème sur le terrain. D'autant que dans une publication parue en 2008, ce même auteur (Huang et al., 2008. Allele Frequency of Resistance to Bacillus thuringiensis Cry1Ab Corn in Louisiana Populations of Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Economic Entomology, Volume 101, Number 2, April 2008, 492-498.) indique en conclusion de son résumé "*Major Bt resistance allele frequencies in Louisiana sugarcane borer populations seem to be low, and they should support the rare resistance allele requirement of the high dose/refuge strategy* .". **Evidemment il faut suivre cette évolution** pour voir si cette fréquence varie avec le temps ou non, mais cela fait partie de l'évaluation ex-post, mais elle ne justifie pas d'un moratoire du Mon810, à la limite on peut préconiser de ne plus planter de maïs Bt dans cette région ou bien d'utiliser des variétés exprimant deux gènes cry si la résistance s'avère agronomiquement impactante.) tandis que Van Rensburg (2007) a montré que les populations d'un lépidoptère africain foreur de graminées, *Busseola fusca,* qui vivent sur du maïs Bt ont tendance à être plus tolérantes à la toxine Cry1AB que les insectes des zones agricoles où le maïs Bt n'est pas utilisé. Il se pourrait dans ce cas qu'il y ait une mauvaise application de la stratégie des zones refuges destinées à retarder le développement d'une résistance par les ravageurs, cette mauvaise application étant induite par un réflexe économique, donc sans doute généralisable (d'autres pourraient dire qu'il faut enseigner aux agriculteurs la façon d'utiliser ces nouvelles variétés), de l'agriculteur ; mais, malheureusement, l'étude n'indique pas si cette résistance évolue. En

revanche, **pour le cotonnier**, GuoPing et al. (2007) mettent bien en évidence une augmentation de la résistance telle qu'elle devrait poser des problèmes agronomiques dans un délai de 11 à 15 ans. Le fait que ces phénomènes de résistance concernent le cotonnier ou des insectes non présents en Europe peut être simplement lié au fait que les surfaces de culture des plantes transgéniques utilisant des protéines Bt sont encore peu répandues en Europe. Ils doivent en tout cas inciter à la plus grande prudence compte tenu de la grande importance patrimoniale ces protéines Bt.

En outre, comme les ravageurs primaires sont principalement ciblés par les plantes transgéniques, un autre fait nouveau est que l'on observe l'émergence de ravageurs secondaires devenus ravageurs primaires, notamment chez le cotonnier (Wang et al., 2006).Va donc également se poser la question de l'utilisation accrue de pesticides pour contrôler ces nouveaux ravageurs primaires. (Il faudrait indiquer qu'il y a des solutions exploitables comme le montre Gatehouse, 2008. Biotechnological Prospects for Engineering Insect-Resistant Plants - Update on Engineering Insect-Resistant Plants. Plant Physiology 146:881-887 (2008). "*However, not all pests are adequately targeted by the Bt toxins used at present, and there is still a need to develop solutions to specific problems, such as resistance to sap-sucking pests and pests of stored products. This Update will review some developments to the basic Bt strategy and selected alternative methods for engineering insect resistance*.").

Comme le reconnaît aujourd'hui l'entreprise, l'apparition d'une résistance chez ravageurs est inéluctable et l'objectif doit donc être d'en minimiser l'importance.
Au vu des phénomènes de résistance apparaissant déjà pour le coton Bt, pour limiter l'apparition de ces phénomènes, il faut être prêt à envisager jusqu'à 70 à 80% de zones refuges dans les régions où le maïs OGM est cultivé.
L'apparition de résistance au MON810 est avérée pour des ravageurs jusqu'à présent considérés comme secondaires et qui peuvent donc devenir des ravageurs primaires.

➔ Du fait des grandes qualités de la protéine Bt et donc de son grand intérêt public, la résistance attendue des ravageurs primaires pose un sérieux problème.

- **Effets sur la faune non cible.**

L'affirmation catégorique de l'entreprise, rappelée page 8 de son analyse, selon laquelle « la protéine Cry1Ab exprimée dans MON 810 ne représente pas de danger pour des organismes autres que certains lépidoptères » excède manifestement la portée des expériences et observations sur lesquelles elle s'appuie. Elle est également très imprécise quant à ses conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes, notamment par rapport aux systèmes prédateurs/proies (Monsieur Le Maho omet de citer le système hôte/parasite qui est aussi un bon régulateur des populations de ravageurs des cultures). Les conséquences ne sont évidemment pas les mêmes si la protéine exprimée est efficace contre le ravageur cible ou sur la faune non cible, dont en particulier les prédateurs des ravageurs cible.

Plus d'un millier d'articles ont été publiés en près de dix ans sur les effets des cultures transgéniques sur les organismes non cibles, dont plus de 200 sur le maïs transgénique (dans la banque de données gérée par JB Bergé & A Ricroch, 512 références sont répertoriées sur l'impact biologique du maïs transgénique). Malgré cette abondante littérature, la plupart des informations disponibles portent sur des espèces non européennes, pour les mêmes raisons que précédemment, et demanderaient à être approfondies (quelques références sur les travaux concernant l'impact biologique du maïs Bt en Europe en 2007 et 2008. Remonter plus en arrière dans le temps aurait nécessité plusieurs pages pour donner les références, en effet les 48 publications européennes que nous avons recensées ci-dessous représentent le 1/3 de la totalité des publications que nous avons trouvées sur l'impact biologique des maïs Bt :

1) Birch A.N.E., et al., 2007. The role of laboratory, glasshouse and field scale experiments in understanding the interactions between genetically modified crops and soil ecosystems: a review of the ECOGEN project. Pedobiologia vol. 51 (3) 251-260.
2) Bohanec M, et al., 2007. A qualitative multi-attribute model for assessing the impact of cropping systems on soil quality. Pedobiologia vol. 51 (3) 239-250.
3) Büchs W, Prescher S, 2007. Effects of Bt-maize with Diabrotica-resistance and other maize cultivars on saprophagous Diptera larvae. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
4) Büchs W, Schlein O, 2007. Effects of transgenic maize with Diabrotica v. virgifera - resistance on the feeding rates and development of predatory beetles after consumption of Bt-contaminated prey larvae. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
5) Chamberlain DE, et al., 2007. The effects of GMHT crops on bird abundance in arable fields in the UK. Agriculture, Ecosystems & Environment vol. 118 (1/4) 350-356.
6) Cortet J, et al., 2007. Evaluation of effects of transgenic Bt maize on microarthropods in a European multi-site experiment. Pedobiologia vol. 51 (3) 207-218.
7) de Vaufleury A, et al., 2007. Exposure and effects assessments of Bt-maize on non-target organisms (gastropods, microarthropods, mycorrhizal fungi) in microcosms. Pedobiologia Volume 51, Issue 3, 15 August 2007, Pages 185-194.
8) Díaz-Mendoza M, et al., 2007. Proteolytic processing of native Cry1Ab toxin by midgut extracts and purified trypsins from the Mediterranean corn borer Sesamia nonagrioides. Journal of Insect Physiology Volume 53, Issue 5, May 2007, Pages 428-435.
9) Faria CA, et al., 2007. High Susceptibility of Bt Maize to Aphids Enhances the Performance of Parasitoids of Lepidopteran Pests. PLoS ONE. 2007; 2(7): e600.
10) Farinós GP, et al., 2007. Diversity and temporal phenology of above-ground fauna in transgenic and conventional maize fields of Central Spain. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
11) Górecka J, et al., 2007. Validation of some techniques used in the evaluation of GM plant's effect on tri-trophic relations. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
12) Griffiths BS, et al., 2007. Microbial and microfaunal community structure in cropping systems with genetically modified plants. Pedobiologia vol. 51 (3) 195-206.
13) Griffiths BS, et al., 2007. Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non-Bt maize on soil microbial and nematode community structure. Plant Biotechnology Journal, 5(1):60-8.
14) Habuštová O, et al., 2007. Lack of effect of maize expressing bacterial toxin Cry1Ab on the composition of insect communities. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
15) Hönemann L, Nentwig, W, 2007. Effects of Bt-corn on the soil macro- and mesofauna – A litter bag field study. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland
16) Konrad R, Babendreier D, 2007. Effects of insect-resistant transgenic plants on solitary bees. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
17) Kramarz PE, et al., 2007. Studying the effect of exposure of the snail Helix aspersa to the purified Bt toxin, Cry1Ab. Applied Soil Ecology Volume 37, Issues 1-2, October 2007, Pages 169-172.
18) Krogh PH, Griffiths, B.; Demsar, D.; Bohanec, M.; Debeljak, M.; Andersen, M. N.; Sausse, C.; Birch, A. N. E.; Caul, S.; Holmstrup, M.; Heckmann, L. H.; Cortet, J., 2007. Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. Pedobiologia vol. 51 (3) 219-227

19) Li Y, Romeis, J 2007. Assessing the impact of Bt maize pollen on adult green lacewings. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
20) Meissle M, Romeis J, 2007. Assessing the risk of Diabrotica-resistant Bt maize for the web building spider Theridion impressum (Ara.: Theridiidae). 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
21) Mulder C, 2007. Transgenic maize containing the Cry1Ab protein ephemerally enhances soil microbial communities. Ambio. 2007 Jun;36(4):359-61.
22) Priesnitz KU, et al., 2007. Impact of Coleopteran-specific Bt maize on Carabid beetles: results after two years of field and laboratory research. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
23) Ramirez-Romero R, et al., 2007. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, Cotesia marginiventris (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. Crop Protection Volume 26, Issue 7, July 2007, Pages 953-962.
24) Rauschen S, et al., 2007. Assessment of possible non-target effects of the novel Bt-corn variety MON88017 resistant to the Western corn rootworm Diabrotica virgifera virgifera (LeConte). 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
25) Raybould A, et al., 2007. Non-target organism risk assessment of MIR604 maize expressing mCry3A for control of corn rootworm. Journal of Applied Entomology 131 (6), 391–399.
26) Raybould A, et al., 2007. Environmental risk assessment of maize expressing mCry3A for control of corn rootworm. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
27) Toschki A, et al., 2007. Effects of Cultivation of Genetically Modified Bt Maize on Epigeic Arthropods (Araneae; Carabidae). Environmental Entomology, Vol. 36, No. 4, August 2007, 967-981.
28) Vaufleury A de, et al., 2007. Exposure and effects assessments of Bt-maize on non-target organisms (gastropods, microarthropods, mycorrhizal fungi) in microcosms. Pedobiologia 51 (3): 185-194.
29) Zemek R, Vávrová Z, 2007. Assessing the effects of Bt-maize pollen on Typhlodromus pyri (Acari: Phytoseiidae). 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
30) Zurawska M, Linkiewicz AM, 2007. Cry 1Ab expression in non-target organisms as an element for the correct environmental risk assessment of MON810 in Polish ecosystems. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
31) Zurbrügg C, Nentwig W, 2007. Cry1 and Cry3 toxins show different degradation patterns and thus exposure risk for soil organisms is higher for Cry1. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
32) Zwahlen C, et al., 2007. Field decomposition of transgenic Bt maize residue and the impact on non-target soil invertebrates. Plant and Soil vol. 300 (1/2) 245-257.
33) Alvarez-Alfageme F, et al., 2007. Prey mediated effects of Bt maize on fitness and digestive physiology of the red spider mite predator Stethorus punctillum Weise (Coleoptera: Coccinellidae). Transgenic Research, Volume 17, Number 5, 943-954.
34) Bøhn T, et al., 2008. Reduced fitness of Daphnia magna fed a Bt-transgenic **maize** variety. Arch Environ Contam Toxicol, in press (DOI 10.1007/s00244-008-9150-5) Received: 16 November 2007 Accepted: 11 February 2008 Published online: 18 March 2008.
35) Büechs W, et al., 2008. Effects of Diabrotica-resistant Bt-maize (MON 88017) on saprophagous Diptera and their coleopteran predators. 41th ANNUAL MEETING of the Society for INVERTEBRATE PATHOLOGY and 9TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON

BACILLUS THURINGIENSIS Incorporating COST862 Action: Bacterial Toxins for Insect Control.

36) Farinos GP, et al., 2008. Diversity and seasonal phenology of aboveground arthropods in conventional and transgenic **maize** crops in Central Spain. Biological Control vol. 44 (3) 362-371.

37) Górecka J, et al., 2008. Effect of Bt maize MON 810 expressing Cry 1 Ab toxin on Aphidius colemani in tritrophic plant - herbivore - parasitoid system. Journal of Plant Protection Research vol: 48, number: 1, 129-136.

38) Hönemann L, et al., 2008. Effects of Bt-corn decomposition on the composition of the soil meso- and macrofauna. Applied Soil Ecology Volume 40, Issue 2, October 2008, 203-209.

39) Höss S, et al., 2008. Effects of transgenic corn and Cry1Ab protein on the nematode, Caenorhabditis elegans. Ecotoxicology and Environmental Safety Volume 70, Issue 2, 334-340.

40) Li Y, et al., 2008. Consumption of Bt Maize Pollen Expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 Does Not Harm Adult Green Lacewings, Chrysoperla carnea (Neuroptera: Chrysopidae). PLoS ONE 3(8): e2909.

41) Oliveira Adília P, et al., 2008. A two-year field study with transgenic Bacillus thuringiensis maize: Effects on soil microorganisms. Science of The Total Environment, In Press, Corrected Proof, Available online 24 July 2008.

42) Ramirez-Romero R, et al., 2008. Bt-maize effects on biological parameters of the non-target aphid Sitobion avenae (Homoptera: Aphididae) and Cry1Ab toxin detection. Pesticide Biochem Physiol. Volume 91, Issue 2, 110-115.

43) Rauschen S, et al., 2008. An evaluation of methods for assessing the impacts of Bt-maize MON810 cultivation and pyrethroid insecticide use on Auchenorrhyncha (Planthoppers and Leafhoppers). Agr. Forest Entomol. Published Online: Sep 17 2008.

44) Rauschen S, et al., 2008. Impact of Bt -corn MON88017 in comparison to three conventional lines on Trigonotylus caelestialium (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae) field densities. Transgenic Research, Received: 23 May 2008 Accepted: 12 July 2008 Published online: 31 July 2008.

45) Romeis Jörg, et al., 2008. Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs. Book Series - Progress in Biological Control - Volume 5.

46) Schrader S, et al., 2008. Earthworms of different functional groups affect the fate of the Bt-toxin Cry1Ab from transgenic maize in soil. European Journal of Soil Biology, Volume 44, Issue 3, 283-289.

47) Turrini A, et al., 2008. Experimental Systems to Monitor the Impact of Transgenic Corn on Keystone Soil Microorganisms. 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, June 16-20, 2008.

48) Zurbrügg C, Nentwig W, 2008. Ingestion and excretion of two transgenic Bt corn varieties by slugs. Transgenic Research (2008) 0962-8819 (Print) 1573-9368 (Online). Received: 11 January 2008 Accepted: 18 July 2008 Published online: 2 September 2008.).

Dans ce contexte, l'entreprise trouve surprenant que l'Avis du CPHA se fonde sur des espèces non européennes, comme par exemple le grand Monarque. C'est paradoxal dans la mesure où à l'inverse, L'entreprise n'hésite pas à utiliser nombre d'arguments concernant une faune non européenne pour minimiser l'impact des plantes transgéniques sur la faune non cible. Du fait de l'insuffisance des informations pour la faune européenne (voir ci-dessus), le CPHA n'avait guère d'autre choix que de s'appuyer sur l'expérience antérieure des régions ayant déjà utilisé sur plusieurs années du MON 810. Eu égard au grand rôle des invertébrés dans le fonctionnement des écosystèmes, il est regrettable que la demande d'autorisation de dissémination des plantes transgéniques en Europe n'ait pas été précédée par une étude rigoureuse de leur impact sur ces derniers. Les connaissances sont clairement insuffisantes, ainsi sur l'éventuel impact aux

différentes étapes du développement des insectes pollinisateurs. Le CPHA a en outre jugé certains faits nouveaux comme suffisamment inquiétants pour introduire un sérieux doute sur l'innocuité du MON810 sur l'environnement. (Dans le cas du papillon monarque, ce n'est pas tellement le fait qu'il s'agisse d'une faune non européenne qui est important, c'est plutôt que les effets délétères ont été mesurés dans des conditions « artificielles » et que ces effets n'ont pas été retrouvés dans les conditions naturelles (voir Bergé & Ricroch, 2008 *ibidem*).

C'est par exemple le cas pour les lombrics (Zwahlen et al., 2003), pour lesquels une diminution de 18% du poids a été observée après 200 jours (ce qu'omet d'indiquer Monsieur Le Maho, c'est que la perte de poids entre adulte (Bt+/Bt-) sont des résultats obtenus en laboratoire, alors que comme l'indiquent les auteurs « *In the field, immature L. terrestris showed a similar growth pattern in both treatments (Bt+/Bt-), with few statistically insignificant differences between the two groups.* » De plus, comme le montre le graphique ci-dessous tiré de l'article : à 200 jours de traitement les lombrics Bt+ sont plus lourds que les lombrics Bt-

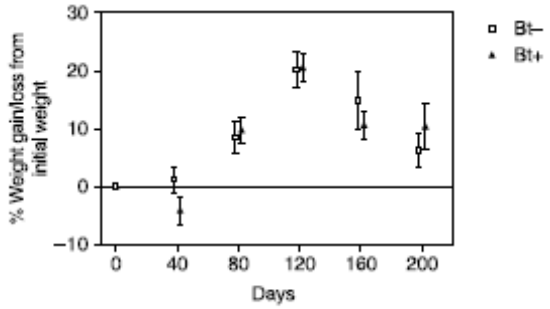

Fig. 4 Mean (± SE) weight gain, respectively, weight loss (in percentage) compared to the initial weight of the immature (Bt–) corn-fed (white rectangles) and (Bt+) corn-fed (black triangles) *L. terrestris* in the field trial after 40, 80, 120, 160 and 200 days. No significant differences were observed ($P > 0.05$, Mann–Whitney *U*-test).

De plus, ces résultats doivent être comparés avec ceux de Krogh et al. (2007) qui montrent que les méthodes de culture (labour, non labour, etc.) ont plus d'effets sur les lombrics que la comparaison MON810 et maïs nonBt isogénique. (Krogh PH, Griffiths B, Demsar D, Bohanec M, Debeljak M, Andersen MN, Sausse C, Birch ANE, Caul S, Holmstrup M, Heckmann LH & J Cortet (2007). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. Pedobiologia, 51(3) 219-227 [Special issue: ECOGEN, Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops.]). Comme l'indiquent les auteurs, il faudrait reprendre une telle étude sur un temps plus long, puisque d'après Saxena et al. (2002), la toxine Cry1AB peut encore se trouver sous sa forme insecticide après 350 jours. Par contre, les contre-exemples fournis par l'entreprise pour les lombrics se limitent à des durées d'études de l'ordre d'une centaine de jours (pages 17 à 18 de l'Analyse). En fait, les transprotéines se fixent dans les particules du sol et leur rémanence dépend de la constitution physicochimique de ces particules (Pagel-Wieder et al., 2007) ; elle est donc très liée aux caractéristiques des différents sols, ce qui suggère que l'évaluation initiale devrait être demandée dans différents contextes pédologiques.
(Au sujet de la persistance de la transprotéine dans les sols, ce tableau publié par Icoz & Stotzky 2008 (Icoz I, Stotzky G, 2008. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 40 (3) 559-586.)

Table 5
Summary of persistence of Cry proteins in soil

Protein	Study location	Experimental variable	Persistence of proteins in soil	References
Cry1Ab Cry1Ac Cry3Aa	Laboratory	Soil amended with biomass of *Bt* maize, cotton, and potato	No persistence of proteins in soil; proteins degraded in soil with a half-life of 20 d	Ream et al. (1994)
Cry1Ab Cry1Ac	Laboratory	Soil amended with purified protein or biomass of *Bt* cotton	Purified proteins and Cry proteins from cotton tissue decreased rapidly, with a half-life of approximately 4 and 7 d, respectively, by ELISA	Palm et al. (1996)
Cry1Ab Cry1Ac	Laboratory	Soils amended with purified protein or biomass of *Bt* cotton	Purified protein was detected up to 28 d, and the protein from *Bt* cotton was detected up to 56 d	Donegan et al. (1995)
Cry1Ab	Laboratory	Soil amended with purified protein	Protein still detectable in soil after 234 d by larvicidal assay	Tapp and Stotzky (1998)
Cry1Ab	Laboratory	Soil amended with biomass of *Bt* maize	50% decrease (half-life) in the insecticidal activity of Cry1Ab protein in 1.6 d and a 90% decrease in 15 d	Sims and Holden (1996)
Cry2A	Laboratory	Soil amended with biomass of *Bt* cotton	Half-life of bioactivity was estimated at 15.5 d by insect bioassay	Sims and Ream (1997)
	Field	*Bt* cotton cultivation	Half-life of bioactivity was estimated at 31.7 d by insect bioassay	
Cry1Ab	Laboratory	Soil with *Bt* maize or amended with biomass of *Bt* maize	Cry1Ab protein from root exudates and in plant biomass persisted for at least 180 and 350 d, respectively, in soil	Saxena and Stotzky (2002)
Cry1Ab	Laboratory Field	Soil amended with biomass of *Bt* maize or cultivation of *Bt* maize for 4 y	No persistence of protein in soil	Hopkins and Gregorich (2003)
Cry1Ab	Laboratory	Soils amended with biomass of *Bt* maize	Protein persisted for several weeks	Muchaonyerwa et al. (2004)
Cry3Bb1	Laboratory	Soils amended with biomass of *Bt* maize	Protein was detected only 21 d in soils amended with montmorillonite and 40 d in soils amended with kaolinite (K); after adjustment of pH of the K soils to *ca.* 7, protein was detected for only 21 d	Icoz and Stotzky (2007)
Cry1Ac	Field	*Bt* cotton cultivation	No detectable level of protein in soil for 3–6 consecutive years	Head et al. (2002)
Cry1Ab	Field	*Bt* maize cultivation	No persistence for 3 years	Dubelman et al. (2005)
Cry3Bb1	Field	*Bt* maize cultivation	No detectable level of protein in soil during 3 consecutive years	Ahmad et al. (2005)
Cry1Ab	Field	*Bt* maize cultivation	Protein detected in soils during 4 consecutive years	Icoz et al. (2007)
Cry3Bb1	Field	*Bt* maize cultivation	No protein detected in soils during 4 consecutive years	
Cry1Ab	Field	*Bt* maize cultivation	Protein in *Bt* maize litter persisted at least 8 months	Zwahlen et al. (2003a, b)
Cry1Ab	Field	*Bt* maize cultivation	Protein persisted through winter but no accumulation	Baumgarte and Tebbe (2005)
Cry1Ab	Laboratory Field	Soils amended with biomass of *Bt* rice and *Bt* rice cultivation	The half-lives of the protein in soils amended with *Bt* rice straw (4%, ww^{-1}) was estimated at 11.5 for alkaline soils and 34.3 d for acidic soils	Wang et al. (2006)

)

montre clairement que les persistance de longue durée dans le sol ont été obtenues en condition de laboratoire alors que les mesures en plein champ montrent que les persistances sont beaucoup plus courtes.)

Les lombrics ingèrent de la terre et on mesure en fait l'incroyable faiblesse des études et connaissances disponibles lorsque l'on constate que l'on ne sait rien de l'impact de la toxine Cry1AB sur la longévité des lombrics, le temps nécessaire pour qu'ils arrivent à maturité, leur fertilité, la probabilité de survie des immatures et de longévité des adultes. Ce manque d'études et de connaissances est préoccupant si l'on prend en compte le rôle essentiel des lombrics dans la décomposition des litières et la structure des sols, et cela indépendamment des modes de culture (labour, non labour…) qui ont également un impact important sur les populations de lombrics (Krogh et al. (2007). (Avant d'écrire que « ce manque d'études et de connaissance est préoccupant », Monsieur Le Maho aurait du bien vérifier sa bibliographie qu'il utilise, car, toujours dans la même publication de Icoz & Stotzky, 2008, on trouve le tableau suivant :

Table 1
Summary of the effects of Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* on soil-dwelling invertebrates

Organism	Species	Study location	Experimental variable	Protein expressed	Effect of Cry proteins on organism	References
Earthworm	*Eisenia fetida*	Laboratory	Soil amended with biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No effect on mortality and weight	Ahl Goy et al. (199
Earthworm	*Lumbricus terrestris*	Laboratory	Soil amended with biomass of *Bt* and non-*Bt* maize; soil planted to *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant differences in mortality and weight	Saxena and Stotzky (2001b)
Earthworm	*Lumbricus terrestris*	Laboratory	Fed residues of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No differences in mortality and weight	Zwahlen et al. (2003
Earthworm	*Lumbricidae* community	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize; cultivation of maize treated with commercial insecticide (Baythroidis®) and of untreated maize	Cry1Ab	No effect of Cry protein on numbers in soil planted with *Bt* and non-*Bt* maize and in soil planted with non-*Bt* maize treated with commercial insecticide and with noninsecticide	Lang et al. (2006)
Earthworm	*Eisenia fetida*	Laboratory	Fed leaves of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No deleterious effects on survival and reproduction	Clark and Coats (2006)
Earthworm	*Aporrectodea caliginosa*	Laboratory	Fed leaves of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No effect on mortality and weight	Vercesi et al. (2006)

)

(Dans notre banque bibliographique (Bergé & Ricroch), nous trouvons 55 références se rapportant aux lombrics et aux PGM).

De même, l'affirmation de l'entreprise selon laquelle le MON810 présente un risque négligeable sur les organismes non cibles ne repose sur aucun fondement scientifique ; en effet, pour étayer une affirmation d'une telle généralité, des études approfondies auraient dû être menées au moins sur d'autres invertébrés qui jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des agroécosystèmes (lesquels ? Est ce qu'il n'y en a pas une grande partie qui se trouve étudiée dans les 48 publications citées *supra* et portant sur le maïs Bt et son impact biologique ?). Dans la plupart des travaux réalisés en champs, et notamment ceux cités par l'entreprise, les auteurs insistent sur l'impossibilité de conclure à l'absence d'effets des toxines Bt sur les espèces non cibles, comme par exemple Bourguet et al (2002). Il en est de même pour des arthropodes étudiés en Hongrie, Arpas et al. (2005) concluant après 3 ans d'investigation que l'innocuité du MON810 n'avait pas pu être démontrée. Parce qu'elle est interprétée comme liée à une moindre valeur nutritionnelle de ses proies lorsque celles-ci sont nourries avec du maïs MON810, la plus grande mortalité du coléoptère *Poecilus cupreus* observée par Meissle et al. (2005) est également citée par l'entreprise comme un "argument de poids" indiquant l'absence d'effets sur les organismes non cibles. En fait, pour Zwahlen et Andow (2005), un impact sur l'abondance des populations de ce coléoptère reste possible. Enfin, pour les coléoptères des champs de maïs MON810, Szekeres et al. (2006), non cités par l'entreprise, indiquent que l'absence de résultats significatifs sur les petites surfaces agricoles étudiées ne permet pas de tirer des conclusions pour de plus grandes surfaces (nous sommes d'accord sur les limites de l'extrapolation, mais cela n'infirme pas toutes les publications qui ne trouvent aucun effet des maïs Bt sur les biosystèmes). En outre, les effets positifs indiqués par l'entreprise pour les plantes transgéniques concernent des surfaces sans utilisation de produits phytosanitaires. Il n'y est donc pas tenu compte de la nécessité d'utilisation de pesticides en complément des plantes transgéniques lorsque les populations de ravageurs primaires sont importantes, ou qu'elles commencent à développer une résistance ou encore qu'il faut contrôler les ravageurs secondaires non cibles qui risquent de devenir des ravageurs primaires. Or nous avons vu précédemment que tel était bien le cas en pratique.

Comme les coléoptères, qui sont les invertébrés les plus abondants dans les agroécosystèmes européens, les parasitoïdes ont un rôle essentiel en tant qu'ennemis naturels des ravageurs des cultures de maïs.

Les résultats défavorables des études de Vojtech et al. (2005) et Meissle et al. (2005) pour des parasitoïdes (cocons de taille réduite, temps de développement plus grand, mortalité accrue lorsque les larves se nourrissent de MON810) ne sont pas discutés par l'entreprise. Pourtant, rien ne permet d'exclure un effet direct de la toxine Bt sur ces larves (que les auteurs qualifient de peu probable dans leurs conclusions). Mettant en évidence encore plus récemment des effets défavorables du MON810 aussi bien sur les larves de parasitoïdes que sur des adultes, et cela malgré de faibles niveaux de toxine Bt, Ramirez-Romero (2007) ont conclu qu'ils pouvaient effectivement être liés à un impact direct et qu'un tel risque justifiait une étude plus approfondie eu égard au rôle majeur des parasitoïdes contre les ravageurs. (En ce qui concerne les résultats de Vojtech et al., Monsieur Le Maho omet de préciser qu'il s'agit d'essais en serre et que les auteurs eux-mêmes se posent des questions sur la signification de ces résultats dans la pratique, ainsi les auteurs l'expriment par « *The question still remains as to how biologically relevant the negative effects found on parasitoids are for natural populations in the field. In other words, how can we relate ''worst-case'' lab studies to the ecological systems we wish to conserve.* ». Les travaux de Meissle et al. sont aussi des travaux de laboratoire et les mêmes remarques s'y appliquent. Evidemment la logique est de passer à l'étape suivante qui est celle de la mesure de l'effet sur le terrain si les essais ne sont pas détruits.)

En ce qui concerne la publication de Ramirez-Romrero, les données sont à vérifier sur le terrain. Dans notre banque de données il existe 23 références concernant l'impact des plantes Bt+ sur Cotesia spp. En général les résultats obtenus en laboratoire demandent à être confirmées sur le terrain.

Pour compléter l'investigation, on peut donner les tableaux publiés par Icoz & Stotzky (2008) :

Table 1
Summary of the effects of Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* on soil-dwelling invertebrates

Organism	Species	Study location	Experimental variable	Protein expressed	Effect of Cry proteins on organism	References
Woodlouse	*Porcellio scaber*	Laboratory	Fed biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No negative impact of *Bt* maize litter on consumption, reproduction, and growth	Escher et al. (2000)
Woodlouse	*Porcellio scaber*	Laboratory	Fed purified protein	Cry2A	No toxic effect	Sims (1997)
Woodlouse	*Porcellio scaber*	Laboratory	Fed biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Fed significantly less on *Bt* maize than on non-*Bt* maize during a feeding period of 20 d	Wandeler et al. (2002)
Woodlouse	*Porcellio scaber*	Laboratory	Fed leaves of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No toxic effect	Pont and Nentwig (2005)
Pillbug Sowbug	*Armadillidium nasatum* and *Trachelipus rathkii*	Laboratory	Fed purified protein or leaves of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No adverse effects on survival and growth	Clark et al. (2006)
Collembola	*Folsomia candida* *Xenylla grisea*	Laboratory	Addition of four purified proteins to diet	Cry1Ab Cry1Ac Cry2A Cry3A	No effect on survival or reproduction during 21 d	Sims and Martin (1997)
Collembola and Mite	*Folsomia candida* *Oppia nitens*	Laboratory	Fed leaves of *Bt* and non-*Bt* cotton or leaves of *Bt* and non-*Bt* potato	Cry1Ab Cry1Ac	No significant effects on oviposition, numbers of eggs, and body length	Yu et al. (1997)
Collembola	*Folsomia candida*	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize or *Bt* and non-*Bt* cotton	Cry1Ab Cry1Ac	No effects on numbers	USEPA (2001)
Collembola and Mites	Natural populations	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry3Bb1	No deleterious effects on numbers of collembolans and mites in soil	Al-Deeb et al. (2003)
Collembola and Mites	Natural populations	Laboratory	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize in pots	Cry1Ab	Lower collembolan abundance and higher mite populations under *Bt* maize	Griffiths et al. (2006)
Collembola	*Folsomia candida*	Laboratory	Fed leaves of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No effect on survival and reproduction	Clark and Coats (2006)

)

Collembola	*Folsomia candida* *Heteromurus nitidus* *Sinella coeca*	Laboratory	Fed dried leaves of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No effect on survival Species specific effects in distributions and feeding preference	Bakonyi et al. (2006)
Collembola	Natural populations	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant differences in population density	Lang et al. (2006)
Collembola	*Protaphorura armata*	Laboratory	Fed purified protein or biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No effect of purified or *Bt* maize-Cry1Ab protein on growth and reproduction	Heckmann et al. (2006)
Nematodes	*Caenorhabditis elegans*	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry3Bb1	No deleterious effects on numbers in soil with *Bt* maize compared with non-*Bt* soil	Al-Deeb et al. (2003)
Nematodes	Natural populations	Laboratory	Soil planted to *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant differences in numbers between soils with *Bt* and non-*Bt* maize	Saxena and Stotzky (2001b)
Nematodes	Natural populations	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant effect on communities and biodiversity between soils planted with *Bt* and non-*Bt* maize	Manachini and Lozzia (2002)
Nematodes	*Caenorhabditis elegans*	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Lower abundance in soils with *Bt* maize than with non-*Bt* maize	Manachini and Lozzia (2003)
Nematodes	Natural populations	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* eggplant	Cry3Bb1	No effect on community structure	Manachini et al. (2003)
Nematodes	Natural populations	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* canola	Cry1Ac	A distinct shift in community structure with *Bt* canola when compared with non-*Bt* isoline	Manachini et al. (2004)
Nematodes	Natural populations	Laboratory	Fed purified protein	Cry1Ab	Negative correlation between the reproduction of the nematodes and the protein	Höss et al. (2004)
Nematodes	Natural populations	Laboratory	Fed purified protein	Cry1Ab	Negative effects on eggs and juveniles	Meadows et al. (1990)
Nematodes	Natural populations	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Significantly lower abundance in soils with *Bt* maize than with non-*Bt* maize	Griffiths et al. (2005)
Nematodes	*Acrobeloides* spp. *Pratylenchus* spp.	Laboratory	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize in pots	Cry1Ab	Significantly higher populations under *Bt* maize than non-*Bt* maize	Griffiths et al. (2006)
Nematodes	*Caenorhabditis elegans*	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Negative effect of Cry1Ab protein on growth, number of eggs, and reproduction	Lang et al. (2006)
	Pratylenchus spp.	Field	Cultivation of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No effects	

)

Table 2
Summary of direct effects of Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* on the diversity of microbes and other organisms in soil

Organism	Experimental variable	Protein	Effect on biodiversity	References
Culturable bacteria and fungi	Soil with *Bt* and non-*Bt* cotton	Cry1Ac	A significant, but transient, increase in numbers in soil with *Bt* cotton	Donegan et al. (1995)
Culturable bacteria, fungi, and protozoa	Soil amended with purified protein versus unamended soil	Cry1Ab Cry1Ac	No effect on bacteria, fungi, or protozoa when compared with control soil	Donegan et al. (1995)
Culturable aerobic bacteria and fungi	Soil with *Bt* and non-*Bt* potato	Cry3A	Minimal differences in numbers	Donegan et al. (1996)
Culturable bacteria, fungi, protozoa, nematodes, and earthworms	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize and soil amended with biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant differences in numbers between soils amended with biomass of *Bt* and non-*Bt* maize or in rhizosphere soil of *Bt* and non-*Bt* maize grown in a plant-growth room	Saxena and Stotzky (2001b)
Bacteria, fungi, and algae	Purified protein added to pure and mixed cultures	Cry1Ab Cry3A Cry4	No effect on growth of bacteria, fungi, and algae	Koskella and Stotzky (2002)
Heterotrophic bacterial and saprophytic fungal populations and carbon-cycling microorganisms (cellulolytic, amylolytic, proteolytic) and arbuscular mycorrhizae	Inoculation of soybean with spores of *Btk*, and its purified ICP protein was added	Cry1Ab	No effect on the populations when compared with uninoculated soil Some transient differences in numbers when compared with uninoculated soil No effect on arbuscular mycorrhizae when inoculated with ICP protein but colonization by fungi inhibited when inoculated with spores of *Btk*	Ferreira et al. (2003)
Microbial activity and bacterial community structure	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry3Bb1	No effects on microbial activity (N-mineralization, short-term nitrification rate, and soil respiration) or bacterial community structure	Devare et al. (2004)
Rhizosphere bacterial community	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No differences in community structure between *Bt* and non-*Bt* maize by CLCP, but differences in community structure by ARISA, dependent on plant age and type	Brusetti et al. (2004)
Rhizosphere bacterial community	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab Cry1F	No significant effects on bacterial and fungal PLFA profiles. However, small significant effect of Cry proteins on community structure observed by CLPP	Blackwood and Buyer (2004)
Total aerobic culturable bacteria, actinomycetes, and fungi	Flooded soils amended with *Bt* and non-*Bt* rice straw	Cry1Ab	No toxic effects on the numbers of total aerobic culturable bacteria, actinomycetes, and fungi	Wu et al. (2004a)
Arbuscular mycorrhizal fungus	Rhizosphere soil of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Significantly lower presymbiotic hyphal growth of mycorrhizae in soil with *Bt* maize than with non-*Bt* maize	Turrini et al. (2004)
Composition of soil microbiota	Rhizosphere soils of *Bt* cotton versus herbicide-tolerance (Roundup Ready®) cotton	Cry1Ac	Significantly different microflora in soil with *Bt* cotton residues than in soil with herbicide-tolerant cotton (by microscopic observations)	Gupta and Watson (2004)
Composition of soil microbiota	Rhizosphere soils of *Bt* and non-*Bt* cotton	Cry1Ac	More extensive fungal colonization in soil with *Bt* cotton than in soil with non-*Bt* cotton; higher ratios of fungi to bacteria in soil with *Bt* cotton than in soil with non-*Bt* cotton; different types of fungal spores in soil with *Bt* cotton than in soil with non-*Bt* cotton	Gupta and Watson (2004), Gupta et al. (2002)

)

Culturable heterotrophic bacteria and mycorrhizae	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Differences between soil with *Bt* and non-*Bt* maize: significantly lower level of mycorrhizal infection by *Glomus mosseae* in roots of *Bt* maize	Castaldini et al. (2005)
Culturable bacteria and fungi	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize, and soil with *Bt* and non-*Bt* potato	Cry1Ab	Lower ratio of gram-positive to gram-negative bacteria in soil with *Bt* maize than in soil with non-*Bt* maize, and no differences in the ratio of fungi to bacteria	Xue et al. (2005)
		Cry3A	Higher ratio of gram-positive to gram-negative in soil with *Bt* potato than non-*Bt* potato, and no differences in the ratio of fungi to bacteria	
Culturable bacteria and fungi; activities of some enzymes	Soil amended with biomass of *Bt* and non *Bt*-maize	Cry1Ab	No significant differences	Flores et al. (2005)
Culturable functional bacteria (potassium-dissolving bacteria, inorganic phosphate-dissolving bacteria, and nitrogen-fixing bacteria)	Rhizosphere soils of *Bt* and non-*Bt* cotton	Cry1Ac	Increased numbers of culturable functional bacteria in soil of non-*Bt* cotton than in soil of *Bt* cotton in early and middle growth stages of cotton; no significant differences in numbers after the growing season	Rui et al. (2005)
	Soils amended with purified protein versus unamended soil		No effects on numbers of culturable functional bacteria	
Protozoa	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize in the field	Cry1Ab	Significantly lower protozoa population in soils with *Bt* maize than with non-*Bt* maize.	Griffiths et al. (2005)
	Soils with *Bt* and non-*Bt* maize in pots in greenhouse		Significantly higher protozoa populations in soils with *Bt* maize than with non-*Bt* maize.	Griffiths et al. (2006)
Microbial biomass and activity of enzymes	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant differences	Lang et al. (2006)
Functional diversity of microbial communities and activity of some enzymes	Soil with *Bt* and non-*Bt* cotton	Cry1Ac	No adverse effects of *Bt* cotton on soil ecosystem	Shen et al. (2006)
Microbial populations and activity of enzymes	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab Cry3Bb1	No consistent significant effects on numbers of culturable bacteria, gram-negative bacteria, chitin- and cellulose-utilizing bacteria, nitrifyers, denitrifiers, protozoa, and fungi by plate and MPN counts; no differences on microbial community structure by DGGE; and no consistent significant effects on activities of some enzymes (arylsulfatases, acid and alkaline phosphatases, dehydrogenases, proteases)	Icoz et al. (2007)
Microbial biomass	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry3Bb1	No adverse effects of *Bt* maize on microbial biomass	Devare et al. (2007)

)

Table 3
Summary of indirect effects of Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* on the diversity of microbes and other organisms in soil

Organism	Experimental variable	Protein	Effect on biodiversity	References
Microbial populations	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize and purified protein	Cry1Ab	No direct effects of Cry protein, but effects of plant characteristics	Donegan et al. (1995)
Rhizosphere bacterial community	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Soil type was most important factor affecting the composition of community	Blackwood and Buyer (2004)
Rhizosphere bacterial community	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Bacterial community structure in soil of *Bt* maize was less affected by the Cry protein than by other environmental factors	Baumgarte and Tebbe (2005)
Rhizosphere bacterial diversity	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Rhizosphere bacterial diversity affected more by soil texture than by cultivation of *Bt* varieties	Fang et al. (2005)
Microbial community, protozoa, and nematodes	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Small changes in microbial and macrofaunal communities depended more on cultivars, soil type, and plant growth stage than on presence of the Cry protein	Griffiths et al. (2005, 2006)
Fusarium graminearum and *Trichoderma atroviride*	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No direct effect of Cry1Ab protein. Differences between soil with *Bt* and non-*Bt* maize depended more on the chemical composition of the maize tissue	Naef et al. (2006)
Microbial populations and activities of some enzymes	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab Cry3Bb1	Differences between *Bt* and non-*Bt* maize were affected more by plant varieties and season (sampling date), and they were transient	Icoz et al. (2007)

)

Table 4
Summary of the effects of *Bt* crops on microbe-mediated processes and functions in soil

Process/function	Experimental variable	Protein	Effect	References
Phosphatases, dehydrogenases, and methanogenesis	Soils amended with *Bt* and non-*Bt* rice straw	Cry1Ab	Increased activities in soil of phosphatases and dehydrogenases, as well as an increase in methanogenesis, after the addition of transgenic *Bt* rice straw to flooded soil	Wu et al. (2004b)
Proteases, neutral phosphatases, urease, and anaerobic respiration			No significant differences in activities	Wu et al. (2004b)
Arylsulfatases, phosphatases, dehydrogenases, and proteases	Soils amended with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No differences in the activities of enzymes between soil with *Bt* and near-isogenic non-*Bt* maize	Flores et al. (2005)
Catalase, dimethylsulphoxide reductase, β-glucosidase, and arginine deaminase	Soils with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant differences in the activities of enzymes between soils with *Bt* and non-*Bt* maize during 4 years of maize cultivation	Lang et al. (2006)
Ureases, alkaline phosphatases, dehydrogenases, phenol oxidases, and proteases	Soil with *Bt* and non-*Bt* cotton	Cry1Ac	No differences in the activities of enzymes between soil with *Bt* and near-isogenic non-*Bt* cotton	Shen et al. (2006)
Arylsulfatases, phosphatases, dehydrogenases, and proteases	Soils with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab Cry3Bb1	No consistent, significant differences in the activities between soil with *Bt* and non-*Bt* maize during 4 years of maize cultivation	Icoz et al. (2007)
Ureases, acid phosphomonoesterases, invertases, cellulases, and arylsulfatases	Soils amended with *Bt* and non-*Bt* cotton	Cry1Ac	The addition of biomass of *Bt* cotton to soil stimulated the activities of all enzymes, except that of arylsulfatase, which was inhibited	Sun et al. (2007)
CO_2 evolution	Soils with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Lower evolution of CO_2 in soils planted to *Bt* maize than to non-*Bt* maize	Dinel et al. (2003)
CO_2 evolution	Soils amended with biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Lower evolution of CO_2 from soils amended with biomass of *Bt* maize than with biomass of non-*Bt* maize	Devare et al., 2004
CO_2 evolution	Soils amended with biomass of various *Bt* and non-*Bt* plants	Cry1Ab Cry1Ac Cry3A	Lower evolution of CO_2 from soils amended with biomass of *Bt* maize, rice, potato, cotton, canola, and tobacco than with biomass of near-isogenic non-*Bt* counterparts	Flores et al. (2005)
CO_2 evolution	Soils amended with biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No differences between soils with *Bt* and non-*Bt* maize during growth. Lower evolution of CO_2 from soils amended with biomass of *Bt* maize than of non-*Bt* maize	Castaldini et al. (2005)
Decomposition rate (CO_2 production)	Soils with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No differences in the decomposition of *Bt* and non-*Bt* maize	Hopkins and Gregorich (2003)
Decomposition rate	Soils with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Very small differences in the rate of decomposition of *Bt* and non-*Bt* maize	Gupta and Watson (2004)
N-mineralization	Soils with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry3Bb1	No differences in potential aerobic N-mineralization	Devare et al. (2004)
N-mineralization	Soils amended with *Bt* and non-*Bt* maize residues	Cry1Ab	No consistent differences in N-mineralization	Mungai et al. (2005)
N-mineralization	Soils amended with biomass of *Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No effect on decomposition processes	Cortet et al. (2006)
N mineralization potential and nitrification and respiration rates	Soil with *Bt* and non-*Bt* maize	Cry3Bb1	No adverse effects of *Bt* maize on N mineralization potential and on nitrification and respiration rates	Devare et al. (2007)
Chemical composition	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	*Bt* maize had higher content of starch and lignin and lower content of protein and soluble N than non-*Bt* maize	Masoero et al. (1999)
Chemical composition	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No differences in chemical composition of *Bt* (event Bt11) and isogenic non-*Bt* maize tissues	Folmer et al. (2002)

)

Chemical composition	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No consistent differences	Mungai et al. (2005)
C:N ratio, lignin, carbohydrates	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Lower C:N ratio and lignin content and higher content of soluble carbohydrates in *Bt* maize (event Bt11) than in non-*Bt* maize	Escher et al. (2000)
Lignin content	*Bt* and non-Bt maize	Cry1Ab	Higher lignin content in *Bt* maize (events Bt11, MON810, 176) than in near-isogenic non-*Bt* maize	Saxena and Stotzky (2001a)
Lignin content	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No differences in lignin content of 12 *Bt* maize hybrids (events MON810 and Bt11) and isogenic non-*Bt* maize	Jung and Sheaffer (2004)
Lignin content	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Higher lignin content in *Bt* maize than in non-*Bt* maize; *Bt* maize decomposed less in soil than non-*Bt* maize	Flores et al. (2005)
Lignin content	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	Higher content of lignin in *Bt* maize (events MON810 and 176) than in near-isogenic non-*Bt* maize	Poerschmann et al. (2005)
Lignin content	*Bt* and non-*Bt* maize	Cry1Ab	No significant differences between *Bt* (events MON810 and 176) and near-isogenic non-*Bt* maize	Lang et al. (2006)

)

En sus des travaux cités dans son avis par le CPHA, Schmidt et al. (2004) rapportent une toxicité inattendue de Cry1AB chez la coccinelle *Adalia bipunctata*. Il convient évidemment d'en rechercher la cause (pour Monsieur Le Maho, cet article va de la page 419 à 1422 (ce qui est une erreur), l'impact relevé par Monsieur Le Maho dans cette publication concerne des coccinelles traitées directement avec des toxines extraites de Bt, en revanche des coccinelles nourries sur des acariens élevés sur maïs Bt ou sur aubergines Bt n'ont pas de paramètres de traits de vie différents. Le résumé de l'article explique: « *Strains of the soil bacterium Bacillus thuringiensis (Bt) produce a series of insecticidal toxins, some of which can be synthesized by transgenic crop plants. Results of several studies question the frequently proclaimed effect-specificity of such Bt-plants and raised concerns of possible threats for natural enemies, e.g. lady beetles, of pests in agro-ecosystems. We studied the effects of the Bt-toxins Cry1Ab (lepidopteran-toxic) and Cry3Bb (coleopteran-toxic) on the predaceous lady beetle species Adalia bipunctata and Stethorus punctillum (Coleoptera: Coccinellidae) under climate chamber conditions. Larvae of the two species differ in their diet spectrum. Experiments with A. bipunctata followed a bitrophic-toxicological approach. Larvae were fed with Ephestia eggs which had been sprayed with activated toxin (Cry1Ab or Cry3Bb) solutions of different concentrations (5, 25, 50 µg/ml). Experiments with S. punctillum were performed in a tritrophic system, in which the larvae were allowed to prey on spider mites (Tetranychus urticae (Acarina: Tetranychidae)), which fed on Cry1Ab-expressing maize (Zea mays) and Cry3Bb-expressing aubergine (Solanum melongena). Juvenile stages of A. bipunctata showed a significantly higher mortality rate when reared on Cry1Ab sprayed food, while mortality in feeding trials with Cry3Bb was only significantly higher in treatments with 25 µg/ml when compared to the control. Effects on development time were not significant for either toxin. Compared with the respective isogenic lines, mortality and development time of S. punctillum juvenile stages were not significantly different in treatments with Cry1Ab expressing transgenic maize and Cry3Bb expressing aubergine. However, both life history parameters were higher in the aubergine treatments than in the maize treatments.*"). De même, pour ce qui concerne les travaux de Harwood et al. (2005), cités par le CPHA dans son avis, ces faits nouveaux montrent que des arthropodes herbivores non cibles et des arthropodes prédateurs ingèrent Cry1AB dans le champ lorsqu'ils se nourrissent de maïs Bt (La phrase telle qu'elle est libellée par Monsieur Le Maho implique qu'il y ait des arthropodes prédateurs et aussi herbivores). Comme le reconnaît l'entreprise, l'innocuité de cette ingestion reste à démontrer (D'accord avec ceci). De même, le fait que le comportement de larves d'insectes non cibles élevées en laboratoire sur un milieu avec anthères Bt puisse être modifié (Prasifka et al., 2007) est suffisamment inquiétant pour qu'une étude plus conforme à la réalité du champ soit entreprise (cet article concerne le papillon monarche, nous saurions trop conseiller à Monsieur Le Maho de lire la méta-analyse de Bergé & Ricroch sur ce sujet, *ibidem*).

Pour ce qui suit nous conseillons de nouveau à Monsieur Le Maho de consulter la méta-analyse de Bergé & Ricroch, 2008 *ibidem*.

Comme l'indique l'Avis du CPHA, Obrist et al. (2006) ont démontré la présence de la toxine Cry1AB dans la chaîne trophique. Jusqu'à présent, on ne pouvait se baser que sur des études de laboratoire difficilement extrapolables en plein champ. L'étude de la toxine Cry1AB dans la chaîne trophique va donc enfin permettre d'étudier en laboratoire l'impact des quantités réellement observées en plein champs sur les organismes non cibles, cette étude en milieu contrôlé étant la seule façon de parvenir à isoler véritablement les effets de la toxine.

Pour ce qui concerne les invertébrés aquatiques, l'Avis du CPHA a cité les travaux de Douville et al. (2005), qui montrent une persistance de l'ADN de *Bacillus thuringiensis* Cry1AB dans les eaux de surface au Canada, sans que ses conséquences ne soient identifiées (1- Le rapport du CPHA cite Douville et al., 2006 ; 2- La publication de Douville et al., 2005 ne porte pas sur la détection du DNA comme le laisse penser Monsieur Le Maho, mais sur celui de la transprotéine Cry1Ab et les auteurs concluent « *Preliminary field surveys indicate that Cry1Ab is fairly uncommon in aquatic environments, being found only at trace concentrations when it is detected* » ; 3- La recherche sur la dispersion du DNA a été publiée dans « M. Douville, F. Gagne, C. Blaise, C. Andre, 2007. Occurrence and persistence of Bacillus thuringiensis (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. Ecotoxicol Environ Saf. 2007 Feb. 66(2):195-203 » qui n'est pas citée par Le Maho). De même, le CPHA a cité les travaux de Rosi-Marshall et al. (2007), qui ont apporté des résultats préliminaires indiquant un impact des produits secondaires du maïs Bt dans les réseaux d'irrigation sur la croissance d'un trichoptère, *Lepidostoma libia*. Ces résultats sont contestés par l'entreprise (page 21 de son analyse), mais les nouveaux résultats de Bohn et al. (2008), qui montrent également des effets défavorables à long terme sur la croissance de *Daphnia magna* nourrie avec des résidus de maïs MON810, devraient inciter à étudier sérieusement les risques des cultures transgéniques pour les vertébrés aquatiques (1) Les daphnies sont des invertébrés (arthropodes comme le mentionne Bohn dans son texte) et non des vertébrés comme l'indique Monsieur Le Maho ; 2) Les expériences effectuées par Bohn et al., sont des expériences de laboratoire dans lesquelles l'exposition au risque semble irréaliste ce qui amène l'auteur à discuter la validité d'une nourriture constituée à 100% par du maïs.)

En ce qui concerne les effets des plantes transgéniques sur la faune microbienne du sol, le CPHA a fait référence aux travaux de Saxena et Stotzky (2005) (Dans l'avis du CPHA, la seule publication citée dans le paragraphe « Effets biologiques et microbiologiques » est celle de Crecchio & Stotzky 2001 non mentionnée par Le Maho), qui effectivement montrent que l'exposition aux protéines Cry dans le sol est possible. L'avis fait aussi référence aux travaux de Mulder et al., (2006). Leurs résultats, complétés depuis (Mulder et al. 2007 Cette référence n'a pas été citée par le CPHA ; Raubuch et al. 2007), montrent un éphémère mais important pic dans la respiration bactérienne sur maïs MON810. Griffiths et al. (2005, 2006 et 2007) (Ces deux dernières références n'ont pas été citées par le CPHA), se sont intéressés à la faune microbienne du sol et à la structure des communautés de nématodes. Leurs travaux montrent un impact réduit du maïs Bt par rapport à d'autres effets, comme par exemple celui de la nature du sol. Mais en fait, les travaux du CPHA ont surtout mis en évidence la pauvreté des études et connaissances sur le transfert de gènes des plantes transgéniques vers les bactéries. (Voir tous les travaux du groupe de P. Simonet à Ecole centrale de Lyon dont une publication récente est :
Demanèche S, Sanguin H, Poté J, Navarro E, Bernillon D, Mavingui P, Wildi W, Vogel TM, Simonet P, 2008. Antibiotic-resistant soil bacteria in transgenic plant fields. PNAS, March 11, 2008, vol. 105, no. 10, 3957–3962.
Voir aussi :

Badosa E, Moreno C, Montesinos E, 2004. Lack of detetction of ampicillin resistance gene transfer from Bt176 transgenic corn to culturable bacteria under field conditions. FEMS Microbiol Ecol 48: 169-178.
Ces publications examinent la possibilité de transfert de transgène de maïs vers les bactéries du sol en utilisant les gènes de résistance aux antibiotiques comme traceurs.).

Plusieurs remarques faites par Monsieur Le Maho ci dessus sont contestables à la lecture de la revue publiée par Icoz & Stotzki, 2008 (Icoz I, Stotzky G, 2008. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 40(3) : 559-586.).

- Il est observé que la société Monsanto évoque d'autres cultures que le maïs Bt dans son argumentaire (Monsieur Le Maho utilise la même tactique dans son argumentaire et de façon beaucoup plus éhontée que dans le document de Monsanto.).
- Si le CPHA ne se fonde pas exclusivement sur des études liées à des espèces européennes, c'est que ces études sont trop peu nombreuses (voir les 48 publications référencées en 2007 et 2008 et citées précédemment).
- Il a été prouvé que la protéine Cry1Ab est plus ou moins rémanente dans les milieux. On la retrouve dans les sols jusqu'à 350 jours, elle est également présente dans les milieux aquatiques (voir tableau 5 de Icoz et Stotzky 2008 pour avoir une connaissance non biaisée des résultats sur ce sujet).
- Diverses études présentes des résultats à approfondir sur différentes espèces (lombrics, coléoptères, daphnies, parasitoïdes) (Monsieur Le Maho devrait mettre à jour sa bibliographie au vu de toutes les références que nous avons données ci-dessus. Monsieur Le Maho pourra trouver de nombreuses autres références dans les revues suivantes : Icoz et Stotzky (2008) ; Romeis Jörg, Anthony M. Shelton & George G. Kennedy, 2008. Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs. Book Series - Progress in Biological Control - Volume 5 ; Romeis J, (Jörg), Detlef Bartsch, Franz Bigler, Marco P Candolfi, Marco M C Gielkens, Susan E Hartley, Richard L Hellmich, Joseph E Huesing, Paul C Jepson, Raymond Layton, Hector Quemada, Alan Raybould, Robyn I Rose, Joachim Schiemann, Mark K Sears, Anthony M Shelton, Jeremy Sweet, Zigfridas Vaituzis & Jeffrey D Wolt, 2008. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. Nature Biotechnology, February 2008, Volume 26 No 2 pp203-208). En effet se sont pour la plupart des études à court terme ne recouvrant pas la durée de rémanence de la molécule dans les milieux (comme indiqué précédemment il faut savoir si Monsieur Le Maho parle des rémanences en conditions de laboratoire ou en conditions naturelles (voir tableau 5 dans Icoz et Stotzky, 2008. De plus, la revue de Romeis et al. Nature Biotech jan 2006 n'est pas citée et celle de M. Marvier (Marvier M, McCreedy C, Regetz J, Kareiva P, 2007. A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. Science. 2007 Jun 8; 316(5830):1475-7) a peine effleurée par Le Maho. Ces méta-analyses indiquent un effet nul ou très faible (moins de prédateurs ou parasitoïdes spécialisés de l'insecte cible dans le champ Bt, mais doit-on éviter cela).Cela montre qu'il y a déjà des données nombreuses en champ et que leurs résultats ne justifient pas d'alarmisme, bien au contraire (lire le résumé de Romeis). Dans ce contexte, nous ne pouvons pas dire qu'il n'y a pas eu d'études en champ).
Les travaux sur lesquels la Société Monsanto s'appuie pour affirmer l'innocuité de la protéine Bt n'ont pas la robustesse scientifique nécessaire permettant de justifier cette affirmation. Les études actuelles concernant la faune non cible européenne sont insuffisantes (voir les références que nous avons cités précédemment), mais comportent suffisamment d'indices pour susciter des inquiétudes (surtout quand on sait que les impacts dus aux PGM sont du même ordre que ceux dus aux effets des rotations culturales, aux modifications climatiques ou autres facteurs environnementaux – voir Bergé, Ricroch, 2008). Le manque de connaissances sur les impacts sur

cette faune et en particulier sur la faune européenne (voir les remarques déjà faites sur ce sujet) doit être comblé du fait de l'importance de ces populations dans le fonctionnement des écosystèmes.

REMARQUE GENERALE : certaines études réclamées par Le Maho relève de la biovigilance (à faire dans des vrais champs après culture en conditions réelles) et n'ont que peu de portée écologique a petite échelle (et encore moins si on ne peut pas faire d'essais en champ en France !). Curieusement le terme biovigilance n'existe pas dans son texte.

II. Le comité de préfiguration a fait état de questions insuffisamment prises en compte ou nouvelles comme devant être prises en considération dans l'évaluation des impacts de tout OGM.

- **Santé.**

(Cet aspect relève de l'expertise biomédicale)

L'entreprise maintient avec constance que le MON 810 est « pratiquement » équivalent au maïs conventionnel. Mais en termes de santé on ne peut plus se satisfaire d'une telle approximation. Comme l'a rappelé l'Avis du CPHA, la protéine produite par le transgène n'est pas identique à celle que produit le Bacille de Thuringe et ses propriétés en termes de repliement, de modification post-traductionnelle, de biodégradabilité, de rémanence ou de spécificité, et donc de toxicité humaine et environnementale potentielle, peuvent être différentes de celles de la toxine Cry1Ab naturelle. Par rapport à la protéine Cry1Ab produite naturellement par Bacillus thuringiensis, son intégration au génome du maïs a entraîné une recombinaison complexe (Rosati et al., 2008). La protéine naturelle et celle produite par MON810 n'ont pas les mêmes séquences primaires (enchaînement des acides aminés). De plus, celle produite par le MON 810 peut éventuellement être modifiées par addition de phosphates, de N-Acétylglucosamine, ou d'hexoses, qui peuvent entrainer un changement de la conformation spatiale de la protéine (Ahmad et al. 2006), de ses caractéristiques fonctionnelles, voire son pouvoir pathogène éventuel (Wang et al. 2007, Pang et al. 2007,Chen et al. 2006, Wells et al. 2004, Lüdemann et al. 2005) . Ce n'est pas le cas pour la forme naturelle de Cry1Ab car les bactéries ne sont pas dotées de ces possibilités de modifications post-traductionnelles (Dennis et al. 2006). Or, dans son analyse de l'Avis du CPHA , L'entreprise passe totalement sous silence les importantes interrogations soulevées par le Comité concernant ces différences.

Arguant de la mise en place d'un programme « sophistiqué » de suivi des effets non attendus de la culture du MON 810 dans l'Union européenne, l'entreprise affirme qu'aucune des évaluations des risques actualisées n'a permis d'identifier un quelconque danger ou quelconque risque qui n'ait précédemment été connu et évalué.

Quant à l'affirmation de l'entreprise selon laquelle il n'y a aucun risque, il faut préciser que seules des études toxicologiques de longue durée peuvent garantir que les plantes transgéniques puissent être consommées en toute sécurité par l'homme et l'animal. De plus, une traçabilité des éléments transgéniques est une condition indispensable à la réalisation de ces études épidémiologiques sans lesquelles toute affirmation est sans fondement en termes de santé publique. , Cette traçabilité n'est actuellement pas mise en oeuvre dans tous les pays utilisant les OGM. En fait, comme l'indique Domingo (2007) dans la conclusion de sa récente revue de la littérature sur la toxicologie des plantes transgéniques, la question reste toujours posée des travaux scientifiques démontrant l'innocuité des plantes transgéniques.

En raison des impacts possibles pour la santé humaine, plusieurs problématiques sont à prendre en compte :

1/ Il faut tenir compte de problèmes allergiques émergents liés à de nouveaux aliments ouaux procédés industriels dans l'alimentation (Wassenberg et al., 2007).On sait en particulier que le Cry1Ab engendre une réponse immunitaire dans le modèle rat (Kroghsbo et al., 2008).

2/ Des questions sont posées par les modifications de conformation des protéines. Les tests de toxicologie mis en oeuvre sur la protéine Cry1Ab sont loin de couvrir les champs de recherche nouveaux qui ont été révélés lors des récentes études sur les maladies à prions (CJD, maladie de la vache folle, tremblante du mouton ; contaminations et transplantations), qui ont eu un impact mondial important avec des effets néfastes sur la santé humaine et animale à cause de nouveaux procédés utilisés en agriculture, et qui sont liées à des modifications de conformation de protéines. En effet la protéine recombinante Cry1Ab n'a pas été testée selon les méthodes en cours dans le domaine de la recherche sur les prions (rats nouveau-nés et injections IC ou IP ; puis études de 120 à 300 jours minimum) (Liberski et Brown, 2007 ; Unterberger et Voigtländer, 2007). On se doit de souligner que de telles études auraient permis d'éviter la crise de « la vache folle », et plus récemment de celle de l'hormone de croissance touchant les jeunes enfants (Lewis et al., 2006 ; Pauli, 2005).

3/ Les études toxicologiques doivent désormais également viser la recherche des oncogènes.
Les tests sur animaux nouveau-nés sont aussi, et ce depuis longtemps, mis en oeuvre en oncologie virale et non-virale. Ils ont ainsi permis de découvrir les oncogènes, qui sont la cause de très nombreux cancers chez l'être humain (Gelman et al., 1993 ; Bonham et al., 1992; Hassan et al., 1990; Darlix et al., 2007).

4/ En l'absence de ce type de tests sur le long terme concernant la protéine recombinante Cry1Ab, son ARN messager, et le MON810, il paraît important de faire prévaloir le principe de précaution, sans préjuger d'actions futures à entreprendre en recherche et développement. Dans ce contexte, de tels tests devraient être entrepris de manière totalement indépendante de l'entreprise et en double aveugle. Une fois les résultats obtenus, ceux-ci devraient être rendus publics.

Indépendamment des précautions à prendre vis-à-vis de nouvelles pathologies aux mécanismes encore mal compris, alors que les autorisations se basent à l'heure actuelle sur des tests réalisés sur des seuls rats et sur seulement 90 jours, cette limitation dans l'investigation est loin de faire l'unanimité dans la communauté scientifique. Les tests usuels pour les additifs alimentaires et pour les pesticides sont réalisés sur au moins deux ans, sur plusieurs générations d'animaux, et sur plusieurs espèces de mammifères.. En outre, la puissance des méthodes statistiques utilisées est discutable, car elles apparaissent très peu sensibles aux différences, même si certaines d'entre elles sont significatives. Par ailleurs, au lieu d'être définie au départ, la procédure évolue en fonction des résultats obtenus. Pour les courbes de poids, il aurait fallu utiliser une technique statistique adaptée aux données longitudinales (Lavielle, 2007). En conclusion, le Comité a établi de sérieux doutes à la fois sur la méthodologie utilisée pour décider si une différence est significative ou non, que sur l'interprétation biologique des différences observées.

Par ailleurs, les scientifiques devraient avoir accès aux données originales sur les tests toxicologiques qui ont été utilisés. Bloquer leur diffusion, comme cela s'est produit dans les années précédentes en ce qui concerne les résultats des tests sur les rats nourris ou non avec du maïs MON 863, empêche l'avancée des connaissances scientifiques et est d'ailleurs contraire à la législation européenne (en particulier, à la Directive CEE/2001/18) et française. En réexaminant

ces résultats, Séralini et al. (2007) ont mis en évidence des différentes de variation de poids entre rats mâles et femelles, ainsi que des signes de toxicité hépatorénale. Une étude soutenue par l'entreprise (Doull et al., 2007) a ensuite contesté cette interprétation en arguant qu'une relation dose-effet n'avait pas été mise en évidence et parce que les résultats différaient en fonction du sexe.

En fait, le protocole de l'étude initiale de l'entreprise n'avait pas été établi de manière à pouvoir montrer une telle relation dose-effet car il se limitait à deux doses. Qui plus est, dans les troubles métaboliques et hormonaux, la réponse peut ne pas être linéaire. En tout état de cause, encore une fois, il est plus que jamais nécessaire de réaliser des tests toxicologiques de plus grande durée et pas seulement sur des rats. Faut-il le rappeler, la tragique histoire de la thalidomide et de son impact sur les foetus a été liée au fait que deux modèles animaux seulement furent utilisés.

Les protéines produites par le Bacille de Thuringe et celle produite par le MON 810 n'ont pas les mêmes séquences primaires
La protéine produite par le MON 810 peut être modifiée dans sa conformation spatiale par l'ajout d'éléments, ce qui peut avoir d'importantes conséquences quant à ses caractéristiques fonctionnelles et à son pouvoir pathogène éventuel.
La durée des tests toxicologiques est insuffisante et ils devraient être conduits sur différents modèles animaux.
Les tests de toxicologie suivis pour l'évaluation des plantes transgéniques ne couvrent pas les nouveaux domaines de la santé (maladies à prions, oncologie).

➔ En l'absence de tests sur le long terme de la protéine dans la configuration obtenue réellement produite par le MON 810, le principe de précaution devrait prévaloir.

(Bien que ces aspects relèvent d'une expertise biomédicale que nous ne pouvons pas conduire, nous avons tout même pris connaissance d'un rapport récent du JRC Européen dont les conclusions vont à l'encontre de ce qu'affirme Monsieur Le Maho pour le Mon810 :
The overall results of this study show that:

- There is a comprehensive body of knowledge that already adequately addresses current food safety issues including those dealing with GM products; it is considered by the experts as sufficient to assess the safety of present GM products.
- Developments in biotechnology will require even more sizeable efforts to maintain an adequate capacity to deal with novel products.
- Such R&D efforts need to be firmly inscribed in an international context
- It is essential that a forum is created where stakeholders meet regularly to share expertise, to identify areas of improvement, to forecast upcoming developments and to anticipate needs for scientific and technical efforts.

In Scientific and technical contribution to the development of an overall health strategy in the area of GMOs. JRC Report CT 30249. http://ec.europa.eu/dgs/jrc/index.cfm?id=2820&obj_id=232&dt_code=HLN&lang=en)

On peut donc conclure que pour, pour Mon810 au moins, les textes toxicologiques et leurs durées, les méthodes ont été validées par des toxicologues internationalement reconnues. Il ne semble pas être dans les compétences de Monsieur Le Maho de réinventer a lui tout seul la toxicologie.

- **Eléments économiques**

(L'expertise de cette partie est hors de notre compétence. On peut ajouter que les aspects économiques ne font pas pas partie des évaluations prévues par le Directive de 2001(elle-même demandée par la France !). Il est prévu d'autoriser les OGM surs et sains et non pas de spéculer sur des bénéfices économiques ou non. Ce genre de considérations est donc hors sujet dans le cadre reglementaire de la clause de sauvegarde.)

Le Comité a relevé les sérieuses faiblesses des évaluations économiques existantes. Il y a en effet de nombreuses incertitudes sur le rendement des cultures transgéniques du fait qu'il dépend en grande partie du niveau d'infestation, qui est très variable. Les publications existantes ont pour base une réduction de l'usage des pesticides sur les champs génétiquement modifiés et les arguments avancés par l'entreprise portent essentiellement sur des données économiques ne concernant pas le MON 810. Pourtant, les statistiques du Ministère de l'Agriculture américain indiquent que de 1994 à 2005, les plantes RoundUp Ready de l'entreprise ont provoqué une multiplication par 15 des quantités utilisées de RoundUp. Pour la seule année 2006, les quantités de pesticides utilisées pour le soja ont augmenté de 28%. En 2007, une agence gouvernementale brésilienne a indiqué une augmentation de 80% de l'utilisation du RoundUp au Brésil.

Puisque l'entreprise reconnaît pour MON 810 que sa stratégie vise à retarder au maximum le développement d'une résistance aux plantes transgéniques chez les ravageurs cibles, et que des traitements complémentaires aux pesticides sont nécessaires en cas de forte infestation ou pour éviter que des ravageurs secondaires deviennent primaires (Monsieur le Maho devrait donner des références bibliographiques concernant ces affirmations sur le maïs, voir nos commentaires dans le corps du texte), on ne peut continuer à faire l'impasse d'une analyse économique prenant en compte cette augmentation inéluctable de l'utilisation de pesticides.

Par ailleurs, les effets économiques plus globaux ne sont pas non plus pris en compte par l'entreprise. Ils ne sont pas spécifiques à MON 810 mais devraient obligatoirement être pris en compte : ils concernent par exemple la concentration du secteur des semences et des biotechnologies végétales, les brevets, les effets sur la diversité génétique cultivée, l'incidence économique des contaminations sur les autres filières et des mesures prises pour permettre la coexistence en les filières (isolement, analyses, transports, ségrégation des lots, externalités économiques et écologiques… (On ne peut être que d'accord avec cette remarque, mais il faudrait donner les voies pour étudier ou répondre à ces questions. Pour répondre aux premières questions que Monsieur Le Maho énumére, il faudrait développer des PGM dans un système tel que association public / privé par exemple ou association de la recherche publique européenne, … pour mettre en place des variétés GM pouvant entrer en compétition avec celles de Monsanto par exemple).

Après une économie initiale d'herbicides (je rappelle que le sujet est le maïs Mon810 résistant aux insectes) dans les cultures de plantes transgéniques par rapport aux cultures conventionnelles, le phénomène s'est inversé et cela dès 2002 pour le maïs.
Nécessité d'employer des insecticides complémentaires lors de fortes invasions de ravageurs primaires ou pour éradiquer les ravageurs secondaires devenus primaires (c'est sur coton).

➔ Une analyse socio-économique globale n'a pas encore été réalisée. Elle est indispensable.

CONCLUSION

Dans sa réponse du 30 janvier 2008 à l'Avis rendu par le Comité de préfiguration d'une haute autorité sur les organismes génétiquement modifiés le 9 janvier 2008, la Société Monsanto réitère son affirmation que la dissémination de MON 810 ne présente aucun risque, notamment si l'on se base sur « le nombre important de publications scientifiques confirmant l'innocuité de MON 810 ».

L'analyse de ces mêmes publications et du reste de la littérature scientifique, notamment des faits nouveaux parus depuis fin janvier 2008, montre de toute évidence que les données scientifiques en faveur d'une telle innocuité ne sont pas suffisamment robustes et n'autorisent pas scientifiquement une telle affirmation. Comme l'ont souligné la plupart des auteurs, y compris parmi ceux cités par la Société Monsanto, des études à plus long terme et de plus vaste spectre sont indispensables dans tous les domaines pour répondre aux sérieuses interrogations qui subsistent

(Nos remarques peuvent répondre à de nombreuses interrogations que Monsieur Le Maho pose.).

Références Bibliographiques

Agence européenne pour l'environnement (200) Signaux précoces et leçons tardives: le principe de précaution 1896–2000 Environmental issue report No 22

Ahmad I, Hoessli DC, Walker-Nasir E, Choudhary MI, Rafik SM, Shakoori AR; Nasir-ud- Din (2006) Phosphorylation and glycosylation interplay: protein modifications at hydroxy amino acids and prediction of signaling functions of the human beta3 integrin family. J Cell Biochem. 99(3):706-18.

Arpas, K., Toth, F., & Kiss, J. (2005). Foliage-dwelling arthropods in Bt-transgenic and isogenic maize: A comparison trough spider web analysis. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 40(2-3): 347 – 353.

Benbrook C. (2001). Do GM Crops Mean Less Pesticide Use? Pesticide Outlook Oct01, The Royal Society of Chemistry Journal 2001.

Benbrook C. (2003) GMOs, Pesticide Use, and Alternatives Lessons from the U.S. Experience Delivered at the Conference on GMOs and Agriculture, Paris, France, June 20, 2003. Available Online http://www.biotech-info.net/lessons_learned.pdf

Bohn, T, Primicerio, R., Hessen, D.O. & Traavik, T. (2008). Reduced fitness of *Daphnia magna* fed a Bt-transgenic maize variety. Archives of Environmental Contamination and Toxicology (in press).

Bonham L, MacKenzie K, Wood S, Rowe PB, Symonds G. Both myeloproliferative disease and leukemia are induced by transplantation of bone marrow cells expressing v-myc. Oncogene. 1992 Nov;7(11):2219-29.

Bourguet, D., Chaufaux, J., Micoud, A., Delos, M., Naibo, B., Bombarde, F., Marque, G., Eychenne, N. & Pagliari, C. (2002). Ostrinia nubilalis parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic Bacillus thuringiensis corn (Zea mays). Environmental Biosafety Research 1: 49 – 60.

Brunet, Y. (2006) On maize pollen transport in the atmospheric boundary layer. In 27^th Conference on Agricultural and Forest Meteorology, 17^th Symposium on Boundary Layers and Turbulence, 17^th Conference on Biometeorology and Aerobiology. San Diego, California, USA

Chen YX, Du JT, Zhou LX, Liu XH, Zhao YF, Nakanishi H, Li YM.(2006) Alternative OGlcNAcylation/ O-phosphorylation of Ser16 induce different conformational disturbances to the N terminus of murine estrogen receptor beta. Chem Biol. 13(9):923-4.

Darlix JL, Sitbon M. Prostate cancer leads to the discovery of a new human infectious retrovirus Med Sci (Paris). 2007;23(8-9):690-1.

Dennis RJ, Taylor EJ, Macauley MS, Stubbs KA, Turkenburg JP, Hart SJ, Black GN, Vocadlo DJ, Davies GJ.(2006) Structure and mechanism of a bacterial betaglucosaminidase having O-GlcNAcase activity. Nat Struct Mol Biol. 13(4):365-71.

Domingo, J. L. (2007). Toxicity studies of genetically modified plants: a review of the published literature. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47:8, 721 – 733.

Doull, J., Gaylor, D., Greim, H.A., Lovell,D.P., Lynch, B., Munro, I.C. (2007) Report of an Expert Panel on the reanalysis by Séralini et al. (2007) of a 90-day study conducted by Monsanto in support of the safety of a genetically modified corn variety (MON 863). Food Chem. Toxicol. 45, 2073-2085.

Douville, M., Gange, F., Masson, L., McKay, J. & Blaise, C. (2005). Tracking the source of Bacillus thuringiensis Cry1Ab endotoxin in the environment. Biochemical Systematics and Ecology 33: 219 – 232.

Fonseca, A. E., Westgate, M. E., Grass, L., Dornbos, D. L. Jr. (2003). Tassel morphology as an indicator of potential pollen production in maize. Crop Manag. Doi :10.1094/CM- 2003-0804-01-RS.

Gelman IH, Khan S, Hanafusa H. Morphological transformation, tumorigenicity and srcspecific cytotoxic T-lymphocyte-mediated tumor immunity induced by murine 3T3 cells expressing src oncogenes encoding novel non-myristylated N-terminal domains. Oncogene. 1993 Nov;8(11):2995-3004.

Griffiths, B., Caul, S., Thompson, J., Birch, A., Scrimgeour, C., Andersen, M., Cortet, J.,Messean, A., Sausse, C., Lacroix, B. and Krogh, P. (2005) A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and genetically modified maize expressing the Bacillus thuringiensis Cry1Ab toxin, Plant and Soil, 275, 135-146.

Griffiths BS, Caul S, Thompson J, Birch AN, Scrimgeour C, Cortet J, Foggo A, Hackett CA, Krogh PH. (2006) Soil microbial and faunal community responses to bt maize and insecticide in two soils. J Environ Qual. 2006 35:734-41.

Griffiths, B.S., Heckmann, L-H., Caul, S., Thompson, J.A., Scrimgeour, C. & Krogh, P.H. (2007). Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non-Bt maize on soil microbial and nematode community structure. Plant Biotechnology Journal 5: 60 – 68.

GuoPing L, KongMing W, Gould F, JianKang W, Jin M, XiWu G & G YuYuan (2007). Increasing tolerance to Cry1Ac cotton from cotton bollworm, Helicoverpa armigera, was confirmed in Bt cotton farming area of China. Ecological Entomology, vol. 32 (4) 366-375

Harwood J.D., Wallin, W.G., Obrycki, J.J. (2005) Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. Mol. Ecol. 14: 2815-2823

Hassan Y, Priel E, Segal S, Huleihel M, Aboud M. Chemical-retroviral cooperative carcinogenesis and its molecular basis in NIH/3T3 cells. Carcinogenesis. 1990 Dec;11(12):2097-102.

Huang, F., Leonard, B. R. and Wu, X. (2007) Resistance of sugarcane borer to Bacillus thuringiensis Cry1Ab toxin, Entomologia Experimentalis et Applicata, 124, 117- 123.

Jackson, R.E., Bradley, J.R., Jr., Van Duyn, J.W. & Gould, F. Comparative production of Helicoverpa zea (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic cotton expressing either one or two Bacillus thuringiensis proteins with or without insecticide oversprays. J. Econ. Entomol. 97, 1719-1725 (2004).

Jackson, R.E., Gould, F., Bradley, J.R., Jr. & Van Duyn, J.W. (2006) Genetic variation for resistance to Bacillus thuringiensis in Helicoverpa zea (Lepidoptera: Noctuidae) from eastern North Carolina. J. Econ. Entomol. 99, 1790–1797

James, C. (2006). Global status of commercialized biotech/GM crops: ISAA Brief 35 2006, 1–11.

Klein E.K., Lavigne C., Foueillassar X., Gouyon P.H., Laredo C. (2003) Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. Ecol. Monogr. 73 (1): 131-150.

Knols, B.G.J. & Dicke, M. (2003). Bt-crop risk assessment in the Netherlands. Nature Biotechnology 21: 973 – 974.

Krogh PH, Griffiths B, Demsar D, Bohanec M, Debeljak M, Andersen MN, Sausse C, Birch ANE, Caul S, Holmstrup M, Heckmann LH & J Cortet (2007). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. Pedobiologia, 51(3) 219-227

Kroghsbo S, Madsen C, Poulsen M, Schrøder M, Kvist PH, Taylor M, Gatehouse A, Shu Q, Knudsen I. (2008). Immunotoxicological studies of genetically modified rice expressing PHA-E lectin or Bt toxin in Wistar rats. Toxicology 245(1-2):24-34.

Lang, A., Lauber, E. & Darvas, B. (2007). Early-tier tests insufficient for GMO risk assessment. Nature Biotechnology 25: 35 – 36.

Lavielle M., (2007) Remarques sur les analyses statistiques effectuées au sujet du maïs MON810, note pour le comité de préfiguration

Lewis AM, Yu M, DeArmond SJ, Dillon WP, Miller BL, Geschwind MD. (2006) Human growth hormone-related iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease with abnormal imaging. Arch Neurol. 63(2):288-90.

Liberski PP, Brown P. (2007) Kuru-fifty years later. Neurol Neurochir Pol. 41(6):548-56. Review. PMID: 18224577 [PubMed - indexed for MEDLINE] Lüdemann N, Clement A, Hans VH, Leschik J, Behl C, Brandt R. (2005) O-glycosylation of the tail domain of neurofilament protein M in human neurons and in spinal cord tissue of a rat model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). J Biol Chem. 280(36):31648-58.

Marvier M., McCreedy C., Regetz J., Kareiva P. (2007) A Meta-Analysis of Effects of Bt Cotton and Maize on Nontarget Invertebrates. Science 316 (5830): 1475 - 1477

Meissle, M., Vojtech, E. & Poppy, G.M. (2005). Effects of Bt maize-fed prey on the generalist predator Poecilus cupreus L. (Coleoptera: Carabidae). Transgenic Research 14: 123 – 132.

Messéan A., Angevin F., Gómez-Barbero M., Menrad K., Rodríguez-Cerezo E., (2006). New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture, Technical Report Series, EUR 22102 En, 112 p

Messéan A. & Angevin F. (2007). Coexistence measures for maize cultivation: lessons from gene flow and modelling studies. Proceedings of the third international conference about coexistence GMCC07, Seville, 20-21 November 2007, pp 23-26

Messean A. (2008) Faisabilité de la coexistence chez le maïs: leçons tirées des études de flux de gènes et de la modélisation. Note dans le cadre des travaux du comité de préfiguration de la haute autorité des biotechnologies, Paris, janvier 2008.

Mulder C, Wouterse M, Raubuch M, Roelofs W, Rutgers M. (2006). Can transgenic maize affect soil microbial communities? PLoS Comput Biol. 2(9): e128

Mulder, C., Wouterse, M., Rutgers, M. & Posthuma, L. (2007). Transgenic maize containing the Cry1Ab protein ephemerally enhances soil microbial communities. Ambio 36(4): 359 – 361.

Nguyen H.T., Jehle J.A. (2007) Quantitative analysis of the seasonal and tissue-specific expression of Cry1Ab in transgenic maize Mon810 Journal of Plant Diseases and Protection, 114 (2), 82–87,

Obrist L.B., Dutton A., Albajes, R., Bigler, F. (2006) Exposure of arthropod predators to Cry1Ab toxin in Bt maize fields. Ecol. Entomol. 31: 143–154

Pagel-Wieder S, Niemeyer J, Fischer WR & F Gessler (2007). Effects of physical and chemical properties of soils on adsorption of the insecticidal protein (Cry1Ab) from Bacillus thuringiensis at Cry1Ab protein concentrations relevant for experimental field sites. Soil Biology and Biochemistry, 39 : 3034-3042

Pang CN, Hayen A, Wilkins MR.(2007) Surface accessibility of protein post-translational modifications. J Proteome Res. 6(5):1833-45. Epub 2007 Apr 12.

Pauli G. (2005) Tissue safety in view of CJD and variant CJD. Cell Tissue Bank. 6(3):191-200. Review.

Prasifka P.L., Hellmich R.L., Prasifka J.R., Lewis L.C. (2007). Effects of Cry1Ab-expressing corn anthers on the movement of monarch butterfly larvae. Environ Entomol 36(1): 228-233

Qayum A., Sakkhari K. (2005) Bt Cotton in Andrha Pradesh – A three year assessment. Deccan Development Society, produced by BOOKSLINE.

Quist D., Chapela I.H. (2001) Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. Nature 414: 541-543.

Ramírez-Romero, R., Bernal, J.S., Chaufaux J. & Kaiser, L. (2007). Impact assessment of Bt maize on a moth parasitoid, Cotesia marginiventris (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. Crop Protection 26: 953 – 962.

Raubuch, M., Roose, K., Warnstorff, K., Wichern, F. & Joergensen, R.G. (2007). Respiration pattern and microbial use of field-grown transgenic Bt-maize residues. Soil Biol. Biochem. 39(9): 2380-2389

Rosati A., Bogani P., Santarlasci A. (2008) Characterisation of 30 transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. Plant Mol Biol 67:271–281

Rosi-Marshall E. J., Tank J. L., Royer T. V., Whiles M. R. , Evans-White M., Chambers C., Griffiths N.A., Pokelsek J., Stephen M. L.. (2007) Toxins in transgenic crop byproducts may affect headwater stream ecosystems. Proc. Nat. Acad. Sci. 104 (41): 16204-16208.

Saxena, D., Flores, S. & Stotzky, G. (2002). Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events. Soil Biol. Biochem. 34: 133 – 137.

Saxena, D. and Stotzky, G. (2005) Release Of Larvicidal Cry Proteins In Root Exudates Transgenic Bt Plants. ISB News Report, pp. 1-3.

Schmidt, J.E.U., C.U. Braun, C. L'Abate, L.P. Whitehouse & A. Hilbeck. (2004). Studies on effects of Bacillus thuringiensis-toxins from transgenic insectresistant plants on predaceous lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae). Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie 14(1-6): 419 – l422.

Séralini G.E., Cellier D., Spiroux de Vendomois J. (2007) New Analysis of a Rat Feeding Study with a Genetically Modified Maize Reveals Signs of Hepatorenal Toxicity. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 52, 596–602

Sivasupramaniam S, Head GP, English L, Li YJ & TT Vaughn (2007). A global approach to resistance monitoring. Journal of Invertebrate Pathology, Vol 95, Issue 3, July 2007, 224-226, Special Issue for SIP 2007

Szekeres, D., Kadar, F., & Kiss, J. (2006). Activity density, diversity and seasonal dynamics of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in Bt-(MON810) and in isogenic maize stands. Entomologica Fennica 17(3): 269 – 275.

Tabashnik, B.E., Gassmann, A.J., Crowder, D.W., Carrière, Y. (2008). Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. Nature Biotechnology. 26 : 199-202.

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

U.S. Environmental Protection Agency. The Environmental Protection Agency's White Paper on Bt Plant-Pesticide Resistance Management (EPA Publication 739-S-98–001) (Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, 1998). <www.epa.gov/EPAPEST/1998/January/Day-14/paper.pdf>

Unterberger U, Voigtländer T. (2007) The pathogenic mechanisms of prion diseases. CNS Neurol Disord Drug Targets. 6(6):424-55.

Van Rensburg J.B.J. (2007) First report of field resistance by the stem borer, Busseola fusca (Fuller) to Bt-transgenic maize. S. Afr. J. Plant Soil 24: 147-151

Vojtech, E., Meissle, M. & Poppy, G.M. (2005). Effects of Bt Maize on the herbivore Spodoptera littoralis (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid Cotesia marginiventris (Hymenoptera: Braconidae). Transgenic Research 14: 133 – 144.

Wang S, Just D.R. Pinstrup-Andersen P & HE Babcock (2006). Tarnishing Silver Bullets: Bt Technology Adoption, Bounded Rationality and the Outbreak of Secondary Pest Infestations in China. Selected Paper prepared for presentation at the American

Agricultural Economics Association Annual Meeting Long Beach, CA, July 22-26, 2006

Wang Z, Pandey A, Hart GW (2007) Dynamic interplay between O-linked Nacetylglucosaminylation and glycogen synthase kinase-3-dependent phosphorylation. Mol Cell Proteomics. 6(8):1365-79. Epub 2007 May 16.

Wassenberg J, Ciuffreda D, Bart PA, Leimgruber A, Spertini F (2007). Modern nutrition and development of new allergies. Rev Med Suisse. 3(108):1032-4, 1036-7.

Wells L, Kreppel LK, Comer FI, Wadzinski BE, Hart GW.(2004) O-GlcNAc transferase is in a functional complex with protein phosphatase 1 catalytic subunits. J Biol Chem. 279(37):38466-70.

Zwahlen C., Hilbeck A., Howald R., Nentwig W. (2003) Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm Lumbricus terrestris. Mol. Ecol. 12: 1077-1086

Zwahlen, C. & Andow, D.A. (2005) Field evidence for the exposure of ground beetles to Cry1Ab from transgenic corn. Environmental Biosafety Research 4:113-117.