

Comité de Surveillance Biologique du Territoire

**Avis du Comité de Surveillance Biologique du Territoire sur
la mise en place d'un suivi des effets non intentionnels de
la culture de maïs génétiquement modifiés résistants à des
insectes (MON810, Bt11, 1507)**

Janvier 2012

Sommaire

1. Introduction.....	4
1.1 Objet.....	4
1.2 Objectifs généraux de la biosurveillance.....	4
1.3 Champ d'investigation de la biosurveillance.....	4
1.4 Articulation de la biosurveillance	5
2. Organisation du travail.....	6
3. Démarche de sélection des espèces à surveiller.....	6
3.1 Espèces cibles et non cibles	7
3.2 Exposition.....	7
3.3 Valeur économique, patrimoniale ou écologique.....	9
4. Espèces à surveiller.....	10
4.1 Espèces bioagresseurs.....	10
4.2 Espèces non cibles.....	11
4.2.1 Espèces dont l'exposition directe aux maïs transgéniques est attendue	11
4.2.2 Espèces dont l'exposition indirecte aux maïs transgéniques est attendue	11
4.3 Espèces patrimoniales	12
5. Dispositions pour les deux niveaux de la biosurveillance, générale et spécifique.....	12
5.1 Dispositifs de surveillance spécifique	12
5.1.1 Surveillance spécifique liée au risque de résistance des insectes cibles.....	12
5.1.2 Surveillance spécifique liée au risque "mycotoxines"	13
5.1.3 Parcelles de référence.....	14
➤ Constitution d'un réseau de parcelles de référence.....	14
➤ Territorialisation des parcelles de référence	14
5.2 Dispositif de surveillance générale.....	15
5.3 Echéance	18
6. Collecte des données paysagères et culturelles.....	18
7. Validation des protocoles.....	18
8. Saisie et agrégation des données	18
9. Analyse et valorisation des résultats.....	19
ANNEXE 1 - Liste des membres du GT1 du CSBT	20
ANNEXE 2 - Plan de surveillance post commercialisation (PSPC) de maïs <i>Bt</i> sous la responsabilité du pétitionnaire : progrès et limites	21

ANNEXE 3 - Tableaux de classement des espèces ayant une exposition directe* avec le maïs.....	27
ANNEXE 4 - Tableaux de classement des espèces ayant une exposition indirecte* avec le maïs.....	30
ANNEXE 5 - Synthèse bibliographique sur les effets non intentionnels des maïs génétiquement modifiés résistants à des insectes (MON810, Bt11, 1507).	32
ANNEXE 6 - Méthode proposée pour surveiller l'éventuelle apparition de résistance de la pyrale à la toxine Cry1Ab	36
ANNEXE 7 - Le risque lié aux mycotoxines dans le cadre de la surveillance des effets non intentionnels des cultures de maïs <i>Bt</i>	39
ANNEXE 8 - Fiche de données paysagères et culturales.....	44

1. Introduction

1.1 Objet

Le présent document propose la mise en place d'un réseau spécifique de surveillance des effets non intentionnels de la culture des plantes génétiquement modifiées résistantes à des insectes (événements MON810, Bt11, 1507), en réponse aux objectifs dictés par la saisine de la Direction générale de l'alimentation (DGAI) au CSBT en date du 16 mars 2011.

1.2 Objectifs généraux de la biosurveillance

Le réseau national de surveillance de la mise en culture des maïs génétiquement modifiés, dits "MON810, Bt11, 1507", doit permettre d'observer les effets non intentionnels potentiels de ces événements de transformation sur les espèces cibles et non cibles, en particulier les espèces auxiliaires. Ces événements de transformation portent des transgènes qui confèrent à la plante une protection permanente contre certains ravageurs du maïs, en particulier la pyrale et la sésamie. Les événements MON810 et Bt11 expriment la toxine CryIAb, alors que l'événement 1507 exprime la toxine CryIF.

Cette surveillance biologique du territoire vise à la maîtrise des risques par la détection et le suivi des effets non intentionnels des plantes génétiquement modifiées (PGM) concernés sur les écosystèmes.

1.3 Champ d'investigation de la biosurveillance

Notre périmètre de travail est centré sur le territoire Métropolitain. Cela se justifie par les faibles surfaces consacrées à la culture de maïs dans les systèmes agricoles des DOM-TOM, mais également par la nature largement différente des cortèges d'espèces rencontrées sur ces territoires, et enfin par le manque de connaissances des relations entre ces cortèges faunistiques et la plante concernée.

Bien que les maïs Bt11 et 1507 développent une tolérance au glufosinate d'ammonium (caractère non revendiqué par le pétitionnaire) en complément de la biosynthèse de protéines Cry pour la résistance à certains insectes, le plan de biosurveillance détaillé ici se focalisera sur les aspects de contrôle des insectes et leurs conséquences. Les effets non intentionnels sur les communautés végétales d'événements de transformation conférant une tolérance à un herbicide font l'objet d'un travail spécifique du CSBT, et concomitant à celui-ci (cf. sous-groupe de travail 2). Par ailleurs, la surveillance des effets non intentionnels de l'usage conventionnel d'herbicides pour la protection du maïs contre les plantes adventices relèvent de l'avis du CSBT en date du 30 juin 2011 (cf. sous-groupe de travail 4).

Il y aura lieu également de s'assurer, pour chaque plan de surveillance, que les témoins isogéniques des variétés porteuses de tel ou tel événement soient présentes dans le dispositif. En effet, lorsque les variétés de maïs porteuses de l'événement MON 810 étaient autorisées à la culture (de 1998 à 2008), une trentaine de variétés le possédait. L'événement MON 810 s'intégrait ainsi dans un génome particulier, conférant aux variétés des caractéristiques agronomiques propres ou de résistances à tel ou tel ravageur, par exemples. Chaque variété a donc un comportement différent dans l'environnement, indépendamment de l'événement commun MON 810. La comparaison sera faite avec la variété considérée comme quasi-isogénique dans les plans de surveillance. Il sera cependant nécessaire d'intégrer des observations supplémentaires sur une gamme de

variétés commerciales dans l'environnement proche. Ces observations complémentaires permettront, dans quelques sites identifiés, de relativiser les écarts reproductibles qui résulteraient localement de l'absence d'homologie au transgène près entre la variété génétiquement modifiée et le cultivar quasi-isogénique (utilisation de la gamme ou « range » de variétés commerciales recommandée par l'EFSA).

De même, la problématique de la dissémination du pollen issu de maïs transgéniques et celle de la coexistence des différentes filières ne s'inscrivent pas dans le périmètre du CSBT.

Finalement, les recommandations de mise en place des zones refuges qui sont destinées à diminuer ou à retarder l'apparition de phénomènes de résistance chez les insectes cibles ne relèvent pas de nos propositions. Par contre, l'efficacité de la mise en place des zones refuges sera évaluée par la surveillance spécifique de l'apparition d'éventuels phénomènes de résistance chez les espèces cibles des maïs transgéniques.

Dans cet avis, le CSBT acte les principales caractéristiques de la biosurveillance (choix des espèces, type d'effets à surveiller etc.) mais il reviendra aux acteurs de terrain retenus par les autorités compétentes, de se concerter pour définir finement les critères de choix des parcelles de référence et les protocoles détaillés, adaptés aux réalités du terrain et aux spécificités des territoires.

Les structures pressenties pour être opératrices dans le plan de biosurveillance (chambres d'agriculture, FREDON/FDGON, ITA, coopératives et négociants, organisations professionnelles et associations) devront s'appuyer sur les outils existants pour définir précisément des modalités opérationnelles pertinentes. Une attention toute particulière devra être portée afin de maîtriser les connaissances pour l'identification des espèces, ainsi qu'aux coûts induits par rapport aux bénéfices attendus. De même, il sera indispensable de prendre en compte dans les protocoles, la dimension de l'exploitation statistique des données recueillies (cf. § 7, p. 21).

1.4 Articulation de la biosurveillance

Au niveau européen, l'Agence européenne de sécurité alimentaire (AES/EFSA) indique dans ses lignes directrices de juillet 2011 (EFSA Journal, 2011 9(8), 2316) que deux sortes de biosurveillance doivent être diligentées : une biosurveillance spécifique et une biosurveillance générale qui sont les fondements d'un plan de surveillance post-commercial mis en œuvre par le pétitionnaire (Annexe 2). L'Agence souligne que les états membres sont responsables de la coordination des différents plans de surveillance opérés sur leurs territoires.

De ce guide directeur, de la directive 2001/18/CE et du règlement (CE-1829/03), il ressort que la biosurveillance doit être considérée comme une articulation entre une surveillance générale et une surveillance spécifique :

- Le plan de surveillance générale observe d'éventuels effets non intentionnels non anticipés sur la santé humaine et animale, ainsi que sur l'environnement. Ainsi, le plan de surveillance générale vise à mettre en évidence les changements non prévisibles .
- Le plan de surveillance spécifique teste des hypothèses sur d'éventuels effets négatifs de la plante génétiquement modifiée dans le cadre de son utilisation et de

l'évaluation du risque environnemental. Le plan de surveillance spécifique est destiné à mettre en évidence les changements prévisibles.

Nous verrons par la suite que les espèces que nous proposons de surveiller sont issues d'une analyse bibliographique des risques d'apparition chez ces espèces d'effets non intentionnels des plantes transgéniques considérées. Ainsi, les espèces sélectionnées ont toutes fait l'objet d'une ou plusieurs études (la plupart en conditions contrôlées) mettant en relation les effets biologiques mesurés avec le maïs transgénique testé. Toutefois, par mesure de clarté et pour être en accord avec les directives européennes, nous distinguerons d'une part la surveillance spécifique qui concernera les espèces cibles des maïs transgéniques (et les effets indirects possibles sur la mycoflore), et d'autre part la surveillance générale qui visera les espèces non cibles. Notre rapport abordera ces différents niveaux de façon successive.

2. Organisation du travail

Chaque étape du travail a fait l'objet d'une étude par un sous-groupe de travail du CSBT, nommé GT1, composé de 9 experts qui se sont réunis à 7 occasions (Annexe 1). Certaines étapes du travail ont nécessité l'aide d'une expertise réalisée par des spécialistes externes au GT1. La synthèse des réflexions du sous-groupe a ensuite été analysée et discutée par le CSBT réuni en sessions plénières les 17 mars, 8 juin et 6 octobre 2011.

Les données économiques relatives à la mise en œuvre du programme national de biosurveillance dans les différentes régions françaises n'ont pas été prises en compte et relèveront principalement, dans un second temps, de l'analyse de la DGAI. Cette dernière devra également définir les tâches des différents opérateurs, dont le pétitionnaire, et l'articulation à opérer entre les tâches de chacun.

Cet avis constitue une première étape des travaux du CSBT sur la question des effets non intentionnels de la culture des plantes génétiquement modifiées résistantes à des insectes (MON810, Bt11, 1507). Il a été élaboré dans un temps limité de réflexion et de consultation de manière à répondre dans les délais fixés à la saisine du Ministère en charge de l'agriculture afin de préparer une éventuelle mise en place des premiers réseaux de surveillance.

3. Démarche de sélection des espèces à surveiller

Autant le choix des espèces cibles des maïs transgéniques à surveiller peut s'appuyer sur de solides données, autant la démarche de sélection des espèces non cibles à surveiller se confronte à des lacunes de connaissances. Pour atteindre un dispositif de surveillance à l'efficacité optimale, la stratégie usuelle consiste à observer des espèces indicatrices de guildes regroupant un large nombre d'espèces aux traits biologiques comparables. Puisque le manque de connaissances actuelles rend difficile voire impossible cette stratégie, nous proposons d'appliquer dans un premier temps une surveillance fine de nombreuses espèces non cibles. A l'issue de cette phase, un important réajustement du dispositif pourra être réalisé, et en particulier la liste des espèces à surveiller.

Il nous a semblé important de détailler les espèces à surveiller, puisque ce niveau taxonomique correspond à celui sur lequel nous disposons d'études scientifiques ayant

évalué les effets non intentionnels des plantes transgéniques. Par ailleurs, nous avons utilisé ce même niveau taxonomique pour sélectionner les guildes animaux à surveiller pour leur valeur économique, patrimoniale ou écologique. Toutefois, lors de la phase d'analyse des données, il sera important de rechercher d'éventuels effets non intentionnels sur la structure des communautés, et donc de ne pas uniquement considérer les différentes espèces appartenant à la même communauté indépendamment les unes des autres. Il est en effet reconnu qu'une perturbation du milieu peut se traduire par la sur-représentation de certaines espèces, concomitante à la sous-représentation d'autres.

Afin de sélectionner les espèces sur des critères scientifiques et techniques, elles ont été dans un premier temps classées à l'aide d'une stratégie d'analyse des risques, à savoir en fonction de leur exposition et de leur sensibilité aux toxines telles qu'elles sont décrites dans les dossiers d'évaluation ou dans la littérature (Annexes 3 et 4).

Le schéma séquentiel de notre démarche pour sélectionner les espèces à surveiller est présenté dans la figure 1.

3.1 Espèces cibles et non cibles

➤ Les espèces cibles des événements de transformation MON810, Bt11 ou 1507 correspondent aux organismes chez lesquels la nuisibilité sur les cultures de maïs en France métropolitaine et la pression de sélection par les maïs considérés sont reconnues. Ces espèces, chez qui l'apparition de phénomènes de résistance peut être attendue, sont les suivantes :

- Pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*)
- Sésamie du maïs (*Sesamia nonagrioides*)
- Noctuelles (*Scotia ipsilon*, *Scotia* (= *Agrotis*) *segetum*, *Helicoverpa armigera*).
Mythimna (*Cirphis*) *unipuncta*¹

➤ Les espèces non cibles potentiellement exposées aux toxines ont été recensées, à partir de la revue bibliographique (Annexe 5), en les classant selon leur niveau d'exposition, leur valeur économique, écologique ou patrimoniale, et leur sensibilité aux protéines Cry1Ab et Cry1F. Les espèces ont été regroupées selon leur rôle fonctionnel d'après la classification proposée par l'EFSA (EFSA Journal 2010;8(11):1879).

3.2 Exposition

Le niveau d'exposition a été évalué par le croisement entre les relations trophiques connues entre l'espèce non cible et le maïs et le niveau d'expression de la toxine dans les organes du maïs à la base de la chaîne trophique (graines, racines, tiges, feuilles, sève, pollen, épis, miellat ; Tableau 1). Ce travail a pu s'appuyer sur des données de teneur en toxines dans les organes du maïs MON810. Par contre des données équivalentes manquent à ce jour dans les sols, de même que dans la sève élaborée des maïs Bt11 et 1507 et dans les racines du maïs 1507. Les travaux sur le devenir des toxines à travers les chaînes trophiques sont peu nombreux rendant plus difficile la caractérisation des expositions indirectes des espèces non cibles aux toxines.

¹ Cette espèce est présente épisodiquement dans les régions proches des Pyrénées. Mais s'agissant d'une espèce migratrice venant de la péninsule ibérique où le maïs est largement cultivé, il convient de l'inclure dans les dispositifs de surveillance.

Figure 1 : Schéma séquentiel de sélection des espèces à surveiller.

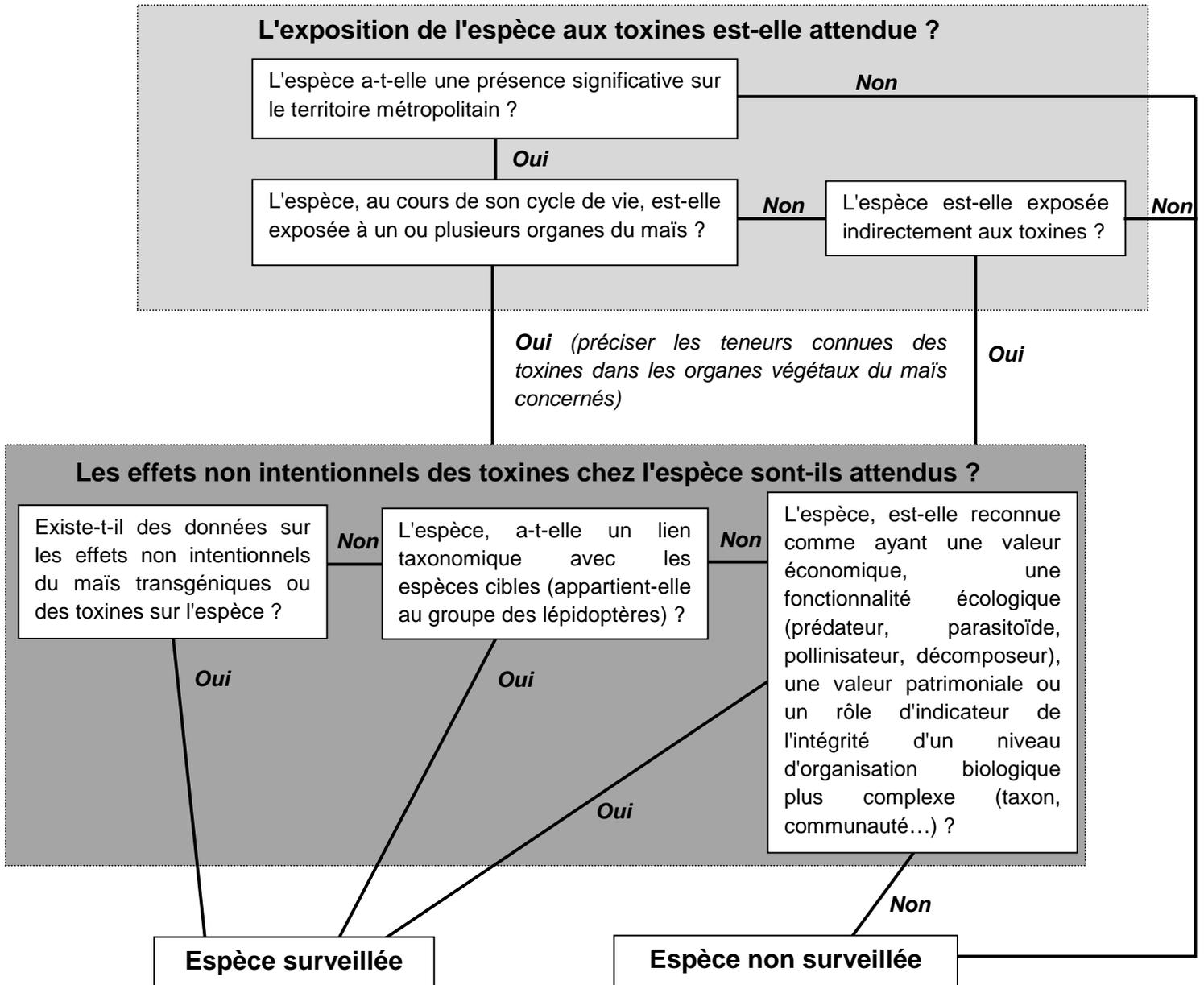


Tableau 1 : Informations considérées sur la teneur en toxines du sol et des organes végétaux.

Événement de transformation	Sol (matière organique)	Sève élaborée	Grains	Pollen	Racines	Tiges, feuilles
MON810	faible à nulle à dire d'experts	Non détecté dans phloème (Raps et al. 2001 cité par Dutton et al. 2003)	0,19 - 0,69 µg/g de matière fraîche (pétitionnaire)	0,47 µg/g de matière fraîche (Székács et al. 2010)	1,53 - 3,83 µg/g de matière fraîche (Székács et al. 2010)	Feuilles : 7,59 - 10,51 µg/g de matière fraîche (pétitionnaire) ; 6,12 - 9,83 µg/g de matière fraîche (Székács et al. 2010) ; Tiges : 1,0 - 1,79 µg/g de matière fraîche (Székács et al. 2010)
Bt11	faible à nulle à dire d'experts	faible à nulle à dire d'experts	48 ng/mg des protéines totales (= 1,5 µg/g de matière fraîche) (avis CS HCB 16/04/10)	1 ng/mg des protéines totales (résultats obtenus sous serre) (avis CS HCB 16/04/10) 0.008 - 0.100 µg/g de matière sèche (EFSA, 2011)	pas de données trouvées	Feuilles : 218 ng/mg des protéines totales (= 5 µg/g matière fraîche) (avis CS HCB 16/04/10) ; Tiges : 260 ng/mg des protéines totales (=3,8 µg/g de matière fraîche) (avis CS HCB 16/04/10)
1507	faible à nulle à dire d'experts	faible à nulle à dire d'experts	0 - 4 µg/g (EPA 2010)	16,4 - 27,2 µg/g (EPA 2010)	faible à moyenne à dire d'experts	Feuilles : 0 - 24 µg/g (EPA 2010)

L'exposition des espèces est définie comme directe ou indirecte. Dans le premier cas, il n'existe pas de niveau trophique entre l'espèce considérée et le maïs (Annexe 3). Il s'agit alors essentiellement d'espèces en contact directement avec le maïs lors de leur cycle de vie. Dans le second cas, il existe au moins un niveau trophique entre le maïs et l'espèce (Annexe 4). Dans ce cas, l'exposition peut s'effectuer *via* la consommation de la proie ou le parasitisme de l'hôte. La littérature distingue deux types d'effets indirects : ceux provoqués par la toxicité de la toxine sur l'espèce auxiliaire, de la dégradation de la qualité trophique de la proie et ceux qui résultent de la réduction de l'abondance des proies. Parmi les espèces à effets indirects, nous ne retenons pas les espèces pour lesquelles aucun risque d'effets négatifs des maïs transgéniques considérés n'est attendu, d'après l'état des connaissances actuelles sur l'existence d'une exposition aux toxines et d'effets toxiques.

3.3 Valeur économique, patrimoniale ou écologique

Concernant la valeur économique des espèces, elle est de plusieurs sortes : soit il s'agit d'espèces chez lesquelles la nuisibilité sur les cultures de maïs en France métropolitaine est reconnue mais qui ne sont pas visées par les événements transgéniques ; soit il s'agit d'espèces auxiliaires de l'agriculture. Parmi les espèces auxiliaires, on accorde une attention particulière aux espèces pollinisatrices et à celles prédatrices ou parasitoïdes de bioagresseurs.

Malgré une sensibilité non attendue, certaines espèces considérées couramment comme devant faire l'objet de mesures de sauvegarde et de protection, de par leur rareté, leur

esthétisme, les services qu'elles rendent, ou leur caractère indicateur de la qualité des milieux, doivent être surveillés. Pour des raisons de concision, ces espèces seront appelées "espèces patrimoniales" dans la suite du document.

4. Espèces à surveiller

4.1 Espèces bioagresseurs

L'ensemble des insectes bioagresseurs du maïs connus à ce jour sur le territoire métropolitain doivent faire l'objet d'une surveillance :

- *Sesamia nonagrioides** (Sésamie)
- *Ostrinia nubilalis** (Pyrale du maïs)
- *Agrotis ipsilon*, *Scotia* (= *Agrotis*) *segetum*, *Scotia* (= *Agrotis*) *exclamationis*, *Helicoverpa armigera*, *Mythimna unipuncta*, *Luperina testacea*, *Autographa gamma* (Noctuelles)
- *Plodia interpunctella*, *Nemapogon granella*, *Plutella xylostella* (Teignes)
- *Angustalius malacellus*, *Angustalius malacellus* (Cambridae)
- *Pharmacis lupulina* (Hepialidae).

Les deux principales espèces ciblées par les toxines Cry1Ab et Cry1F produites respectivement par les maïs transgéniques MON810, Bt11 et 1507 sont la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) et la sésamie (*Sesamia nonagrioides*). Ces espèces cibles des maïs transgéniques doivent faire l'objet d'une surveillance particulière pour mesurer leur niveau de résistance. Par ailleurs, des résultats antérieurs montrent que, concernant plus particulièrement la toxine Cry1F, les maïs transgéniques exprimant cette toxine sont efficaces contre certaines espèces de noctuelles, en particulier *Scotia ipsilon* (Babcock et Bing, 2003). Sur ces deux espèces, il est proposé, dans un premier temps, que l'abondance de leurs populations respectives soit surveillée *in situ*, avant que d'éventuels protocoles plus fins de suivi des phénomènes de résistance soient élaborés, si l'importance de ces populations s'avère progresser au cours du temps.

La culture des maïs transgéniques résistants à des insectes est susceptible de modifier les pratiques agronomiques et peut ainsi changer les relations inter-spécifiques entre les espèces de bioagresseurs. Les processus de compétition entre les espèces peuvent être tout particulièrement affectés, débouchant sur de potentielles recrudescences de ravageurs considérés en premier lieu comme secondaires. C'est pourquoi la liste des espèces de bioagresseurs à surveiller ne se limite pas aux espèces cibles des maïs transgéniques.

Finalement, parmi les effets non intentionnels possibles de la culture des maïs transgéniques, l'incidence du contrôle des lépidoptères foreurs (pyrale et sésamie, ravageurs) sur la mycoflore associée et les mycotoxines doit être prise en considération. Des travaux réalisés en France (Folcher et al., 2009a, 2010) ont observé que les conséquences de ce contrôle de l'entomofaune provoquaient une modification de la mycoflore inféodée au maïs et des teneurs en mycotoxines observées à la récolte (Annexe 7). Il conviendrait à

partir de ces observations de réaliser une surveillance spécifique du risque lié aux mycotoxines, tout comme sur les maïs conventionnels.

4.2 Espèces non cibles

4.2.1 Espèces dont l'exposition directe aux maïs transgéniques est attendue

Les espèces apiformes pollinisatrices sont reconnues comme peu sensibles aux toxines étudiées, toutefois elles présentent un caractère d'indicateurs du service de pollinisation et cette communauté a par ailleurs une relation trophique forte avec le pollen de maïs. Les espèces suivantes sont donc à surveiller : *Apis mellifera* (abeille domestique), *Bombus terrestris*, *Bombus lapidarius*, *Bombus pascuorum agrorum* (bourdons communs).

Dans le compartiment sol, les espèces de lombrics à considérer pour leur participation au maintien de la qualité des sols appartiennent aux genres suivants : *Aporrectodea*, *Lumbricus*, *Enchytraeus*. Concernant les microorganismes telluriques, la biomasse microbienne est une variable indicatrice synthétique de la rhizosphère qui doit être prise en compte.

Les espèces invertébrées aquatiques, et indicatrices de la qualité des eaux, seront considérées dans les dispositifs de surveillance uniquement au cas par cas, en fonction de la structure paysagère des sites expérimentaux et tout particulièrement en présence de surfaces aquatiques proches des parcelles de maïs transgéniques. Parmi les macroinvertébrés benthiques des eaux douces, les espèces surveillées seraient : *Daphnia magna* (Daphnies), *Trichoptera lepidostoma liba*, *Heliospyche borealis* (Trichoptères).

Les vertébrés terrestres, tels que les oiseaux et les petits mammifères, sont susceptibles de se nourrir dans des parcelles de maïs transgéniques (feuillage, grains, ou encore arthropodes), ils seront donc potentiellement exposés aux toxines Cry (par voie directe et/ou indirecte).

4.2.2 Espèces dont l'exposition indirecte aux maïs transgéniques est attendue

Les insectes prédateurs ou parasitoïdes d'espèces bioagresseurs du maïs, qui par conséquent peuvent être exposés indirectement aux toxines, et chez qui des effets non intentionnels sont retrouvés dans la littérature (Annexe 5), sont les suivants :

- Hyménoptères parasitoïdes de larves de Lépidoptères (Braconidae : *Macrocentrus sp.*)*
- Diptères parasitoïdes de larves de Lépidoptères (Tachinidae : *Lydella thompsoni*, *Pseudoperichaeta nigrolineata*, *Pseudoperichaeta palesoidea*, *Voria ruralis*, *Actia pilipenni*)*
- Coléoptères prédateurs Coccinellidae (*Coccinella septempunctata*, *Harmonia axyridis*, *Propylea quatuordecimpunctata*, *Adalia bipunctata*)
- Coléoptères prédateurs Carabidae (*Dermetrias atricapillus*, *Harpalus spp.*, *Bembidion spp.*, *Poecilus cupreus*, *Agonum dorsale*, *Trechus spp.*, *Platysma vulgare*)*
- Neuroptères prédateurs (Chrysopidae : *Chrysoperla spp.*)**
- Héteroptères prédateurs Anthocoridae (*Orius spp.*, *Nabis roseipennis*)

- Araneae prédatrices*.

Dans les groupes d'espèces marqués avec un astérisque, l'abondance des individus dans les parcelles est citée dans la littérature comme particulièrement dépendante de celle des hôtes ou des proies.

4.3 Espèces patrimoniales

Bien que chez les papillons diurnes, le risque d'exposition soit réduit puisque aucune espèce n'est reconnue comme inféodée spécifiquement au maïs, de par leur proximité phylogénétique avec les espèces cibles, associée souvent à une valeur patrimoniale ou indicatrice, ils doivent faire l'objet d'une attention particulière. Le choix s'est orienté vers les espèces communes dans les agrosystèmes, et plus précisément dans les couverts herbacés en bords de parcelle : Hespérides tachetées, Hespérides orangées, Cuivrés, Lycènes bleus, Aurores, Piérides blanches, Souci, Paon du jour, Demi-deuil, Vulcain, Citron, Gazé, Machaon, Flambé, Pocris, Amaryllis, Myrtil, Petite tortue, Tabac d'Espagne, Tircis, Mégères, Robert le diable, Belle dame.

La liste des espèces lépidoptères non cibles et indicatrices pourra à l'avenir être modifiée d'après l'acquisition de nouvelles connaissances sur le danger des toxines dans cette communauté, qui est à l'heure actuelle trop réduite.

Certains mammifères, ou certaines espèces appartenant à l'avifaune, au gibier, sont considérés comme des espèces patrimoniales et doivent faire l'objet d'une surveillance (grand hamster d'Alsace, rat musqué, lièvre d'Europe, renard roux, blaireau d'Europe, oiseaux). Les dispositifs de surveillance générale à mettre en œuvre devront alors s'appuyer sur les plans de surveillance actuellement en place.

5. Dispositions pour les deux niveaux de la biosurveillance, générale et spécifique

Notre dispositif de surveillance spécifique est orienté sur la détection d'une possible résistance des espèces cibles suivant en cela les avis de l'EFSA mais également sur la prise en compte d'un risque émergent concernant les mycotoxines.

Concernant les espèces à surveiller non cibles des maïs transgéniques, nous nous inscrivons dans la surveillance générale, mais tout en proposant de mettre en place des protocoles fins adaptés à la mise à l'épreuve d'hypothèses précises selon lesquelles les cultures de maïs étudiées pourraient entraîner des effets non intentionnels pour la biodiversité fonctionnelle.

5.1 Dispositifs de surveillance spécifique

5.1.1 Surveillance spécifique liée au risque de résistance des insectes cibles

Les bioagresseurs animaux et végétaux ont vocation à être suivis par le réseau d'épidémiosurveillance des cultures, qui doit, dans son action de surveillance biologique du territoire, inclure progressivement le suivi des phénomènes de résistances des

bioagresseurs aux molécules antiparasitaires. Ce réseau pourrait être mobilisé en ciblant sur les différents couples existants entre les événements de transformation et leurs espèces cibles.

La surveillance spécifique de la résistance de la pyrale et de la sésamie implique de prélever des individus (généralement des larves) dans des parcelles de maïs non transgénique à proximité de parcelles de maïs transgénique, et si possible dans des zones refuges².

Cette surveillance devra passer par des analyses de laboratoire réalisées sur certains stades (prélevés au terrain) des espèces à suivre. Pour ces analyses, la démarche classique reposant sur la comparaison de doses létales obtenues chez des individus sensibles et chez les individus exposés aux toxines, ne s'avère pas être la plus pertinente si l'objectif est de mettre en évidence des changements précoces dans la structure des populations. En effet, les allèles de résistance aux toxines *Bt* exprimées par les maïs transgéniques visés peuvent être considérés comme rares et récessifs. La démarche classique n'est donc pas suffisamment sensible pour jouer un rôle d'alerte. Dans ce contexte, nous pouvons proposer la méthode dite "F2 screen" qui est décrite dans plusieurs études comme plus pertinente de par sa meilleure sensibilité (Andow et Alstad, 1998, 1999 ; Andow et Ives, 2002). Les détails de l'argumentaire et de la méthode proposée sont donnés dans l'annexe 6. Cette méthode est recommandée dans les aires géographiques où les cultures de maïs transgénique sont les plus fréquentes dans le temps et dans l'espace (« hot spots »), et exclusivement sur les pyrales du maïs polyvoltines.

Les autres espèces de ravageurs du maïs qui doivent faire l'objet d'une surveillance sont :

- *Agrotis ipsilon*, *Agrotis segetum*, *Agrotis exclamationis*, *Helicoverpa armigera*, *Mythimna unipuncta*, *Luperina testacea*, *Autographa gamma* (Noctuelles)
- *Plodia interpunctella*, *Nemapogon granella*, *Plutella xylostella* (Teignes)
- *Angustalius malacellus*, *Angustalius malacellus* (Cambridae)
- *Pharmacis lupulina* (Hepialidae).

Chez ces espèces, le protocole de surveillance sera plus léger que celui visant la pyrale du maïs et la sésamie, et il s'appuiera sur les protocoles déjà en place dans le plan d'épidémiosurveillance. Ce plan permettra de détecter d'éventuelles fluctuations dans l'importance des populations et/ou dans l'accroissement des dégâts provoqués par ces insectes ; ce qui pourra déboucher, par la suite, sur la mise en place de protocoles plus fins de surveillance de la résistance (avec analyses au laboratoire sur prélèvements au terrain).

5.1.2 Surveillance spécifique liée au risque "mycotoxines"

Des observations réalisées à partir des réseaux de surveillance nationale du territoire des Services de la Protection des Végétaux ont souligné qu'un lien pouvait être établi entre le contrôle des insectes lépidoptères par des traitements agrochimiques, ou par la technologie transgénique *Bt*, et la réduction des teneurs en mycotoxines (Annexe 7). Même si la nature et les quantités de mycotoxines accompagnant les cultures de maïs transgéniques varient

² Concernant ces prélèvements, il est important de noter que, dans le cas où des individus appartenant aux espèces cibles seraient observés dans des parcelles de maïs *Bt* (cas peu probable au cours des premières années d'autorisation de commercialisation), des prélèvements seraient aussi à réaliser impérativement dans ces parcelles.

selon les travaux (Schaafsma et al., 2002 ; Folcher et al., 2010), les modifications de la mycoflore qu'ils relatent nous oblige à considérer ce risque sanitaire dans le cadre de la surveillance. Ce risque est d'autant plus à surveiller qu'il peut évoluer en fonction du changement climatique. Si la mycoflore fusarienne est actuellement prépondérante en France, de hautes températures estivales peuvent favoriser l'installation d'*Aspergillus* spp. qui est susceptible de sécréter des aflatoxines (Regnault-Roger et Delos, 2011). Il importe donc que les phénomènes de compétition entre micro-organismes de la mycoflore soient mieux cernés en présence de maïs transgéniques. La méthodologie reposera sur l'identification et la quantification de la mycoflore fusarienne dans les parcelles de référence, non transgéniques *versus* transgéniques. Les teneurs en mycotoxines par famille (fumonisines, trichothécènes A et B, zéaraléonone) à la récolte devront être tout particulièrement évaluées. On se référera aux protocoles mis en œuvre par Weisseberger et al. (2006) et par Folcher et al. (2009 ; 2010 ; 2011).

5.1.3 Parcelles de référence

➤ Constitution d'un réseau de parcelles de référence

Des réseaux de parcelles d'observations devront permettre l'établissement d'une base de données. Les parcelles de référence pourront être fixes ou flottantes, mais devront assurer un suivi régulier et pluriannuel d'espèces indicatrices sur une zone pédoclimatique homogène.

A cet égard, le réseau d'épidémiosurveillance dans le domaine végétal constitue une part importante de l'axe 5 du plan Ecophyto 2018. Mis en place depuis mars 2009 sous l'égide du Ministère chargé de l'agriculture (DGAI), ce réseau est mutualisé et structuré (annexe 4). Il comprenait en fin d'année 2010, un total de 8941 parcelles, 1071 partenaires, 3408 observateurs et 288 animateurs-filières. L'utilisation, autant que faire se peut, de ce réseau, est de nature à faciliter la mise en œuvre du programme de biosurveillance en fournissant une majorité de parcelles fixes de référence pouvant être complétée, si nécessaire, par des parcelles issues du réseau des fermes de démonstration et d'acquisition de références, mises en place dans le cadre de l'axe 2 du plan Ecophyto 2018 ou d'autres, en permettant la consultation des registres phytosanitaires des agriculteurs, indispensable à la biosurveillance.

➤ Territorialisation des parcelles de référence

Les parcelles de maïs destinées à l'ensilage ne sont pas incluses dans la biosurveillance dans un premier temps, car elles sont peu concernées par les stratégies de protection contre les principaux insectes ravageurs de cette culture. Mais si besoin le dispositif que nous proposons pourra être étendu à l'avenir à cette production, sans amendements majeurs.

Le dispositif devra à terme prendre en compte les spécificités des territoires en matière i) d'insectes ravageurs du maïs pour la production de grains et de semences, et la mycoflore associée ii) de la faune sauvage et iii) de répartition des cultures de maïs.

Les principales zones de production de maïs en France Métropolitaine devront être identifiées (par exemple, la monoculture en régions Midi-Pyrénées, Aquitaine, Pyrénées Orientales, et les régions où le maïs s'inscrit dans une succession culturale). Le cortège entomofaunique surveillé devra alors être adapté en fonction des caractéristiques de ces

territoires, notamment pour le suivi des résistances où la carte de distribution de la sésamie et des souches monovoltines et plurivoltines des pyrales sera pris en compte.

5.2 Dispositif de surveillance générale

Les deux niveaux de surveillance générale à mobiliser parallèlement, et de façon complémentaire, sont les suivants :

➤ *1er niveau*

Il s'agit ici d'un dispositif comparatif composé de quatre parcelles de référence, i) la première est cultivée avec une variété de maïs transgénique (porteuse de l'événement MON810, Bt11 ou 1507) ii) la seconde est cultivée avec la même variété de maïs non transgénique quasi isogénique³ et protégée avec une stratégie de protection conventionnelle, iii) la troisième est cultivée avec la même variété de maïs non transgénique isogénique et non soumise à une stratégie de protection, iv) la quatrième est soumise à une protection appartenant au cahier des charges de l'agriculture biologique. Le tableau 2 décrit les protocoles de référence sur lesquels ce premier niveau de la biosurveillance générale pourra s'appuyer.

➤ *2ème niveau*

Certains mammifères, ou certaines espèces appartenant à l'avifaune, au gibier, sont considérés comme des espèces patrimoniales et doivent faire l'objet d'une surveillance générale (grand hamster d'Alsace, rat musqué, lièvre d'Europe, renard roux, blaireau d'Europe, oiseaux). Ces espèces ne peuvent pas faire l'objet du protocole décrit au premier niveau car elles se déplacent à une échelle largement supérieure à celle de la parcelle (et de ses abords). Les dispositifs à mettre en œuvre ici devront s'appuyer sur les plans de surveillance actuellement en place qui concernent l'état de santé de la biodiversité en milieu agricole. Plusieurs réseaux existent en France sur cette thématique. Certains sont détaillés dans le document adressé par le Muséum national d'histoire naturelle à la DGAI en avril 2011, intitulé : « Soutien scientifique à la surveillance biologique du territoire ». La mise en relation statistique entre l'état des populations observé dans ces réseaux généralistes et les pratiques agricoles est souvent absente des analyses, mais ils peuvent alerter les autorités de problèmes qui pourront faire l'objet de réajustement du premier niveau de la surveillance générale.

³ Au sens strict, une variété ne peut être totalement isogénique à l'événement transgénique près (couramment 5 % à 20 % de différence génétique).

Tableau 2 : Protocoles de référence chez les espèces non cibles.

Espèces à surveiller	Exemples de protocoles de suivi
<p>Apoïdes : <i>Apis mellifera</i> (abeille domestique), <i>Bombus terrestris</i>, <i>Bombus lapidarius</i>, <i>Bombus pascuarum agrorum</i> (bourdons communs).</p>	<p>Pour l'abeille domestique, la nouvelle méthode n°230 de la Commission des Essais Biologiques, intitulée "Méthode en plein champ d'évaluation des effets non intentionnels de préparations phytopharmaceutiques employées en traitement des organes aériens.", peut être adaptée pour étudier les cultures transgéniques.</p> <p>Pour le guildes "insectes volants" le projet ALARM (Assessing Large-scale environmental Risks for biodiversity with tested Methods ; Potts et al., 2005) a développé des méthodes basées sur 3 types de coupelles colorées (blanc, jaune, bleu), positionnées au-dessus de la végétation, en bordure de parcelle et en milieu de champ. Le piégeage dure 24 h et est suivi d'un tri, d'une préparation et d'une identification des insectes (ici une identification au genre pourrait suffire).</p>
<p>Lombriciens : <i>Aporrectodea</i>, <i>Lumbricus</i>, <i>Enchytraeus</i>.</p>	<p>L'Observatoire Participatif des Vers de Terre, piloté par l'UMR EcoBio de l'Université de Rennes 1 (http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/page.php?23) propose un protocole, où durant la période de janvier à avril, trois surfaces de 1 m² sont délimitées dans les parcelles suivies. Sur celles-ci est appliquée une solution à base de moutarde qui permet ensuite le prélèvement des lombrics et leur identification des morphotypes.</p> <p>Nous pouvons également nous référer à la méthode ISO 11268-3:1999, intitulée "Qualité du sol - Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre - Partie 3 : Lignes directrices relatives à la détermination des effets sur site".</p>
<p>Biomasse microbienne du sol</p>	<p>Nous pouvons également nous référer à la méthode ISO 14240-2:1997, intitulée "Qualité du sol - Détermination de la biomasse microbienne du sol - Partie 2 : Méthode par fumigation-extraction".</p>
<p>Invertébrés benthiques : <i>Daphnia magna</i> (Daphnies), <i>Trichoptera lepidostoma liba</i>, <i>Heliospyche borealis</i> (Trichoptères)</p>	<p>Dans le cas d'une présence de surfaces aquatiques proches des parcelles de maïs transgéniques, on surveillera ces macroinvertébrés benthiques dans les eaux douces. Il est possible de se référer aux méthodes AFNOR/T95F sur l'évaluation de la qualité écologique des milieux aquatiques et notamment aux lignes directrices sur la sélection des méthodes et des dispositifs d'échantillonnage des macroinvertébrés benthiques dans les eaux douces (référence PR NF EN ISO 10870).</p>
<p>Braconidae : <i>Macrocentrus sp.</i></p>	<p>Le protocole pratiqué par les Services de la Protection des Végétaux peut être suivi. On peut alors prélever une vingtaine de chenilles d'<i>Ostrinia</i> parasitées sur chaque parcelle suivie, à 7-8 reprises de juillet à octobre (Folcher et al., 2005 ; 2011).</p>
<p>Tachinidae : <i>Lydella thompsoni</i>, <i>Pseudoperichaeta nigrolineata</i>, <i>Pseudoperichaeta palesoidea</i>, <i>Voria</i></p>	<p>Le protocole pratiqué par les Services de la Protection des Végétaux peut être suivi (Delos et al., 2005).</p>

<i>ruralis</i> , <i>Actia pilipenni</i>	
Coccinellidae : <i>Coccinella septempunctata</i> , <i>Harmonia axyridis</i> , <i>Propylea quatuordecimpunctata</i> , <i>Adalia bipunctata</i>	Le plan d'épidémiologie nationale propose un protocole d'observation des coccinelles sur 20 plantes au total par parcelle, réparties en 4 placettes de 5 plantes. Et cela est réalisé une fois par semaine d'avril à juin. On calcule ainsi le pourcentage de plantes avec présence d'adultes. Eizaguirre et al. (2006) détaille également un dénombrement visuel des adultes sur plante entière.
Carabidae : <i>Dermetrias atricapillus</i> , <i>Harpalus spp.</i> , <i>Bembidion spp.</i> , <i>Poecilus cupreus</i> , <i>Agonum dorsale</i> , <i>Trechus spp.</i> , <i>Platysma vulgare</i>	Une méthode classique repose sur l'installation de pièges de type Barber. D'après les travaux dans le projet "Entomophages" piloté par ARVALIS-Institut du végétal, le dispositif optimal est composé de 3 pots de 0,5 litre par lignes, répétés sur 4-5 lignes disposées du bord de la parcelle à son intérieur. La campagne de piégeage s'étend d'avril à juin, puis d'août à octobre, avec 4 piégeages par semaine (http://www.itab.asso.fr/downloads/actes%20suite/actes-entomo2011.pdf).
Chrysopidae : <i>Chrysoperla spp.</i>	Le plan d'épidémiologie nationale propose un protocole d'observation des chrysopes sur 20 plantes au total par parcelle, réparties en 4 placettes de 5 plantes. Et cela est réalisé une fois par semaine d'avril à juin. On calcule ainsi le pourcentage de plantes avec présence d'adultes.
Anthocoridae : <i>Orius spp.</i> , <i>Nabis roseipennis</i>	Eizaguirre et al. (2006) détaille un dénombrement visuel des adultes sur plante entière.
Araneae prédatrices	Une méthode classique repose sur l'installation de pièges de type Barber. D'après les travaux dans le projet "Entomophages" piloté par ARVALIS-Institut du végétal, le dispositif optimal est composé de 3 pots de 0,5 litre par lignes, répétés sur 4-5 lignes disposées du bord de la parcelle à son intérieur. La campagne de piégeage s'étend d'avril à juin, puis d'août à octobre, avec 4 piégeages par semaine (http://www.itab.asso.fr/downloads/actes%20suite/actes-entomo2011.pdf). Eizaguirre et al. (2006) détaille quant à lui un dénombrement visuel des adultes sur plante entière.
Papillons diurnes remarquables	L'observatoire des papillons détaille une méthode qui pourrait être appliquée en bords de parcelle de maïs (http://www.noeconservation.org/index2.php?rub=12&srub=31&ssrub=98&sssrub=100&goto=contenu).

5.3 Echéance

La surveillance doit être initiée avant l'autorisation des maïs transgéniques afin de définir le statut à "l'état zéro" des communautés animales surveillées et d'évaluer l'amplitude des fluctuations de leurs populations à l'anormale. Un bilan d'étape sera réalisé au terme de 5 années de fonctionnement du plan de surveillance. A l'issue de cette phase (comprenant "l'état zéro"), un réajustement en profondeur du dispositif pourra être réalisé, et en particulier la liste des espèces à surveiller.

6. Collecte des données paysagères et culturelles

Les relevés consisteront à enregistrer les données suivantes pour chaque parcelle de référence :

- celles liées au milieu : typologie du paysage, climat, topographie des lieux, environnement de la parcelle...;
- celles liées à la culture de maïs en place : type de sol, pH, exposition, rotation culturale, travail du sol, fertilisation et amendements, traitements phytopharmaceutiques...

La fiche présentée en annexe 8 peut servir de canevas et sera à adapter en fonction de la question spécifique liée aux cultures de maïs transgéniques (inclure par exemple "présence et surface de zones refuges", "présence et nature d'autres maïs transgéniques résistants à des insectes").

7. Validation des protocoles

Les personnes ressources chargées de l'analyse des données devront valider les protocoles d'observation d'un point de vue statistique avant leur application sur le terrain. Cette validation est un préliminaire indispensable à la collecte de données valides et exploitables. Les personnes ressources analysant les données, jouant un rôle majeur dans l'interprétation des données, devront être intégrées à l'unité d'animation (voire être en lien étroit avec celle-ci). Pour mener à bien ce travail de validation, l'unité pourra par exemple s'appuyer sur la plateforme Epidémiologie (DGAI-ANSES).

8. Saisie et agrégation des données

Nous insistons sur l'importance des tâches de saisie des données sous forme informatique, de leur tri et de leur structuration pour aboutir à une base de données nationale, qui lorsqu'elles font défaut compromet l'opérationnalité des plans de surveillance. Ces tâches nécessitent une unité d'animation centrale qui devra intervenir en amont, dès l'établissement des protocoles d'observation, car elle aura en charge la standardisation des fichiers de saisie, pour ensuite les centraliser (à l'instar de l'outil EPIPHYT).

9. Analyse et valorisation des résultats

L'analyse des résultats sera réalisée à l'aide d'outils statistiques appropriés, capable de traiter des données complexes et dépendantes de dimensions spatio-temporelles. L'unité d'animation centrale aura un lien étroit avec le réseau des experts et des personnes-ressources en biosurveillance de la DGAI-Sous-direction de la protection des végétaux (SDQPV), avec le concours des partenaires institutionnels et professionnels agricoles concernés. Dans ce domaine, la plate-forme Epidémiologie (DGAI-ANSES) pourra également apporter son appui.

La synthèse des analyses et résultats des investigations en biosurveillance seront restitués chaque année au CSBT pour avis consultatif, avant communication aux pouvoirs publics. Une présentation des données de biosurveillance sera faite au sein du rapport annuel du Gouvernement au Parlement et au Sénat. Le HCB sera également destinataire d'une information dans le cadre des échanges CSBT/HCB prévus par le législateur. Une attention toute particulière devra être portée pour restituer les principaux résultats de la biosurveillance auprès des acteurs intervenant dans les différentes étapes du dispositif de surveillance.

ANNEXE 1 - Liste des membres du GT1 du CSBT

Le GT1 est un sous-groupe de travail du CSBT chargé d'étudier la mise en place d'un suivi spécifique évaluant les effets non intentionnels de la culture des plantes génétiquement modifiées résistantes à des insectes (MON810, Bt11, 1507).

Les personnes membres du GT1 sont les suivantes :

- M.P. Chauzat (Anses)
- A. Decourtye (ACTA)*
- E. Fournier (SYNGENTA)
- P. Joudrier (DR ex-INRA et ex-expert à l'AFSSA)
- A. Micoud (Anses)**
- F. Moutou (Anses)
- C. Regnault-Roger (Université Pau et des Pays de l'Adour)***
- A. Roques (INRA)
- A.S. Walker (INRA)

**animation du GT.*

***rédaction de l'annexe 6.*

****rédaction des annexes 2 et 7.*

Des réunions physiques ont été organisées les 15 février 2011, 3 mai 2011 et 15 décembre 2011, accompagnées de réunions téléphoniques les 4 mars 2011, 30 mai 2011, 28 septembre 2011 et 14 novembre 2011.

Un espace collaboratif a été créé pour centraliser les documents (environ 80 articles, textes officiels ou comptes-rendus).

L'état d'avancement des travaux et les tâches suivantes ont été validés par le CSBT lors des séances du 17 mars 2011, 8 juin 2011 et 13 octobre 2011.

ANNEXE 2 - Plan de surveillance post commercialisation (PSPC) de maïs *Bt* sous la responsabilité du pétitionnaire : progrès et limites

Le cadre

Le pétitionnaire est astreint par la directive européenne 2001/18/CE et le règlement (CE) 1829/03 à une surveillance post commercialisation des événements transgéniques qu'il commercialise (importation et cultures). Une démarche a été élaborée depuis plusieurs années. Puisque le pétitionnaire ne dispose pas de l'autorité régaliennne, les outils qui ont été développés sont limités mais néanmoins ils constituent l'aboutissement d'une réflexion approfondie sur le sujet. Les résultats obtenus par les premiers plans de surveillance post-commercialisation ont en effet fait l'objet de discussion entre les Autorités compétences et le pétitionnaire afin de les améliorer

Les actions de biosurveillance du territoire dans leur dimension PGM (plantes génétiquement modifiées) devraient prendre en compte ce qui est réalisé par le pétitionnaire et les résultats qu'il a obtenus, afin d'élargir la démarche en vertu de l'autorité régaliennne mais aussi pour éviter les redondances. Les différentes approches devraient par conséquent s'inscrire dans un dialogue entre le pétitionnaire, responsable de la surveillance post commercialisation (PSPC) de l'événement qu'il commercialise, et les Autorités compétentes qui contrôlent et sont en charge de la surveillance biologique du territoire national.

Cadre réglementaire :

La surveillance diligentée par le pétitionnaire s'articule conformément à la directive 2001/18/CE et au règlement (CE) 1829/03 en un plan de surveillance générale et un plan de surveillance spécifique :

- le plan de surveillance spécifique teste d'éventuelles hypothèses sur des effets négatifs de la plante génétiquement modifiée dans le cadre de son utilisation et de l'évaluation du risque environnemental. Le plan de surveillance spécifique est destiné à mettre en évidence les changements prévisibles.

- le plan de surveillance générale observe d'éventuels effets non intentionnels ou non anticipés sur la santé humaine et animale ainsi que sur l'environnement. Le plan de surveillance générale vise à mettre en évidence les changements non intentionnels non anticipés.

Contexte européen

L'événement MON 810 présent chez plusieurs variétés de maïs transgéniques est celui sur lequel on a le plus de recul au sein de l'Union européenne. Aussi, à partir de cette culture, des réflexions ont été conduites au sein des instances européennes, de l'AESA/EFSA et des Etats membres sur les plans de surveillance post-commercialisation des PGM. Résultant d'échanges entre les Autorités compétentes et le pétitionnaire à l'occasion des commentaires émis sur les rapports annuels de surveillance fournis par le pétitionnaire, les

moyens de surveillance post-commercialisation mis en œuvre ces trois dernières années par le pétitionnaire illustrent les avancées de cette réflexion.

Outils de la surveillance générale du maïs MON 810

Le plan de surveillance générale mis en œuvre est basé sur :

- un suivi de la culture par le biais de questionnaire et des interviews auprès des agriculteurs cultivant des variétés de maïs porteuses de l'événement MON810.
- une analyse de publications scientifiques relatives à l'événement transgénique en matière de santé humaine et animale d'une part, environnement d'autre part.
- une veille mettant en jeu des réseaux non spécialisés
- une information auprès des producteurs.

1^{er} outil : questionnaire et interviews

Le plan de surveillance générale environnemental proposé par le pétitionnaire est basé sur l'exploitation statistique des réponses à un questionnaire distribué aux utilisateurs agricoles. Ces utilisateurs sont en effet des observateurs privilégiés pour noter les phénomènes liés au terrain, aux écosystèmes et espèces présentes habituellement sur les parcelles en fonction des pratiques culturales. Ils sont à même de faire une comparaison entre l'évolution des parcelles de maïs transgéniques par rapport aux maïs conventionnels qu'ils cultivent.

Une éducation (ou information) préalable à l'utilisation de la technologie doit être effectuée auprès des agriculteurs cultivant des variétés de maïs transgénique MON 810, par le biais d'informations délivrées dans des guides dédiés (*Technology User Guides* : TUGs), par courriel, télécopie ou téléphone ainsi que par deux sites web interactifs de dialogue entre utilisateurs agricoles et producteurs industriels (celui du consortium européen Europabio regroupant différentes sociétés impliquées dans la production ou la distribution des semences et celui du pétitionnaire). Le but est de signaler un événement inattendu.

Le questionnaire utilisé actuellement a été mis au point en 2006. Il remplace celui de 2005. Il a été créé par le Centre allemand de recherche pour l'Agriculture et la forêt (*German Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry* (BBA), des sélectionneurs et des statisticiens et a fait l'objet de publications scientifiques (Wilhelm et al., 2004 ; Schmidt et al., 2006). Il est régulièrement révisé et amélioré. Ainsi des questionnements relatifs : (i) aux rotations culturales ont été ajoutés depuis 2009, (ii) aux méthodes employées pour contrôler la pyrale du maïs en 2008 ainsi que (iii) la surveillance de la faune sauvage en 2008 (qui englobait les oiseaux, les mammifères et les insectes non cibles de manière indistincte puis séparés en catégories l'année suivante en 2009). Les itinéraires phytopharmaceutiques de contrôles des maladies et des adventices, l'utilisation de fertilisants et d'irrigation sont aussi maintenant renseignés.

Ce questionnaire est complété par des interviews menées par des agents indépendants de la société et rompues aux techniques d'entretiens.

Le choix des fermes enquêtées est fait au hasard après que les critères d'échantillonnage aient été déterminés sur la base de l'importance du marché et de manière à assurer une puissance satisfaisante pour les tests statistiques. Selon les recommandations de l'AESA/EFSA, le traitement statistique des questionnaires doit se référer à la publication : The EFSA Journal (2009), 1250.

2^{ème} outil : veille scientifique et analyses de publications scientifiques

Cette veille scientifique est réalisée à partir des banques de données *Web of Science database* via *Web of Knowledge*, et analyse toutes les publications parues au cours de l'année écoulée ayant trait au MON810 ou à la protéine Cry1Ab.

Par exemple, entre juin 2010 et juin 2011, on dénombre 12 publications qui ont trait à l'alimentation humaine et animale (toxico-allergologie), 35 publications qui ont trait à l'environnement soit 47 publications consacrés à MON 810 ou à la protéine Cry1Ab qui sont analysées en détail. Chaque publication a fait l'objet d'une fiche détaillée portée en annexe et un commentaire général de synthèse est apporté dans le rapport.

3^{ème} outil : les réseaux de surveillance

Des réseaux de surveillance sont mobilisés. Cette surveillance, telle qu'elle a été conduite jusqu'à présent, est réalisée par des réseaux non spécifiques de type naturaliste, effectuant des suivis de faune sauvage ou d'insectes auxiliaires ou d'oiseaux. Le but est de détecter s'il y a des phénomènes particuliers qui seraient observés entre les zones où on cultive du maïs Bt et celles où on n'en produit pas. Les indications fournies par ces réseaux, parce qu'elles ne sont pas adaptées spécifiquement aux méthodologies déployées pour la surveillance des PGM, sont considérées comme fournissant des indications utiles mais pas des conclusions probantes.

Le consortium Europabio mène actuellement une mission en vue d'identifier des réseaux dans les pays de l'UE afin de les classer en fonction de leurs objectifs de biosurveillance et de leurs localisations géographiques.

Outils de la surveillance spécifique

Mettant en jeu une protéine qui confère une résistance à des variétés de maïs à certains insectes lépidoptères ravageurs foreurs du maïs, le plan de surveillance spécifique est axé sur la gestion de la résistance de ces insectes (*Insect Resistance Management* : IRM).

En Europe un consortium regroupant 4 sociétés internationales (Monsanto, Syngenta Seeds, Pioneer Hi bred Int Incorp et Dow agroSciences) intitulé « *European Union Working Group on Insect Resistance Management* (EUWGIRM) » a été créé en 2001 et a développé une démarche de biosurveillance harmonisée sur le sujet.

Trois outils-clé ont été développés :

- la mise en place de zones refuge
- l'établissement de lignes de base
- une communication et information spécifiques des agriculteurs cultivant des maïs transgénique MON 810.

1^{er} outil : les zones refuges

Le but de l'implantation des zones refuges est de provoquer des foyers où les insectes sont moins soumis à la pression de sélection de la protéine Cry1Ab. Les brassages de ces insectes avec ceux de parcelles cultivées en maïs Bt permettent de diminuer la fréquence d'allèles de résistance dans les populations considérées. Pour un événement simple comme le MON 810, une superficie de 20% de zones refuges située dans un environnement de 750 m de la parcelle a démontré son efficacité en Amérique du Nord. Aussi le pétitionnaire incite les agriculteurs à mettre en place de telles zones refuges par le biais de réunions ou de courriers émanant de sa société ou de sociétés savantes officielles (ex : en Espagne, l'Association nationale des obtentions végétales ANOVE, *Asociación Nacional de Obtentores Vegetales* en Espagne). Dans ce pays, une enquête réalisée par une fondation ANTAMA, sans but lucratif (financée par des sociétés privées), complète le dispositif afin de déterminer l'efficacité de cette action.

De manière plus générale dans l'ensemble des pays de l'UE concernés en 2010 par la culture du maïs Bt Mon 810, 95% des agriculteurs ont suivi les recommandations du Guide de l'utilisateur et la mise en place de zones refuges.

2^{ème} outil : détermination de lignes de base de sensibilité des insectes cibles (pyrale et sésamie)

Elles ont été établies en 2005 et 2006 à partir de populations de pyrales et sésamies françaises et portugaises. Une autre étude qui élargit l'éventail géographique des populations prélevées a été réalisée par un laboratoire indépendant en 2007. Ces populations d'insectes proviennent des République Tchèque, France, Allemagne, Italie, Hongrie, Slovaquie, Pologne, Portugal et Roumanie. Les prélèvements ont été effectués par des organismes indépendants (en France la FREDON et le service de protection des végétaux du ministère de l'Agriculture). Il complète les précédentes observations. Ce laboratoire indépendant est le *BTL Bio-Test Labor GmbH Sagerheide*. L'étude a été commanditée par Monsanto. Les paramètres suivants ont été évalués : LC₅₀ (concentration létale) et MIC₅₀ (concentration inhibition de mues/ *Moulting Inhibition Concentration*).

A partir de ce travail, un suivi annuel des populations de pyrales et sésamies est réalisé par des prélèvements dans les zones qui cultivent les variétés de maïs MON 810. Une des difficultés de l'étude est le faible nombre de sésamies et de pyrales vivantes sur maïs MON 810 pouvant être recueillies, en raison de l'efficacité de la technologie qui décime ces insectes. Des élevages sont pratiqués en laboratoire à partir de parents prélevés aux champs et des essais de tests de résistance réalisés sur la génération suivante.

3^{ème} outil : Informations et éducation

A titre d'exemple, plusieurs actions ont été conduites en Espagne en 2010, où se localisent 85 % des superficies consacrées à la culture européenne du maïs MON 810 :

- des brochures et plaquettes ont été distribuées aux agriculteurs incluant une information sur la technologie maïs Bt et les bonnes pratiques agricoles.
- Des réunions d'agriculteurs ont été organisées ainsi que des rassemblements (foires/ salons) nationaux et régionaux.

- Des encarts de publi-informations ont été insérées dans des revues techniques phare de la presse agricole (Vida Rural et Phytoma) largement lues par la profession.
- Une lettre de sensibilisation a été envoyée à chaque fermier par l'association ANOVE (*Asociación Nacional de Obtentores Vegetales*).
- Des sessions d'harmonisations entre sociétés commercialisant du MON 810 ont été organisées pour un suivi cohérent du plan de gestion de la résistance aux maïs.

Conclusions

La surveillance opérée sur les maïs MON 810 en Europe implique en premier lieu les agriculteurs qui sont des observateurs en prise directe avec le terrain. Ceux-ci sont encadrés et informés de manière spécifique sur les risques qui pourraient survenir.

A l'aide de questionnaires de plus en plus complets, ils dressent un constat de ce qui se passe sur les parcelles cultivées en maïs Bt et sont chargés de signaler toute anomalie.

Il existe des effets non avérés mais prévisibles qui relèvent de la surveillance spécifique.

Le risque principal est celui de voir une résistance s'installer chez les insectes cibles, diminuant ainsi l'efficacité de la technologie. Des études en laboratoires ont établi le niveau actuel de sensibilité des pyrales et sésamies à la protéine Cry1Ab à partir de populations d'insectes prélevées dans plusieurs pays européens.

Pour parer à cette éventualité, la mise en place de zones refuges est préconisée pour des exploitations de plus de 5 ha en situation de monoculture. Le risque est modulé en polyculture ou dans des exploitations morcelées. Le paysage agricole européen est plus morcelé qu'en Amérique du Nord. De ce fait, il devrait constituer un facteur positif pour le brassage de l'entomofaune et ainsi retarder, de manière structurelle l'apparition des résistances. C'est pourquoi il importe qu'une réflexion soit menée sur l'importance des zones refuges à mettre en place en Europe et leur configuration. La préconisation d'une surface de 20 % consacrée au maïs conventionnel sur une parcelle de maïs Bt et le seuil de 5ha ne sont peut-être pas justifiés en l'absence de grandes surfaces de monoculture.

Il se pourrait que dans un avenir proche, il faille considérer un autre risque relevant de la surveillance spécifique, le risque mycotoxines qui nécessite de connaître la nature des mycotoxines présentes à la récolte. Compte-tenu de l'état actuel des connaissances scientifiques, le niveau de ce risque demande à être étayé et ne relève pour l'instant pas de la surveillance spécifique que doit faire le pétitionnaire. En effet, si le risque lié aux mycotoxines est en général moindre avec les maïs Bt, un travail récent mentionne une inversion de flore qui pourrait être liée à des sensibilités différentes de certaines variétés de maïs. Cela renforce la nécessité de prendre en compte l'aspect variétal dans lequel se trouve tel ou tel événement de transformation comme cela a été mentionné dans l'avis (paragraphe « Champ d'investigation de la biosurveillance »).

Les risques d'effets non intentionnels sur des populations non-cibles, par ailleurs non identifiées comme cibles potentielles, relèvent d'hypothèses spéculatives. Ils s'inscrivent dans la surveillance générale (« *non hypothesis driven* »). Cette surveillance plus difficile à mener par un pétitionnaire, par essence une société privée, est réalisée par le biais d'un traitement statistique de questionnaires ciblés distribués aux utilisateurs agricoles de la

technologie Bt et la prise en considération d'observations non spécifiques de réseaux existants. Une veille bibliographique complète ce dispositif. Une démarche ou un réseau national dédié à cette surveillance par le biais d'observations spécifiques, et sous autorité régaliennne apparaissent nécessaires pour compléter les dispositifs existants.

Références bibliographiques

Wilhelm, R., Beißner, L., Schmidt, K., Schmidtke, J., Schiemann, J. 2004. Anbaus gentechnisch veränderter Pflanzen – Fragebögen zur Datenerhebung bei Landwirten ; eingereicht beim Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 56 (8):184-188.

Schmidt, K., Beißner, L., Schiemann, J., Wilhelm, R. 2006. Methodology and Tools for Data Acquisition and Statistical Analysis, J. Verb. Lebensm. 1:21-25.

ANNEXE 3 - Tableaux de classement des espèces ayant une exposition directe* avec le maïs.

*Aucun niveau trophique entre l'espèce considérée et le maïs.

Sensibilité	Groupe fonctionnel	Ordre/gilde	Sol (matière organique)	Sève élaborée	Grains et rafle	Pollen	Racines	Tiges, feuilles
non attendue	Phytophages	Coléoptères			<i>Clivina fossor</i>	<i>Diabrotica virgifera virgifera</i>	<i>Diabrotica virgifera, Melolontha melolontha, Agriotes lineatus, Agriotes sputator</i>	<i>Diabrotica virgifera virgifera, Agriotes lineatus, Agriotes sputator, Chaetocnema pulicaria, Phyllotreta vittula, Oulema melanopus, Oulema gallaeciana, Tanymecus dilaticollis</i>
non attendue	Phytophages	Diptères					<i>Tipula paludosa, Tipula oleracea</i>	<i>Oscinella frit, Geomyza tripunctata, Delia platura, Tipula paludosa, Tipula oleracea</i>
non attendue	Phytophages	Aphides		<i>Sitobion avenae, Metopolophium dirhodum, Rhopalosiphum padi, Schizaphis graminum, Rhopalosiphum maidis, Tetraneura ulmi</i> (pucerons des racines)	<i>Sitobion avenae</i>		<i>Tetraneura ulmi, Anoeci corni, Anoeci vagans</i>	
non attendue	Phytophages	Cicadelles		<i>Zyginidia scutellaris, Laodelphax striatellus</i>				
non attendue	Phytophages	Myriapodes					<i>Scutigera immaculata, Blaniulus guttulatus</i> (dégâts négligeables)	
non attendue	Phytophages	Orthoptères					<i>Grylotalpa grylotalpa</i>	
non attendue	Phytophages	Acariens						<i>Tetranychus urticae, Tetranychus turkestani</i> (dégâts négligeables)
non attendue	Phytophages	Hémiptères						<i>Zyginidia scutellaris, Laodelphax striatellus</i>
non attendue	Phytophages	Thysanoptères						<i>Haplothrips aculeatus et sp., Frankliniella tenuicornis, Limothrips cerealium</i>

Avis du CSBT - Effets non intentionnels des PGM résistantes à des insectes (maïs MON810, Bt11, 1507)

non attendue	Phytophages	Mollusques					<i>Milax gagates</i>	<i>Derocetas reticulatum, Arion hortensis, Arion distinctus, Arion owenii</i>
non attendue		Nématodes					<i>Heterodera avenae, Pratylenchus crenatus, Pratylenchus penetrans, Pratylenchus fallax, Pratylenchus thornei, Pratylenchus neglectus</i>	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
non attendue	Herbivores	Oiseaux						
non attendue	Herbivores	Mammifères						
non attendue	Pollinisateurs	Hyménoptères pollinisateurs		par la guttation ?			<i>Apis mellifera, Bombus terrestris, Bombus lapidarius, Bombus pascuarum agrorum</i>	
non attendue	Pollinisateurs	Diptères pollinisateurs					Syrphidae	
non attendue	Organismes aquatiques	Organismes aquatiques					<i>Daphnies Daphnia magna, Trichoptera Lepidostoma liba, Heliospyche borealis</i>	
non attendue	Décomposeurs	Vers de terre	<i>Aporrectodea sp., Lumbricus, Enchytraeus</i>					
non attendue	Décomposeurs	Microorganismes du sol	Microorganismes du sol					
non attendue	Symbiotes	Rhizobactéries, mychorhize	Rhizobactéries, mychorhize					
non attendue	Phytophages/Prédateurs invasifs	Coccinellidae						<i>Harmonia axyridis Pallas</i>

Avis du CSBT - Effets non intentionnels des PGM résistantes à des insectes (maïs MON810, Bt11, 1507)

Sensibilité	Groupe fonctionnel	Ordre/guilde	Sol (matière organique)	Sève élaborée	Grains et rafle	Pollen	Racines	Tiges, feuilles
attendue (cibles diverses)	Ravageurs	Lépidoptères phytophages			<i>Sesamia nonagrioides</i> , <i>Ostrinia nubilalis</i> , <i>Helicoverpa armigera</i> , <i>Plodia interpunctella</i> , <i>Nemapogon granella</i>			<i>Ostrinia nubilalis</i> , <i>Sesamia nonagrioides</i> , <i>Agrotis (syn Scotia) ipsilon</i> (cible pour MON 1507), <i>Agrotis (syn Scotia) segetum</i> , <i>Agrotis exclamationis</i> , <i>Angustalius malacellus</i> <i>Mythimna unipuncta</i> , <i>Luperina testacea</i> , <i>Autographa gamma</i> , <i>Angustalius malacellus</i> , <i>Pharmacia lupulina</i> , <i>Helicoverpa armigera</i> , <i>Plutella xylostella</i>
possible	Décomposeurs	Vers de terre						<i>Lumbricus terrestris</i>
possible (proximité phylogénétique avec cibles et patrimoniales liés aux agrosystèmes)	Pollinisateurs	Lépidoptères pollinisateurs				<i>Héspérides tachetées</i> , <i>Héspérides orangées</i> , <i>Cuivrés</i> , <i>Lycènes bleus</i> , <i>Aurores</i> , <i>Piérides blanches</i> , <i>Souci</i> , <i>Paon du jour</i> , <i>Demi-deuil</i> , <i>Vulcain</i> , <i>Citron</i> , <i>Gazé</i> , <i>Machaon</i> , <i>Flambé</i> , <i>Pocris</i> , <i>Amaryllis</i> , <i>Myrtil</i> , <i>Petite tortue</i> , <i>Tabac d'Espagne</i> , <i>Tircis</i> , <i>Mégères</i> , <i>Robert le diable</i> , <i>Belle dame</i>		

LEGENDE : espèces en bleu = espèces patrimoniales ou indicatrices d'un guildes ; espèces en rouge = espèces cibles de l'OGM ; espèces en noir = espèces autres que patrimoniales, indicatrices ou cibles

REFERENCES :

EFSA Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. EFSA Journal 8(11):1879
 Dutton et al., 2003. Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomopagous arthropods: Bt-maize expressing Cry1Ab as a case study. BioControl, 48:611-636
 Naibo, 1996. Les ravageurs du maïs.
 Delos M. 2000. Eventuels effets non intentionnels du maïs transgénique sur l'entomofaune - actions Thrips. CIRA 2000
 Pour la faune du sol : Carpenter, 2011
 Pour les organismes aquatiques : Douville et al 2005, 2007 ; Rosi-Marshall et al 2007
 Pour le butinage du maïs par l'abeille domestique : Charrière et al., 2010 ; Odoux et al., 2004 ; Vaissière & Vinson 1994
 Pour les bourdons : Gross & Carpenter 1991. Role of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) pheromone and other factors in the capture of bumblebees (Hymenoptera: Apidae) by universal moth traps. Environmental Entomology 20: 377-381.
 Pour les papillons indicateurs : suivi des papillons communs en milieu agricole - Grandes cultures/maraichage (MNHN)
 Pour les lombrics : effet sur le poids d'individus élevés sur litière de maïs au laboratoire mais pas d'effets « in situ » (Zwahlen et al. 2003)
 Pour la coccinelle asiatique : exposition directe par consommation des feuilles (Moser et al 2008) ; présence dans les maïs confirmée par piégeage (A. Roques non publié)

ANNEXE 4 - Tableaux de classement des espèces ayant une exposition indirecte* avec le maïs.

* Au moins un niveau trophique entre le maïs et l'espèce (exposition via la consommation d'une proie ou le parasitisme d'un hôte).

Groupe fonctionnels, ordres, espèces								
Hyménoptères parasitoïdes d'œufs de Lépidoptères <i>Trichogramma</i> spp.,	Hyménoptères parasitoïdes de larves de Lépidoptères <i>Sinophorus turionus</i> , <i>Eriborus terebrans</i> , <i>Microgaster messoria</i> , <i>Macrocentrus cingulum</i> , <i>Bracon brevicornis</i> , <i>Diadegma fenestrata</i> , <i>Pristomerus vulnerator</i>	Diptères parasitoïdes de larves de Lépidoptères <i>Lydella thompsoni</i> , <i>Pseudoperichaeta nigrolineata</i>	Diptères prédateurs Cecidomyies <i>Aphidoletes aphidimyza</i>	Thysanoptères prédateurs	Dermaptera prédateurs Labiduridae <i>Labidura riparia</i> Forticulidae <i>Forficula auricularia</i>	Hyménoptères parasitoïdes d'Aphides <i>Aphidius</i> spp., <i>Praon vulgare</i> , <i>Ephedrus plagiator</i> , <i>Aphelinus</i> sp.	Diptères prédateurs Syrphes <i>Episyrphus balteatus</i> , <i>Melanostoma balteatus</i> , <i>Sphaerophoria scripta</i> , <i>Syrphus corollae</i> , <i>Epistrophe melanostoma</i> , <i>Metasyrphus corollae</i> , <i>Melanostoma mellinum</i>	Coléoptères prédateurs Staphylinidae <i>Tachyporus obtusus</i> , <i>Oxytelus rugasus</i> , <i>Paederidus litoralis</i>
Pas de risque attendu (Cry1Ab)	à dire d'experts		à dire d'experts	Pas d'effet sur <i>Aelothrips</i> sp (réseau de biosurveillance 2000)	à dire d'experts	Pas d'effets : Gorecka et al. 2008, Delrio et al. 2010	<u>Pas d'effets</u> : Delrio et al 2010	<u>Pas d'exposition pour <i>Tachyporus</i> sp.</u> : Obrist et al. 2006
Risque attendu (Cry1Ab)		Effets pour <i>Macrocentrus</i> sp. : Pilcher et al. 2005	Effet pour Tachinidae (<i>Lydella thompsoni</i>, <i>Pseudoperichaeta nigrolineata</i>, <i>Pseudoperichaeta palesoidea</i>, <i>Voria ruralis</i>, <i>Actia pilipenni</i>) : Bourguet et al. 2002					

Groupe fonctionnels, ordres, espèces						
Hyménoptères butineurs de miellat d'Aphides Apidae <i>Apis mellifera</i> Formicidae <i>Formica</i> spp., <i>Lasius</i> spp.	Coléoptères prédateurs Coccinellidae <i>Coccinella septempunctata</i> , <i>Propylaea quatuordecimpunctata</i> , <i>Adalia bipunctata</i> , <i>Adonia variegata</i> , <i>Coccinella quinquepunctata</i> , <i>Stethorus</i> spp., <i>Hippodamia</i> sp, <i>Harmonia axyridis</i>	Coléoptères prédateurs Carabidae <i>Dermetrias atricapillus</i> , <i>Harpalus</i> spp., <i>Bembidion</i> spp., <i>Poecillus cupreus</i> , <i>Agonum dorsale</i> , <i>Trechus</i> spp., <i>Platysma vulgare</i>	Neuroptères prédateurs Chrysopidae <i>Chrysoperla carnea</i> , <i>Chrysoperla perla</i> , <i>Chrysoperla phyllochroma</i>	Hétéroptères prédateurs Anthocoridae <i>Orius</i> spp., <i>Anthocoris nemorum</i> , <i>Anthocoris limbatus</i> Nabidae <i>Nabis provençalis</i> , <i>Nabis limbatus</i>	Araneae prédatrices	Acariens prédateurs
Pas de risque attendu (Cry1Ab)	Pas d'effets pour <i>Apis mellifera</i> : Duan et al. 2008	Pas d'effets sur <i>Adalia bipunctata</i> , <i>Coleomegilla maculata</i> : Wold et al. 2001 Peu d'exposition pour <i>Hippodamia</i> sp.: Obrist et al. 2006	Peu d'exposition pour <i>Dermetrias</i> sp.: Obrist et al. 2006	Pas d'effets : Wold et al. 2001, Delrio et al. 2010	Pas d'effets : Wold et al. 2001, Delrio et al. 2010, Toth et al. 2004 Peu d'exposition pour <i>Nabis</i> sp.: Obrist et al. 2006	à dire d'experts
Risque attendu (Cry1Ab)		Exposition pour <i>Coccinella septempunctata</i> , <i>Harmonia axyridis</i> : Harwood et al. 2005 Effets pour <i>Propylaea quatuordecimpunctata</i> : Delrio et al. 2010 Effets pour larves d' <i>Adalia bipunctata</i> : Jörg et al. 2009	Effets sur Carabidae : Toschki et al. 2007	Exposition pour <i>Chrysoperla</i> spp.: Obrist et al 2006 Effets pour <i>Chrysoperla carnea</i> : Hilbeck et al. 1998 Dutton et al. 2002 Romeis et al 2004	Exposition pour <i>Orius</i> spp. : Obrist et al. 2006 Exposition pour <i>Nabis roseipennis</i> : Hardwood et al. 2005	Effets sur Araneae : Toschki et al. 2007

LEGENDE :

- Texte en bleu : effets rapportés comme étant liés à la réduction de l'abondance des proies ou des hôtes.
- Texte en rouge : effets rapportés comme étant liés à la dégradation de la qualité des proies.
- Texte en noir : pas d'informations trouvées sur les mécanismes sous-tendant les effets rapportés.

ANNEXE 5 - Synthèse bibliographique sur les effets non intentionnels des maïs génétiquement modifiés résistants à des insectes (MON810, Bt11, 1507).

Espèces cibles	Espèces non cibles	Paramètres mesurés	Dispositif	Méthode	Principaux résultats	Référence
<i>Ostrinia nubilalis</i>			laboratoire		résistance	Tabashnik 1994
<i>Sesamia nonagrioides</i>		dispersion des larves	30 sites par parcelle (1 site = 3 rangs de 11 plantes) x 3 ans	Infestation avec œufs sur plante au centre du rang à J0; Nombre stades larvaires sur plantes disséquées à J7, J14, J32 ; 2nd et 3ème vol		Eizaguirre et al 2006
<i>Sesamia nonagrioides</i>		dispersion des adultes	OGM versus non OGM (isogénique) ; 5 ans	pièges lumineux et à phéromone en bords de parcelle entre non OGM & OGM ; mobilité de mâles marquées avec rubidium ; 2nd et 3ème vol		
<i>Agriotes segetum</i> , <i>Agriotes lineatus</i>		dégâts				
<i>Aphididae</i> , <i>Cicadellidae</i>		densité	3 types de dispositifs : soit comparaison maïs Bt/non Bt, soit maïs Bt/non BT avec insecticide	méta-analyse : impact OGM Bt (maïs, cotonnier, pomme de terre) sur arthropodes non cibles (204 études sur maïs)		Wolfenbarger et al., 2008
<i>Spodoptera frugiperda</i>		densité	laboratoire et champ		effet indirect sur densité des auxiliaires par réduction des populations de la cible	Zenner de polania et Alvarez Alcaraz 2008 cité par Ricroch et al 2010
<i>Rhopalosiphum padi</i> (<i>Aphididae</i>)	<i>Aphidius colemani</i> (<i>Braconidae</i>)	densité	semi-champ	comparaison de cultures sous serre	effet opposé entre été et hiver	Gorecka et al 2008 cité par Ricroch et al 2010
<i>Plutella xylostella</i> (teigne des crucifères)			champ		résistance	Tabashnik 1990
<i>Ostrinia nubilalis</i>	<u>2 tachinaires</u> : <i>Lydella thompsoni</i> , <i>Pseudoperichaeta nigrolineata</i> ; <u>micro-hyménoptères</u> : <i>Sinophorus turionus</i> Ratzeburg, <i>Diadegma fenestralis</i> Holmgren, <i>Eriborus tenebrans</i> , <i>Microgaster tibialis</i> , <i>Bracon brevicornis</i> , <i>Pristomerus vulnator</i> , <i>tripchomalopsis</i> sp., <i>Apanteles</i> sp, <i>Colletidae</i> , <i>Brachymeria</i> , <i>Ptéromalidae</i>	densité	50-90 parcelles de références/an x 4 ans	7-8 prélèvements de 20 chenilles d' <i>Ostrinia</i> parasitées de juil. à oct.	distribution géographique	Folcher et al., 2005
<i>Agriotes</i>	<i>Carabidae</i> , <i>Arachnidae</i> (<i>Araneae</i>)			recommandation d'une méthode de surveillance en post-AMM		Sanvido et al 2009

Avis du CSBT - Effets non intentionnels des PGM résistantes à des insectes (maïs MON810, Bt11, 1507)

<i>Oscinella frit</i> (oscinie de l'avoine)	Chrysopidae, Carabidae, Arachnidae (Araneae), parasitoïdes (Pteromalidae, Figitidae)					
<i>Agrotis ipsilon</i> (noctuelle)	parasitoïdes (trichogrammes, Ichneumonidae, Braconidae, Tachnidae)					
<i>Aphididae</i> (<i>Sitobion avenae</i> , <i>Metopolophium dirhodum</i> , <i>Rhopalosiphum maidis</i>)	Chrysopidae, Carabidae, Anthocoridae, Staphylinidae, Coccinellidae, Cecidomyiidae, parasitoïdes (Aphidiidae)					
<i>Thrips</i> (<i>Frankliniella sp.</i>)	Chrysopidae, Anthocoridae					
<i>Tetranychus urticae</i> (araignée rouge)	Coccinellidae, Phytoseiides					
	4 sp. parasitoïdes Aphids	densité	OGM versus non OGM (isogénique) ; 10-25 plantes/site	dénombrement visuel des individus par stade		
	sauterelle (<i>Zyginidia scutellaris</i>)	densité et dégâts	10 plantes/site	Méthode directe : dénombrement nymphes et adultes sur 3 feuilles prélevées 10-15 jours avant et après anthesis ; Méthode indirecte : dégâts estimés avec "chlorophyll meter"		
	Anthocoridae, Coccinellidae, Carabidae, Dermaptera, Arachnidae (Araneae)	densité	OGM versus non OGM (isogénique) ; 10-25 plantes/site ; 3 pots pièges/site	Dénombrement visuel sur plante (anthocorides, coccinelles, araignées) ; 5 captures d'une semaine par pots pièges/saison (carabes, araignées, dermaptères)		
	<i>Daphnia magna</i>	survie	laboratoire		résultats pas valides (variétés non isogéniques)	Bohn et al 2008 cité par Ricroch et al 2010
	<i>Adalia bipunctata</i>	survie	laboratoire		résultats pas valides (exposition pas contrôlée)	Schmidt et al 2009 cité par Ricroch et al 2010
	<i>Papili polyxenes</i>	survie	champ		pas d'effet de MON810 et Bt11 (effet de Bt176)	Zangerl et al. 2001 cité par Ricroch et al 2010
		survie	laboratoire		pas d'effet de MON810 et Bt11	Hellmich et al 2001 cité par Ricroch et al 2010
	Trichoptera (<i>Lepidostoma liba</i> , <i>Helicospyche borealis</i>)	survie	laboratoire		pas d'effets (exposition possible en champ mais très vite dégradé Douville et al 2005, 2007)	Rosi-Marshall et al 2007 cité par Ricroch et al 2010
	<i>Adalia bipunctata</i> , <i>Coleomegilla maculata</i> , Chrysopidae, Anthocoridae	densité	champ	comparaison de parcelles	pas d'effet	Wold et al 2001 cité par Ricroch et al 2010

Avis du CSBT - Effets non intentionnels des PGM résistantes à des insectes (maïs MON810, Bt11, 1507)

	parasitoïdes de Rhopalosiphum padi, arachnidae, miridae, anthocoridae, syrphidae, chrysopidae, coccinellidae	taux de parasitisme	champ	comparaison de parcelles	seul effet : nombre réduit de coccinelles (Propylea quatuordecimpunctata)	Delrio et al 2004 cité par Ricroch et al 2010
	insectes prédateurs	densité		comparaison de 2 méthodes "spider-web survey" versus "whole plant visual sampling"	"spider-web survey" : plus de Nabidae dans OGM ; "whole plant visual sampling" : moins de coccinelles dans OGM	Toth et al 2004 cité par Ricroch et al 2010
	2 sp.de coccinelles	temps de développement	laboratoire		temps de développement allongé	Moser et al. (2008) cité par Ricroch et al 2010
Thrips	Metopolophium dirhodum, Sitobion avenae, Orius insidiosus, Syrphus corollae, Coccinella septempunctata, Chrysoperla carnea, parasitoïdes	densité	champ	multi-sites	grande variation de densité en fonction saison	Bourguet et al 2002 cité par Ricroch et al 2010
	arthropodes terrestres et aériens	densité	champ	comparaison de parcelles	réduction d'abondance pendant floraison chez Lepidoptera, chez mouches (Lonchopteridae, Mycetophilidae, Syrphidae), chez parasitoïdes (Ceraphronidae)	Candolfi et al 2004 cité par Ricroch et al 2010
	5 arthropodes prédateurs, le parasitoïde de la pyrale	densité	champ	comparaison de parcelles dans 3 sites en Iowa sur plusieurs années	réduction du nombre de parasitoïdes de la pyrale (effet indirect)	Pilcher et al. 2005 cité par Ricroch et al 2010
	Macrocentrotus cingulum (Braconidae parasitoïde de la pyrale), Nitidulidae	densité	champ	comparaison de parcelles	réduction du nombre de Braconidae et de Nitidulidae	Bruck et al. 2006 cité par Ricroch et al 2010
	pédofaune : microarthropodes, enchytreidae (annelides), lombrics	densité	champ	comparaison de parcelles	modification transitoire de la structure de la communauté microbienne du sol (effet de l'ITK et non OGM)	Griffiths et al. 2007 cité par Ricroch et al 2010
	arachnidae, carabidae,	densité	champ	comparaison de parcelles durant 3 ans	réduction du nombre d'araignées et carabes seulement la 1ère année	Toschki et al. 2007 cité par Ricroch et al 2010
	Coleomegilla maculate, Harmonia axyridis, Orius insidiosus	densité	champ	comparaison de 3 insecticides pulvérisés et OGM	OGM, indoxacarbe et spinosad moins toxique pour prédateurs que lambda-cyhalothrine	Musser et Shelton 2003 cité par Ricroch et al 2010
	Abeille domestique	mortalité et survie	laboratoire	méta-analyse de 25 études sur larves et adultes (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1B, Cry2A, Cry1F, Cry3A, CrY3B, Cry9C)	pas d'effet	Duan et al. 2008

Avis du CSBT - Effets non intentionnels des PGM résistantes à des insectes (maïs MON810, Bt11, 1507)

	<u>parasitoïde spécialiste</u> : Macrocentrotus grandii (dans 116 études sur 204) ; <u>prédateurs</u> <u>généralistes</u> : Coleomegilla maculata, Orius, Geocoris, Hippodamia, Chrysoperla ; <u>Détritivores</u> : collemboles ; <u>Omnivores</u> : Formicidae	densité	2 types de dispositifs : soit comparaison maïs Bt/non Bt, soit maïs Bt/non BT avec insecticide	méta-analyse : impact OGM Bt (maïs, coton, pomme de t.) sur arthropodes non cibles (204 études sur maïs)	densité de M. grandii diminue dans 93 études sur 116	Wolfenbarger et al., 2008
	Enchytraeids (annelide) : Enchytraeus albidus	survie, reproduction	laboratoire	comparaison d'alimentation par maïs Bt11 (Cry1Ab) ou isogénique	effet de Bt11 (Cry1Ab) sur reproduction (effets pléiotropiques?)	Hönemann and Nentwig, 2009 cité par Carpenter, 2011
	faune microbienne du sol	nombre de bactéries aérobiques et activités enzymatiques (déshydrogénase, nitrogénase, ATP)	champ (Portugal)	comparaison de parcelles (event 176, MON810 versus conventionnel)	pas d'effets	Oliveira et al., 2008 cité par Carpenter, 2011
	lombrics : Aporrectodea, Lumbricus	biomasse des juvéniles et des adultes	champ (USA)	comparaison de parcelles (Bt11, MON810 versus conventionnel)	pas d'effets	Zeilinger et al., 2010 cité par Carpenter, 2011
	faune microbienne du sol	nombre de bactéries, métabolisme, ADN total	champ (USA)	comparaison de parcelles (MON810 versus conventionnel)	effets sur métabolisme et structure des communautés (effets pléiotropiques ?)	Fang et al., 2007 cité par Carpenter, 2011
	méso- et macro-faune du sol : collemboles, Acari, Clitellata		champ (Suisse)	comparaison de parcelles (Bt11, MON810 versus conventionnel)	pas d'effets	Hönemann et al., 2008 cité par Carpenter, 2011

ANNEXE 6 - Méthode proposée pour surveiller l'éventuelle apparition de résistance de la pyrale à la toxine Cry1Ab

La pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis* Hübner) fait partie des espèces exposées de façon directe à la toxine du maïs *Bt*. L'émergence, chez ce ravageur, d'une résistance à la toxine Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* est un événement prévisible dont la probabilité peut être notablement augmentée du fait de l'implantation de cultures de ce maïs GM. A ce titre, le suivi de la sensibilité de la pyrale à la toxine Cry1Ab de *Bt* fait partie de la surveillance spécifique.

La démarche généralement retenue pour réaliser ce type de suivi sur les phénomènes de résistance peut être résumée comme suit :

- 1- **Caractérisation de la sensibilité de base** du bio-agresseur étudié, à partir de populations sensibles. Cette phase de l'étude est réalisée sur des populations n'ayant pas été soumises à une pression de sélection de la substance étudiée (ou de substances possédant le même mode d'action). L'objectif est d'aboutir à l'établissement de paramètres comme la LD50 (Dose Létale pour 50% de la population étudiée) ou la LD90 (Dose Létale pour 90% de la population) qui permettent de définir la sensibilité initiale du bio-agresseur.
- 2- **Mise en œuvre de la méthode sur des populations commençant à subir** (ou ayant subi) **une pression de sélection** afin de détecter les individus résistants. Cette deuxième phase permet de caractériser l'importance de la perte de sensibilité chez les individus résistants détectés (détermination du Niveau (ou Facteur) de Résistance) et de ce fait, de pouvoir définir une ou deux doses discriminantes permettant de distinguer rapidement populations sensibles et populations résistantes.

Dans le cas du suivi de la sensibilité de la pyrale à la toxine Cry1Ab, cette démarche ne s'avère pas la plus pertinente. En effet, lorsque les allèles de résistance ne sont pas identifiés et sont supposés être rares et récessifs (ce qui semblerait être le cas des allèles de résistance aux toxines *Bt*), les individus hétérozygotes pour l'allèle de résistance se comportent comme des individus sensibles et, donc, seuls sont détectés les individus homozygotes pour cet allèle. Si, de plus, la fréquence est faible, par exemple de 1×10^{-3} , le nombre attendu d'homozygotes sera de l'ordre de 1 sur 1 million. Par conséquent, la démarche "classique" ne s'avère pas suffisamment sensible pour jouer un rôle d'alerte.

Dans ce contexte, plusieurs études (Andow et Alstad, 1998, 1999 ; Andow et Ives, 2002) suggèrent que la méthode la plus pertinente est alors **la méthode dite "F2 screen"** qui présente une meilleure sensibilité. Le principe de cette méthode est de préserver la variation génétique parmi des lignées isofemelles (descendance de mère en fille) et de concentrer tous les allèles de résistance dans des génotypes homozygotes détectables dans la génération F2. Engels et al. (2010) décrivent cette technique qui est, par ailleurs, citée en référence dans les lignes directrices de l'AESA/EFSA « Guidance on PMEM of GM Plants » (EFSA Journal 2011;9 (8):2316).

Il s'agit d'établir des lignées issues de couples mâle – femelle, individualisés à partir de prélèvements massifs au terrain (sous forme soit d'ooplaques, soit d'adultes, soit de larves de dernier stade collectées à l'automne). Pour chaque lignée isofemelle, les individus de la F1 (génération fille) sont croisés entre eux afin de générer une F2 (génération fille de 2^{ème} degré) dont les larves néonates seront testées pour leur sensibilité à la toxine produite par le maïs *Bt*. A partir de 2 parents P1, chaque lignée isofemelle permet de caractériser au moins 4 allèles (2 pour chaque parent). L'estimation de la mortalité des néonates de la génération

F2, nourries avec des feuilles de maïs *Bt* ou du milieu artificiel contenant la toxine, constitue le critère d'évaluation : si aucun descendant n'arrive à survivre, il est possible de conclure qu'aucun des parents n'était porteur d'allèles de résistance aux doses de toxine *Bt* produites par le maïs ; au contraire, la présence d'individus résistants dans la F2 indique qu'au moins un des parents était hétérozygote pour un allèle de résistance. L'analyse de 50 lignées isofemelles permet ainsi de tester 200 allèles et de détecter une fréquence des allèles de résistance supérieure à 5×10^{-3} . Ainsi, en France, dans les études menées sur la pyrale entre 1999 et 2004, à partir de 784 lignées isofemelles, la fréquence des allèles de résistance à la toxine *Bt* s'est révélée inférieure à 1×10^{-3} (avec une fiabilité de 95%).

Dans la publication citée ci-dessus (Engels H. et al, 2010), cette méthode F2 screen est évaluée comme appropriée pour caractériser la sensibilité des populations de pyrale vis-à-vis de la toxine *Bt*. Son principal inconvénient réside dans le fait qu'elle est plus difficile à mettre en place sur des populations monovoltines qui chrysalident mal au laboratoire, d'où une élévation importante du coût de réalisation (plus de 1000 \$ par lignée pour les populations monovoltines, contre ≈ 300 \$ pour des populations bivoltines). Néanmoins, c'est une technique performante pour les populations bivoltines ou multivoltines pour lesquelles le risque de sélection d'allèles de résistance est logiquement le plus élevé.

Cette méthode s'avère donc la plus pertinente pour la mise en œuvre de la surveillance spécifique, du fait de sa sensibilité plus élevée que celle de la démarche "classique" (basée sur la définition des LD50 et LD90) et de sa meilleure adaptation au contexte (allèles de résistance rares et récessifs).

De plus, elle répond bien aux exigences de contrôle de l'efficacité de la stratégie des "zones refuges" (dont le but est de parvenir à une "dilution" des allèles de résistance du fait du croisement entre populations sensibles et populations soumises à pression de sélection). La connaissance de la fréquence initiale des allèles de résistance, puis le suivi de l'évolution de cette fréquence permettra ainsi de s'assurer de la pertinence du choix de cette stratégie et du maintien de son efficacité dans le temps.

Enfin, il est important de noter que seule la pyrale du maïs a fait, en France, l'objet d'une étude particulière et que le "point 0" de sa sensibilité à la toxine Cry1Ab peut être considéré comme connu.

La recherche de la sensibilité initiale de ce ravageur à la toxine Cry1F nécessitera des études spécifiques mais aucun problème majeur ne devrait entraver la mise en œuvre de la méthode F2 screen vis à vis de cette autre toxine, les difficultés de mise en œuvre liées à la biologie de ce ravageur étant bien maîtrisées.

Par contre, pour les autres lépidoptères qui pourraient être concernés par cette surveillance spécifique (sésamie du maïs, diverses noctuelles), la méthode doit pouvoir s'appliquer pour les deux types de toxines ; mais elle devra probablement faire l'objet d'adaptations (mineures ?) en fonction des caractéristiques biologiques de chacune des espèces. Concernant plus particulièrement la sésamie, des travaux ont déjà été réalisés en Grèce et en Espagne sur cette espèce et une première estimation de la fréquence des allèles de résistance a pu être réalisée dans ces deux pays (Andreadis et al., 2007).

Bibliographie

- Andow D. A., and Alstad D. N., 1998. F2 screen for rare resistance alleles. *J. Econ. Entomol* 91: 572-578

- Andow D. A., and Alstad D. N., 1999. Credibility interval for rare resistance alleles frequencies. *J. Econ. Entomol* 94: 755-758
- Andow D. A., and Ives A. R., 2002. Monitoring and adaptative resistance management. *Ecol. Appl.* 12 : 1378-1390
- Andreadis S. S., Alvarez-Alfageme F., Sanchez-Ramos I., Stodola T. J., Andow D. A., Milonas P. G., Savopoulou-Soultani M., Castanera P., 2007. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab in greek and spanish population of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol* 100 (1): 195-201
- Engels H., Bourguet D., Cagan L., Manachini B., Schuphan I., Stodola T. J., Micoud A., C. Brazier, Mottet C., Andow D. A., 2010. Evaluating resistance to *Bt* toxin Cry1Ab by F2 screen in european populations of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera : Crambidae). *J. Econ. Entomol* 103 (5): 1803-1809 (2010).

ANNEXE 7 - Le risque lié aux mycotoxines dans le cadre de la surveillance des effets non intentionnels des cultures de maïs Bt

Parmi les effets non intentionnels prévisibles de la culture du maïs Bt en France, l'incidence du contrôle des lépidoptères foreurs (pyrale et la sésamie, ravageurs majeurs du maïs) sur la mycoflore associée et les mycotoxines doivent être pris en considération. Des travaux réalisés en France (Folcher et al, 2009a & 2010) ont observé que les conséquences de ce contrôle de l'entomofaune provoquaient une modification de la mycoflore inféodée au maïs et des teneurs en mycotoxines observées à la récolte. Il convient de surveiller cette dimension pour les raisons suivantes.

1. Contexte scientifique

1.1. Etat de l'art.

D'après Sobek et Munkvold (1999), les insectes favorisent le développement des fusarioses d'une part en véhiculant les spores et d'autre part en causant des blessures sur les grains qui faciliteront l'installation du champignon. La contamination en mycotoxines a été corrélée positivement avec les dégâts dus aux insectes *Ostrinia nubilalis* (Bakan et al., 2002) et *Sesamia nonagrioides* (Avantaggiato et al., 2003). Munkvold et al. (1999) observent que les dégâts causés par ces insectes constituent un facteur aggravant en matière d'installation des *Fusarium* spp.

Des observations réalisées à partir des réseaux de surveillance nationale du territoire de la SPV ont souligné qu'un lien pouvait être établi entre des traitements agrochimiques et la réduction des teneurs en mycotoxines. Le traitement par insecticide diminue les concentrations des fumonisines, trichothécènes et zéaralénone et correspond à une diminution de la baisse de pression des ravageurs, tandis qu'un traitement additionnel par fongicide se révèle sans effet (Folcher et al., 2009a).

Des travaux impliquant du maïs Bt, contrôlant les lépidoptères, sont en accord avec ces observations. Clements et al. (2003) ont étudié l'influence de la protéine Cry1A(b) sur la contamination par les fumonisines et les *Fusarium* spp. du maïs et ont émis l'hypothèse d'un lien entre les dégâts engendrés par la larve d'*O. nubilalis*, l'installation de *Fusarium* spp. et la production de mycotoxines associées. D'autres expérimentations implantées en Europe centrale ont conclu que les maïs hybrides de type Bt réduisait les teneurs en fusariotoxines du maïs (Magg et al., 2002; Magg et al., 2003).

En France, Grenouillet (2006), dans un essai de 4 micro-parcelles réalisé sur 7 campagnes, démontre que le maïs MON 810 réduit les teneurs en zéaralénone, déoxynivalénol (DON) et fumonisine B1. Durant la même période, des essais au champ ont été menés en conditions naturelles durant les étés 1998, 1999, 2005 et 2006 dans le Sud Ouest de la France et surveillés par les Services de la Protection des Végétaux (SPV) du ministère de l'Agriculture et par les Fédérations Régionales de Défense contre les Organismes Nuisibles (FREDON). Après avoir vérifié les niveaux de contrôle de la pyrale du maïs et de la sésamie par les événements transgéniques Bt 176 et MON 810 (Folcher et al., 2006), il a pu être établi

qu'une relation liait la mycoflore observée et les teneurs en mycotoxines (fumonisines B1 et B2, trichothécènes et zéaralénone) et les lépidoptères foreurs (Folcher et al., 2009b). Si on constate une réduction importante de la teneur des mycotoxines totales, des fumonisines et de la zéaralénone, les teneurs en DON sont en revanche en augmentation dans certaines parcelles contenant du maïs Bt. Sur les 84 parcelles expérimentales dans lesquelles sont plantées en parallèle du maïs isogénique et du maïs MON 810, on constate que 55% des parcelles cultivées avec du maïs conventionnel quasi-isogénique (soit 23 sur 42) ne peuvent être commercialisées en raison d'une teneur en fumonisines au-delà des seuils européens tandis que 7% des parcelles de maïs MON 810 (3 parcelles sur 42) excèdent le seuil européen en DON, toutes les parcelles ayant une teneur en zéaralénone en dessous du seuil autorisé (Folcher et al., 2010a). Des expériences menées au Canada, qui relèvent d'autres conditions climatiques et donc d'écosystèmes différents, n'observent pas d'augmentation mais une réduction des trichothécènes (Schaafsma et al, 2002). Il semblerait que dans l'expérience de Folcher et collaborateurs, une inversion de mycoflore ait été observée entre les espèces de *Fusarium* spp. opportunistes (*F. verticilloïdes* et *F. proliferatum*) et pathogènes, agents classiques de la fusariose (*F. graminearum*). Cette observation réalisée dans le Sud-Ouest au cours d'un été, est-elle généralisable ? A ce jour, ces travaux montrant une augmentation du DON n'ont pu être confirmés, faute d'autorisation pour poursuivre les expérimentations sur le territoire national. Ils démontrent cependant que les variations des teneurs en mycotoxines et donc de la mycoflore associée sont loin d'être univoques.

1.2. Conséquences sur l'état sanitaire des récoltes

Le règlement européen (CE) N°1126/2007 de la commission du 28 septembre 2007 fixe des teneurs maximales en mycotoxines dans les céréales (seuils réglementaires de 4000 ppb pour les fumonisines B1/B2, 1750 ppb pour le déoxynivalénol (DON) et 350 ppb pour la zéaralénone) afin de garantir la qualité sanitaire des récoltes (JOUE, 2007). Les mycotoxines sont en effet source de pathologies sévères autant pour les humains que pour le bétail. Les symptômes diffèrent selon les familles de mycotoxines (AFSSA, 2006 ; Miller, 2008).

Il est donc important de connaître les quantités et la nature des mycotoxines à la récolte.

1.3. Etat des lieux en France

Un premier état des lieux des relations plantes, insectes, champignons toxinogènes et toxines associées en conditions naturelles a été dressé (Weissenberger et al., 2006). En matière de mycotoxines, on constate ainsi qu'il existe sur maïs une prévalence des fumonisines, des trichothécènes et de la zéaralénone selon une distribution géographique où les fumonisines dominent dans le Sud de la France. Les espèces de *Fusarium* spp. productrices de ces mycotoxines sont rencontrées sur le territoire français. *F. graminearum* et *F. culmorum* qui biosynthétisent des trichothécènes, sont abondants dans la partie nord de la France tandis que *F. verticillioïdes* (ex-moniliforme) et *F. proliferatum* qui se développent sur les épis de maïs et biosynthétisent les fumonisines préfèrent des températures plus élevées pour se développer et se retrouvent plus fréquemment dans le sud de la France.

1.4. Incidences économiques

Il existe un lien entre les niveaux de population d'insectes et les teneurs en mycotoxines à la récolte. Le contrôle des lépidoptères foreurs, pyrale et sésamie, au-delà des pertes de récolte qu'ils provoquent, a un impact non seulement sur la qualité sanitaire du maïs mais aussi sur sa commercialisation.

Ces aspects économiques sont particulièrement importants dans le Sud-Ouest de la France où les lépidoptères foreurs, pyrale et sésamie, développent plusieurs générations par an (multivoltinisme). Ils sont peut-être moins aigus dans la France du Nord-Est où la pyrale est monovoltine (une seule génération par année) notamment dans le Nord-Est (Delos et al., 2007). Ce multivoltinisme conduit ainsi à plusieurs traitements insecticides au cours de l'été dans le sud de la France. Une diminution de l'utilisation d'insecticides dans les parcelles impacterait non seulement les aspects économiques mais pourrait aussi rejoindre les objectifs fixés par le programme Ecophyto 2018 de diminuer si possible de 50% les quantités de pesticides utilisés.

2. Surveillance biologique proposée

En conséquence de l'argumentaire développé ci-dessus, on relève qu'il serait important de réaliser une surveillance spécifique des cultures de maïs Bt, dans le cadre d'une comparaison de parcelles de maïs Bt et non Bt situées sur des territoires et régions différentes, et prenant en compte :

- le degré d'infestation par les insectes pyrales, sésamies et leurs cortèges
- identification et quantification de la mycoflore fusarienne associée.
- Teneurs en mycotoxines (fumonisines, trichothécènes A et B, zéaraléonone) à la récolte.
- Itinéraires techniques et phytosanitaires associés aux cultures (précédents, rotations, IFT, etc...) et comparaison des résidus pesticides.

On remarquera que :

- la mycoflore fusarienne est actuellement prépondérante en France ; Cela peut évoluer en fonction du changement climatique (ex : aflatoxines présentes dans la plaine du Pô en 2003, (Regnault-Roger et Delos, 2011).
- Il est donc important de déterminer quelles sont les mycotoxines présentes à la récolte dans les parcelles de maïs Bt et conventionnels, le risque mycotoxines n'étant pas le même et l'incidence sur la santé humaine et animale différente.

Méthodologie et protocoles

On se référera aux protocoles mis en oeuvre par Weissemberger et al (2006) et Folcher et al. (2009 et 2010 et 2011) pour le choix des espèces d'insectes (ravageurs & cortège parasitoïdes), de la mycoflore et des mycotoxines.

S'agissant de travaux qui touchent à la qualité sanitaire des récoltes, il faudrait que l'ANSES soit associée au comité de cette biosurveillance spécifique des maïs Bt.

Bibliographie

- AFSSA, Agence Française de Sécurité Alimentaire des Aliments 2006. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale, rapport synthétique, 80p
- Avantaggiato G., Quaranta F., Desiderio E., Visconti A. (2002) Fumonisin contamination of maize hybrids visibly damaged by *Sesamia*, *J. Sci. Food Agr.* 83, 13–18.
- Bakan B., Melcion D., Richard-Molard D., Cahagnier B. 2002 Fungal growth and Fusarium mycotoxin content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain, *J. Agr. Food Chem.* 50, 728–731.
- Clements M.-J., Campbell K.-W., Maragos C.-M., Pilcher C., Headrick J.-M., Pataky J.-K., White D.-G. 2003. - Influence of Cry1Ab protein and hybrid genotype on fumonisin contamination and Fusarium ear rot of corn. *Crop Science*, 43, 1283-1293.
- Delos M., Weissenberger A., Ioos R., Folcher L., Rose S., Gérault F., Eychenne N., Regnault-Roger C. 2007. Adaptation à la France des outils de prévention de la contamination par les fusariotoxines sur maïs, *Phytoma La Défense des Végétaux*, 600 :28-31.
- Folcher L., Eychenne N., Weissenberger A., Jarry M., Regnault-Roger C. Delos M. 2006 Study of effects of Bt maize (*Zea mays* L.) events on lepidoptera *Ostrinia nubilalis*, *Sesamia nonagrioides* in southwestern France, *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 71(2a), 227–232.
- Folcher L., Jarry M., Weissenberger A., Gérault F., Eychenne N., Delos M., Regnault-Roger C. 2009a Comparative activity of agrochemical treatments on mycotoxin levels with regard to corn borers and Fusarium mycoflora in maize (*Zea mays* L.) fields, *Crop Prot.* 28, 302–308.
- Folcher L., Jarry M., Weissenberger A., Eychenne N., Delos M., Regnault-Roger C. 2009b Biocontrol of *Ostrinia nubilalis* and *Sesamia nonagrioides* by Bt maize in southwestern France: Search of biological indicators by model-based approach for managing mycotoxin risks, 2009 IOBC/wprs Bull 45, 487-490
- Folcher L., Delos M., Marengue E., Jarry M., Weissenberger A., Eychenne N., Regnault-Roger C. (2010) Lower mycotoxin levels in Bt maize grain *Agron.Sustain Dev*, 30 : 711-719
- Folcher L., Bourguet D., Thiéry D., Pélozuelo L., Phalip M., Weissenberger A., Eychenne N., Regnault-Roger C., Delos M. (2011) Changes in Parasitoid Communities Over Time and Space: A Historical Case Study of the Maize Pest *Ostrinia nubilalis*. *PloS One* 2011, 6(9), e-25374,1-12 <http://www.plosone.org/>
- Grenouillet C. 2006 Intérêt du maïs Bt Yieldgard® (protégé de la pyrale et de la sésamie) pour limiter le risque de développement de fusarioses des épis et la présence de mycotoxines dans les grains, Actes 8ème Conférence Internationale sur les Maladies des plantes, 5-6 décembre 2006. Association Française des Plantes (AFPP), Tours, France, p 260-876.
- JOUE (Journal Officiel de l'Union Européenne), 2007. RÈGLEMENT (CE) N°126/2007 DE LA COMMISSION du 28 septembre 2007 modifiant le règlement (CE) N°1881/2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées

alimentaires en ce qui concerne les toxines du *Fusarium* dans le maïs et les produits à base de maïs. JOUE, L255, 14-17.

Magg T., Melchinger A.-E., Klein D., Bohn M. 2002. Relationship between European Corn Borer resistance and concentration of mycotoxins produced by *Fusarium* spp. In grains of transgenic Bt maize hybrids, their isogenic counterparts, and commercial varieties. *Plant Breeding*, 121, 146-154.

Magg T., Bohn M., Klein D., Merditaj V., Melchinger A., 2003. - Concentration of moniliformin produced by *Fusarium* species in grains of transgenic Bt maize hybrids compared to their isogenic counterparts and commercial varieties under European Corn Borer pressure. *Plant Breeding*, 122, 22-327.

Miller J.D. 2008 Mycotoxins in small grains and maize: Old problems, new challenges, *Food Addit. Contam.* 25(2), 219–230.

Munkvold G.-P., Hellmich R.-L., Rice L.-G., 1999. Comparaison of fumonisin concentration in kernel of transgenic Bt maize hybrids and non transgenic hybrids. *Plant Disease* 83, 130-138.

Regnault-Roger C, Delos M. (2011) Intérêt des PGM pour la qualité des productions agricoles: le maïs Bt. In : *Biotechnologies végétales*, coord Ricoch A., Dattée Y., Fellous M., Vuibert, Paris, pp 200-211

Schaafsma, A.W.; Hooker, D.C.; Baute, T.S.; Tamburic-Illinic, L. 2002 Effect of Bt corn hybrids on deoxynivalenol content in grain at harvest. *Plant Dis.*, 86(10), 1123–1126.

Sobek E.A., Munkvold G.P. (1999) European Corn Borer (*Lepidoptera* : *Pyralidae*) larvae as vectors of *Fusarium moniliforme*, causing kernel rot and symptomless infection of maize kernels, *J. Ecol. Entomol.* 92, 503–509.

Weissenberger A , loos R., Folcher L., Regnault-Roger C., Rose S.,, Gérault F.,Eychenne N., Delos M 2006. Mycotoxines en maïs : état des lieux en France et premiers éléments de gestion Actes 8ème conférence internationale sur les maladies des plantes, Tours France 5-6 décembre, Association Française des Plantes (AFPP), ISBN 2-905550-07-4, p 68-70.

ANNEXE 8 - Fiche de données paysagères et culturelles

Remarque : les mentions en italique sont à compléter par le technicien

Généralités :

Région administrative :

Nom de la parcelle :

Numéro d'îlot :

Surface parcelle :

*Code parcelle** :

*il est très important d'utiliser un code parcelle cohérent et un numéro unique par parcelle. Si la parcelle suivie est issue du réseau Biovigilance antérieur à 2011, vous pouvez, soit utiliser le même code, soit donner la correspondance. Ce point est essentiel à la valorisation des résultats de suivis pluriannuels.

Commune parcelle :

Lieu-dit parcelle (indiqué sur Carte IGN 1/25 000)

Code postal :

Géoréférencement parcellaire

Coordonnées Lambert (XY)

Longitude (X) : (en coordonnées Lambert II étendu)

Latitude (Y) :

Altitude : (en mètre)

Milieu

Biotope

nom de la petite région agricole :

climat : (voir carte bioclimatique)

océanique

océanique à semi-océanique nord

océanique à semi-océanique sud

semi-océanique à semi-continental

semi-continental nord

semi-continental sud

montagnard

haute montagne

méditerranéen (zone de l'olivier)

méditerranéen (zone de l'oranger)

typologie du paysage :

open field : espace ouvert totalisant d'importantes surfaces cultivées en grandes cultures (ex. céréales, oléagineux, protéagineux, légumes de plein champ)...

bocage à dominante polyculture-élevage : cultures diversifiées, prairies permanentes, haies vives, pièces d'eau...

bassin arboricole (nombreux vergers)

vignoble (ex. zone AOC)

zone horticole (secteur dédié aux productions végétales spécialisées : légumes, fleurs, pépinières)

zone péri-urbaine (ex. ceinture verte d'agglomération, parcelles maraîchères, horticoles...)

milieu citadin : ville ou village (ex. ZNA)

zone industrielle : (zone non-agricole, cultivée ou non)

autre (préciser)

topographie les lieux :

plaine

plateau

haut de coteau

bas de coteau

fond de vallée

colline ou montagne : (préciser l'altitude)

zone maritime : préciser si front de mer (bande côtière) oui non

autre (préciser)

Parcelle : (en vert, données obligatoires)

superficie

hors-sol : (préciser type de substrat)

pleine terre : préciser type de sol (ex. argilo-calcaire, limoneux à tendance acide et hydromorphe, sablonneux sec + nom local)

Texture (codification du triangle de Henin) :

Taux matières organiques :

Estimation charge en cailloux (%)

pH : calcaire actif ou IPC :

sous abri (ex. tunnel, serre) sous filets anti-grêle

plein air : (préciser l'exposition)

(7) liée à des événements accidentels ou à des actions humaines (par ex. reboisements résineux introduits après défrichage).

(8) reste d'une ancienne matrice forestière, réservoir d'espèces (= tache d'environnement). Ses limites concaves indiquent sa régression (par ex. bois de chênes).

Pratiques culturales

préparation du sol avant culture

Rotation

précédent cultural (préciser)

culture dérobée (indiquer si il y a association d'espèces et les proportions utilisées en mélange)
antéprécédent cultural (préciser)

préparation du sol : oui non

sous-solage : oui non profondeur :

défoncement : oui non profondeur :

labour profondeur : date :

outil à disques type d'outil : profondeur : date :

outil à dents type d'outil : profondeur : date :

culture

culture :

semis : type d'outil (préciser si semis direct) : date :

semences certifiées (étiquette bleue du SOC) ou G4 (étiquette blanche)

semences de ferme produites sur l'exploitation

semences de ferme produites par un autre agriculteur

mélange de semences certifiées et de ferme

préparation des semences

semences triées et traitées

semences ni triées, ni traitées

plantation : date :

manuelle mécanique (préciser type d'outil)

variétés, clones ou cépages :

porte-greffe :

conduite culturale

écartement entre rangs : écartement sur le rang :

type de taille :

hauteur de rognage : orientation des rangs : pente : exposition :
 récolte date O rendement

aménagement ruraux, fertilité du sol

drainage oui... non

irrigation oui non

amendements oui non

fumure organique (préciser) date :

amendements calciques (préciser) date :

fertilisation oui non

organique (préciser produits et nombre d'apports au cours du cycle de culture)

organo-minérale (préciser produits et nombre d'apports au cours du cycle de culture)

minérale (préciser produits et nombre d'apports au cours du cycle de culture)

gestion des adventices en interculture (annuelle ou bisannuelle)

destruction des adventices : oui non

chimique produit(s) : dose(s) : date(s) :

faux-semis

mécanique : (préciser ci-dessous)

labour profondeur : date :

outil à disques type d'outil : profondeur : date :

outil à dents type d'outil : profondeur : date :

gestion de l'enherbement en culture ou en parcelle ZNA

enherbement naturel ou semé de l'inter-rang (préciser espèces semées)

tonte (ex. gyrobroyage)

désherbage partiel (ex. inter-rang en verger ou vigne)

désherbage total du rang et de l'inter-rang

désherbage mécanique : (préciser – ex. herse-étrille, bineuse)

thermique (préciser – ex. vapeur en plein, propane localisé en interligne)

chimique : (préciser – tableau)

1 ^{er} traitement herbicide	2 ^{ème} traitement herbicide	3 ^{ème} traitement herbicide

date			
stade culture BBCH			
produit commercial			
substances actives			
Dose sa/ha			
adjuvant			
volume/hectare			
hygrométrie			
température			
vent			
pluie après le traitement (dans l'h ou dans les 24h)			

	4 ^{ème} traitement herbicide	5 ^{ème} traitement herbicide	6 ^{ème} traitement herbicide
date			
stade culture BBCH			
produit commercial			
substances actives			
Dose sa/ha			
adjuvant			
volume/hectare			
hygrométrie			
température			
vent			
pluie après le traitement (dans l'h ou dans les 24h)			

Evaluation complémentaire vis-à-vis d'espèces végétales à risque particulier

plantes invasives d'origine exotique (préciser – ex. ambroisie, sicyos) :

O date du 1^{er} signalement :

proportion occupée par rapport à la surface totale de la parcelle

plantes parasites (préciser – ex. custute, orobanche) :

date du 1^{er} signalement :

proportion occupée par rapport à la surface totale de la parcelle

Registre des traitements phytosanitaires réalisés sur la parcelle (hors herbicides)

Ce registre phytosanitaire indique les traitements antiparasitaires à usage agricole et assimilés effectués sur la parcelle suivie en biovigilance.

traitement des semences et plants

	TS	TP
Date (si réalisé à la ferme)		
produit commercial		
substances actives		
Dose sa		

traitements au champ

	T1	T2	T3	T4...
usage				
date				
produit commercial				
substances actives				
Dose sa/ha				

Suivi de la qualité des milieux (eaux, air, sols) vis-à-vis des produits phytosanitaires

un suivi de la qualité des milieux vis-à-vis des produits phytosanitaires est-il réalisé dans votre région administrative ?
 oui non

résultats issus du groupe régional d’action vis-à-vis des produits phytosanitaires type GRAPP
 résultats des agences de l’eau (contrôle opérationnel des eaux de surface), DDPP (eau potable)...

Existe-il un ou plusieurs points de mesure à proximité de la parcelle suivie en biovigilance ?
 non oui (préciser distance)

principales molécules déclassantes pour la qualité (3 maximum/catégorie)

eaux souterraines (préciser)

eaux de surface (préciser)

air (préciser)

sols (préciser)

certaines de ces molécules sont-elles utilisées sur la parcelle suivie en biovigilance ?

non

oui (préciser les usages correspondants, nombre de traitements/an, doses – sauf si déjà fait pour les herbicides)