

Analyse critique du rapport de Monsieur Yvon LE MAHO

par Jean-Baptiste BERGÉ,

Directeur de Recherches, INRA honoraire

et

Agnès RICOCH,

Maître de Conférences, AgroParisTech

2 octobre 2008

Préambule

Nous avons apporté des commentaires au rapport de Monsieur Le Maho du 21 août 2008 en guise de réponse à l'analyse réalisée par la société Monsanto de l'avis du CPHA. Nous avons utilisé notre base de données bibliographiques, riche de 10954 publications portant sur les aspects agronomiques des plantes génétiquement modifiées (PGM) dont 3031 références concernent le maïs parmi lesquelles 1257 références portent sur la résistance aux insectes.

La plupart des publications indiquent que l'analyse des impacts des cultures de PGM doit être faite au cas par cas aussi bien en ce qui concerne les espèces cultivées (maïs et cotonnier) que les traits utilisés pour transformer les plantes (résistance aux herbicides et aux insectes). Seule cette démarche peut être validée scientifiquement pour estimer les risques du maïs Bt sur l'environnement ou la santé.

Dans le texte ci-dessous, les commentaires de J.-B. Bergé et A. Ricoch sont surlignés en jaune.

Argumentaire

L'Avis rendu le 9 janvier 2007 par le Comité de Préfiguration de la Haute Autorité (CPHA) sur les OGM a été validé point à point par l'ensemble des membres présents. Ces derniers comprenaient des scientifiques de toutes disciplines, des représentants des agriculteurs, des consommateurs, des semenciers, des usagers du système de santé, des associations environnementalistes, des représentants des Maires de France, des Départements de France, des Régions de France, du Sénat et de l'Assemblée Nationale.

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

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

Le CPHA n'a pas par ailleurs remis en cause le fait que les maïs Bt aient eu un impact moindre que les insecticides sur l'environnement : l'Avis cite d'ailleurs la référence de Marvier et al. 2007. Mais s'il est vrai que les quantités d'insecticides utilisés ont initialement été réduites (si l'on ne tient pas compte de la toxine insecticide Bt produite par la plante, qui reste à mieux quantifier), plusieurs sources émanant de différents pays (USDA, INTA) ou d'études menées sur divers continents (Chine, Inde -Qayum (2005) (1) C'est sur le coton ; 2) c'est une publication non relues par des pairs)) indiquent des augmentations parfois considérables par la suite des produits chimique épandus, y compris par rapport aux quantités utilisées sur les cultures conventionnelles antérieures. Pour le maïs, l'augmentation a déjà été constatée à partir de 2002 (citer une publication svp) ; Parallèlement, les données du Ministère de l'Agriculture des Etats-Unis montrent que de 1994 à 2005, les plantes RoundUp Ready de Monsanto ont provoqué une multiplication par quinze des quantités de glyphosate utilisées (Benbrook 2001 & 2003). (1- Les plantes RoundUp ne sont pas des plantes Bt mais des plantes résistantes au glyphosate ; 2- Benbrooks indique clairement qu'il y a des économies d'insecticides avec le maïs Bt ;, ainsi écrit Benbrook CM, dans *Genetically Engineered Crops and Pesticide Use in the United States: The First Nine Years*. BioTech InfoNet: Technical Paper Number 7 (2004) : *“GE corn, soybeans and cotton have led to a 122 million pound increase in pesticide use since 1996. While **Bt crops have reduced insecticide use by about 15.6 million pounds over this period, HT crops have increased herbicide use 138 million pounds. Bt crops have reduced insecticide use on corn and cotton about 5 percent, while HT technology has increased herbicide use about 5 percent across the three major crops. But since so much more herbicide is used on corn, soybeans, and cotton, compared to the volume of insecticide applied to corn and cotton, overall pesticide use has risen about 4.1 percent on acres planted to GE varieties.**”*).

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

- Par sa composition de scientifiques et de membres divers de la société civile, le CPHA a entraîné un élargissement des problématiques traitées.

- Au plan scientifique, le CPHA avait les mêmes compétences que la CGB ou l'AESA mais rassemblait en sus des experts du monde socioéconomique.
- Par son avis le CPHA a soulevé de nombreuses interrogations qui subsistent toutes encore aujourd'hui du fait des insuffisances relevées dans les études existantes.

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

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

Selon l'entreprise, c'est l'ensemble des publications depuis 1988 dont il faudrait tenir compte pour se faire une opinion sur l'existence éventuelle de risques. Cela signifie-t-il qu'en cas de résistance apparue récemment de la part d'un ravageur, il faudrait prendre en compte toutes les publications des années antérieures en les considérant comme des faits atténuant la portée des derniers résultats obtenus ? C'est oublier le caractère évolutif des processus biologiques, comme c'est évidemment le cas pour l'apparition de la résistance à une toxine produite par une plante transgénique. (L'auteur Le Maho donne un exemple qui va à l'encontre de ce qu'il veut démontrer puisqu'aucune résistance n'a été mise en évidence chez les ravageurs ciblés par le maïs Bt. De plus, la seule résistance observée n'a pour l'instant pas eu de confirmation, or on sait que la présence d'individus résistants doit être confirmée surtout quand le facteur de résistance n'est pas important (se reporter au rapport Bergé & Ricroch, 2008, http://agribiotech.free.fr/analyse_Berge-RicrochMON810.pdf)).

Egalement selon l'entreprise, le CPHA aurait du réaliser une approche « structurée » de l'évaluation des risques, qui nécessite à la fois d'identifier un danger potentiel et de déterminer la probabilité qu'il se réalise. L'évaluation des risques est un processus complet qui n'est pas nécessairement intégralement mis en oeuvre par les pouvoirs publics ou les décideurs, notamment lorsqu'il s'agit de risques dont on ne connaît pas ou mal la cinétique de développement dans l'environnement, ou s'agissant de risques sanitaires lorsqu'on connaît mal l'exposition de la population ou la relation dose réponse. Se pose également la question de risques non avérés ou pour lesquels des doutes peuvent être légitimement émis ou totalement inattendus : sur ce point, l'entreprise ne semble pas tenir compte de l'expérience des pathologies liées aux maladies à prions, comme la maladie de Creutzfeldt-Jacob (MJC) ou la maladie de la vache folle (ESB). Ces épisodes ont montré que les risques sanitaires inhérents aux nouveaux procédés agronomiques et industriels ont clairement été sous-estimés dans le passé, comme le montre la publication « Signaux précoces, leçons tardives » de l'Agence Européenne pour l'Environnement, et doivent donc être reconsidérés avec plus de sérieux. Il faut rappeler que, s'agissant d'un produit OGM soumis à autorisation en raison des risques potentiels qu'il peut présenter, c'est à l'entreprise qui met sur le marché ce produit, d'évaluer ces risques potentiels identifiés par le CPHA (quel(s) est (sont) le(s) risque(s) potentiel(s) identifiés par le CPHA ?) et de confirmer l'innocuité du produit. Le CPHA a par conséquent été parfaitement dans son rôle en exprimant ses doutes sur la capacité des études et connaissances actuelles à étayer valablement les affirmations d'innocuité que défend l'entreprise.

∞ Le nombre limité de références de l'avis répondait à une volonté de concision mais faisait suite à un travail de synthèse de plusieurs semaines par les experts. (Pourquoi le CPHA n'a-t-il pas replacé ces données dans le contexte des connaissances théoriques et expérimentales acquises au préalable ? Surtout quand ce contexte n'infirme pas forcément les données nouvelles mais les relativise par rapport au fait que ces données nouvelles obtenues en comparant PGM et non PGM sont du même ordre que celles obtenues en comparant l'effet de variétés non PGM entre elles ou que celles obtenues en comparant les effets de rotation dans le temps, effets qui peuvent s'inverser d'une année sur l'autre ? (se reporter au rapport Bergé & Ricroch, 2008, *ibidem*).

∞ Les connaissances et techniques biologiques évoluant en permanence les résultats scientifiques récents ne peuvent pas être réfutés seulement sur le fait qu'ils divergent de résultats antérieurs (Mais il ne faut pas les isoler du contexte scientifique connu (voir commentaire précédent)).

∞ La mauvaise connaissance de la cinétique de développement des risques liés aux OGM ainsi que l'éventualité de risques non avérés ou inattendus, ne permettent pas d'en réaliser une évaluation correcte (Les risques non avérés ou inattendus existent dans tous les domaines, alors faut-il arrêter toute innovation ? Un des moyens de se prémunir est le suivi ex-post ; pour l'instant ce suivi montre que le maïs Bt bien que cultivé sur des millions d'Ha n'a pas eu d'effets non avérés ou inattendus, bien au contraire il a évité de nombreux empoisonnements dus à une diminution de l'utilisation des insecticides).

∞ Les arguments généraux avancés par la Société Monsanto ne permettent donc pas de réfuter le travail du CPHA, qui souligne en particulier le manque de connaissances sur les risques potentiels liés aux OGM.

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

➤ Sur la dissémination :

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

En effet, on compte plus de 1500 publications scientifiques depuis 1998 sur la dissémination du transgène de maïs et les problèmes de coexistence entre cultures transgéniques ou non. Les travaux montrent à la fois la grande variabilité de la dispersion et le fait qu'elle peut survenir sur de très grandes distances (plus de 50 km par exemple), notamment lorsque des cours d'eau traversent des champs de culture transgénique (Klein et al., 2003, Rosi-Marshall et al., 2007, Brunet 2006, Quist et Capella, 2001) (Les publications citées ne font aucunement mention de cours d'eaux). Or la production de semences de maïs est particulièrement sensible à la pollinisation croisée (Messéan et al. (2006)). Il a été avancé que la plupart des variétés de maïs cultivées sont des hybrides et qu'elles sont produites dans des champs où la quantité de pollen émise est sensiblement plus faible que dans les productions de graines. En moyenne, du fait des plantes castrées et stériles, seule une plante sur trois dans un champ de production de semences émet du pollen. Les plantes femelles sont par ailleurs plus sensibles au pollen extérieur du fait qu'elles sont séparées des plantes mâles. Enfin, l'hybride commercialisé produit plus de pollen (de 9.6 à 11.3 millions de grains par plante ; Uribe Larrea et al., 2002) que les lignées parentales de l'hybride (0,5 à 3 millions de grains par plante ; Fonseca et al., 2003) (Cette problématique est vraie pour la cohabitation entre production de semences et toutes les variétés cultivées, qu'elles soient PGM ou non).

Il faut également tenir compte de la dissémination de pollen génétiquement modifié par les insectes pollinisateurs. Comme cela a par exemple été constaté par huissier en France et rapporté au tribunal, un tel pollen a ainsi été trouvé en proportion importante (environ 40%) dans des ruches situées à plus d'un kilomètre d'un champ de maïs MON 810 (Chambre d'Agriculture d'Agen, 2006, et atelier OGM Grenelle 2007) (Rappelons que le maïs est une espèce à pollinisation anémophile et que si les abeilles butinent sur les

fleurs mâles de maïs, elles ne sont aucunement attirées par les fleurs femelles qui ne sont pas nectarifères donc n'interviennent pas dans l'hybridation croisée entre maïs GM et non GM).

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

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

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

Les éléments suivants ont été mis en évidence pour le maïs :

- ⚡ Dissémination à distance kilométrique (mais quel % d'hybridation croisée à l'arrivée ?)
- ⚡ La production de semence de maïs est particulièrement sensible à la pollinisation croisée
- ⚡ L'hybride commercialisé produit plus de pollen que les lignées parentales
- ⚡ La dissémination du pollen GM par les insectes est un fait constaté (Mais cette dissémination n'impacte pas l'hybridation croisée entre maïs-Bt et non Bt ; voir argumentaire *supra*.)
 - ➔ Ces éléments réunis montrent que le phénomène de contamination accidentelle ne peut être négligé. Sur le territoire européen où les territoires sont beaucoup plus morcelés et les structures agraires beaucoup plus réduites qu'aux Etats unis, une dissémination aura inévitablement des impacts plus grands sur les agro-écosystèmes (Si les impacts auxquels pense l'auteur concernent les repousses et l'hybridation avec les espèces sauvages apparentées à la culture GM, rappelons que cela ne concerne pas le maïs en dehors du Mexique (voir rapport Bergé & Ricroch, 2008 *ibidem*))

➤ Apparition de résistance chez les ravageurs

La culture de maïs et de coton Bt, avec une production constante de la toxine par tous les organes de la plante modifiée, a atteint une surface totale d'environ 40 millions d'hectares dans le monde (James, 2006), offrant ainsi aux ravageurs une opportunité de développement de résistances à des toxines jamais atteinte

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

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

Comme l'indique très justement l'entreprise, pour que la résistance en plein champ à un produit insecticide mène à la baisse d'efficacité du produit, il faut une haute fréquence (plus de 30% d'insectes résistants dans une population). Justement, le risque est bien réel, comme le prouve la nouvelle revue que vient de faire paraître l'équipe de Bruce Tabashnik de l'Université d'Arizona (Tabashnik et al., 2008). Cette revue, qui est donc postérieure à l'analyse par l'entreprise de l'avis du CPHA, démontre l'apparition de phénomènes de résistance liée à un caractère non récessif chez *Helicoverpa zea* dans l'Arkansas et le Mississippi pour les cotonniers transgéniques utilisant la toxine Bt Cry1Ac (Il faudrait rajouter ici que « *In the case of one insect, the cotton bollworm (Helicoverpa zea), a resistance could be proven to have arisen in nature according to the research article. Such insects were found in cotton fields in the southwest of the USA. With regard to other pests, sensitivity to the Bt toxin was proven to be almost fully unchanged. Insects under investigation included other cotton pests such as the pink bollworm (Pectinophora gossypiella), which is the most significant pest in many regions, as well as the corn borer (Ostrinia nubilalis), which is widespread in Europe and threatens maize growers.* » From GMO Safety Site - Supported by Federal Ministry of Education and Research - Allemagne). Les zones refuges n'ont donc fait que retarder l'apparition de la résistance. Si la situation est restée sous contrôle, c'est notamment parce que des pesticides ont été utilisés : en effet, la toxine CryAc seule n'est pas suffisante face à des populations importantes du ravageur (US EPA, 1998 et

Jackson et al., 2004) (Il est étonnant que des publications de cette date (surtout 1998 qui présente un faible recul par rapport à la date de mise sur le marché du maïs Bt) puissent expliquer des résultats publiés en 2008 ? De plus, la publication de Jackson et al. (2004) est un compte-rendu d'essai montrant l'effet de l'utilisation des PGM Bt et des insecticides, en revanche rien n'indique que ce système est utilisé en pratique). L'explication de l'apparition plus rapide d'une résistance en Arkansas et au Mississippi pourrait être la plus faible proportion de zones refuge (39%) qu'en Caroline du Nord (82%). Ainsi on pourrait considérer en ce qui concerne le maïs MON 810 que la surface des zones refuge correspondant à la totalité des surfaces cultivées en maïs non OGM devrait être au minimum de 70 à 80% de la surface totale cultivée en maïs OGM et non OGM afin d'éviter de favoriser l'apparition de résistances sur le long terme. (On peut se demander pourquoi est mentionnée une publication sur le cotonnier alors qu'il en existe de nombreuses sur le maïs. Pour information, nous citons ci-dessous quelques unes, 30 publications tout de même, entre 2007 et 2008 et une en 2006 :

- 1) Schuphan I, 2006. ProBenBt - Protecting the benefits of Bt-toxins from insect resistance development by monitoring and management. 2003 - 2005 EU (Contract number: QLK3-CT-2002-01969) RWTH Aachen University.
http://www.bio5.rwth-aachen.de/english/content/index.htm?http://www.bio5.rwth-aachen.de/english/content/Forschung/effect/effect_projects/ProBenBt_engl.htm. (*Populations of ECB were collected from Germany, Slovakia and Italy, and MCB from Spain and Greece. About 1345 lines of ECB and 160 lines of MCB were screened. No major resistance alleles to Bt maize were detected. This implies that recessive resistance alleles are rare in these European populations.*)
- 2) Alcalde et al, 2007. Insect Resistance Monitoring for Bt **maize** in the EU : the proposal from the Industry IRM working group programs. Workshop on Post Market Environmental Monitoring of Genetically Modified Plants: Harmonization and Standardization - a Practical Approach. 26-27 April 2007, Berlin-Dahlem. (*No significant changes found so far in susceptibility to CryIAb toxin in **Sesamia nonagrioides** and **Ostrinia nubilalis** populations*).
- 3) Andreadis et al, 2007. Frequency of Resistance to Bacillus thuringiensis Toxin Cry1Ab in Greek and Spanish Population of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology, Vol. 100, No. 1, February 2007 195-201. (*Our results suggest that the frequency of alleles conferring resistance to Cry1Ab, regarding the population of *S. nonagrioides*, may be rare enough so that the high-dose/refuge strategy could be applied with success for resistance management.*)
- 4) Cullen, 2007. Insect Resistance Management when Planting Bt Corn Hybrids. University of Wisconsin - Integrated Pest & Crop Management.
<http://ipcm.wisc.edu/WCMNews/tabid/53/EntryID/218/Default.aspx>.
- 5) Dalecky, 2007. La pyrale se disperse-t-elle suffisamment pour limiter durablement la résistance au maïs Bt via la stratégie "haute dose/refuge ? Cahiers Agricultures vol. 16 (3) 171-176. (*Dix ans après les premières cultures de maïs Bt aux États-Unis, aucune larve résistante à ces maïs n'a encore été détectée en champ, sans qu'il soit possible de dire s'il faut y voir une preuve de l'efficacité de la stratégie HDR telle qu'elle est mise en place aux États-Unis – dont les études présentées ici montrent qu'elle n'est pas forcément optimale – ou un répit dû à une fréquence initiale extrêmement basse des allèles de résistance.*)
- 6) Engels, 2007. F2-Screen and field sampling with light trap cages, two methods for a resistance monitoring in transgenic crops. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland. (Neither of the methods revealed any resistant corn borer larvae in Germany.)
- 7) Huang, 2007. Frequency of alleles conferring resistance to Bacillus thuringiensis maize in Louisiana populations of the southwestern corn borer. Entomologia Experimentalis et Applicata 122 (1), 53–58. (*Among Louisiana populations of *D. grandiosella*, no major resistance alleles were detected in these populations. The results showed that the expected Bt resistance allele frequency in the Louisiana populations was <0.0035 with 95% probability and a detection power of 83.9 ± 0.6%. The F2 screen*

indicates that Bt resistance allele frequencies in D. grandiosella are low among the Louisiana populations and should meet the rare resistance allele requirement of the 'high dose/refuge' strategy.)

- 8) Huang, 2007. Use of F2 screening to identify sugarcane borer resistance in Bt corn: How can this technique be employed more broadly? The 2007 ESA Annual Meeting, December 9-12.
- 9) Huang, 2007. Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae) Resistance to Transgenic *Bacillus thuringiensis* Maize. *Journal of Economic Entomology*, Vol. 100, No. 1, February 2007 pp.164-171.
- 10) Huang, 2007. F2 screen for resistance to a *Bacillus thuringiensis*-maize hybrid in the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae). *Bull Entomol Res.* 2007 Oct; 97(5):437-44. *(With the F2 screening method, 213 iso-line families of D. saccharalis were established from field collections in northeast Louisiana, USA and were screened for Bt resistance. One family was confirmed to carry a major Bt resistance allele(s).)*
- 11) Kaiser-Alexnat & Wagner, 2007. Studies on the early detection of resistance development of the European Corn Borer (*Ostrinia nubilalis*) to the B.t.-corn-toxin Cry1Ab and clearing up potential resistance mechanisms. *Pflanzenschutzdienstes* vol. 59 (12) 302-309. *(A study was conducted in Germany during 2001-03 to detect early resistance development of O. nubilalis to Bacillus thuringiensis Cry1Ab toxin. Late instar larvae were collected from transgenic (bt) maize fields and tested via F2 screening. The early first instar F2 larvae were tested in bioassays for their reaction to the toxin. No resistant individuals were found.)*
- 12) LeGloahec & Gahan, 2007. Genetic approach to identifying Bt resistance genes in *Heliothis virescens*. *Information System for Biotechnologie: News Report* Nov 2007. <http://www.isb.vt.edu/news/2007/nov07.pdf>. *(Since there is no Bt resistance in field populations of Heliothis virescens (Hv), we study a Bt-resistant laboratory strain called YHD2.)*
- 13) Li et al, 2007. Resistance to *Bacillus thuringiensis* endotoxins in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Biopesticides International* 3(2) 96-107. *(The data indicate that resistant insect populations with reduced proteinase activity obtained in laboratory are not able to challenge the efficacy of Bt transgenic crops.)*
- 14) Li et al, 2007. DiPel-Selected *Ostrinia nubilalis* Larvae Are Not Resistant to Transgenic Corn Expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab. *Journal of Economic Entomology*, Volume 100, Issue 6, 1862–1870. *(The data demonstrate that Bt-resistant and unselected control O. nubilalis larvae were similar in susceptibility to MON810 and Bt11 event corn hybrids.)*
- 15) Meise & Langenbruch, 2007. Susceptibility of German populations of the Corn Borer *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) to a *Bacillus thuringiensis* endotoxin. *Pflanzenschutzdienstes* vol. 59 (12) 297-301. *(The geographical and annual differences seem to be based on fluctuations in natural sensitivity of the populations, because the populations were not exposed to Bt-toxin selection in former years. It has to be concluded from the results presented here, that a large variability of European corn borer (ECB) baseline sensitivity must be expected in case of a resistance monitoring in Germany. Differences in sensitivity of a factor 10 have to be considered as natural fluctuations and are not indicating differences in resistance.)* (cet article montre que, dans les populations de *O. nubilalis* n'ayant pas été traitées au Bt depuis plusieurs années, on observe des variations de DL50 imputables à un polymorphisme génétique existant pour de nombreux caractères chez les organismes. Phénomène bien connu vis-à-vis de la sensibilité aux insecticides.)
- 16) Siegfried, 2007. European corn borer and corn rootworm resistance to Bt corn: The story of two different resistance monitoring programs. The 2007 ESA Annual Meeting, December 9-12, 2007: *Advances in Bt Resistance: From Mechanisms to Monitoring*, December 9, 2007.
- 17) Sivasupramaniam, 2007. A global approach to resistance monitoring. *Journal of Invertebrate Pathology*, Volume 95, Issue 3, 224-226. *(To date, Monsanto has conducted baseline/monitoring studies in Argentina, Australia, Brazil, Canada, China, Colombia, India, Mexico, the Philippines, South Africa, Spain, and the United States. Examples of pests on which resistance monitoring has been conducted include cotton bollworm, Helicoverpa zea, European corn borer, Ostrinia nubilalis,*

- pink bollworm, Pectinophora gossypiella, Southwestern corn borer, Diatraea grandiosella, tobacco budworm, Heliothis virescens, and western corn rootworm, Diabrotica virgifera virgifera, in the United States, cotton bollworm, Helicoverpa armigera, in China, India and Australia, and H. virescens and H. zea in Mexico. No field-selected resistance to Bt crops has been documented.)*
- 18) Wu X et al, 2007. Evaluation of Transgenic Bacillus thuringiensis Corn Hybrids Against Cry1Ab-Susceptible and -Resistant Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Economic Entomology, Volume 100, Number 6, December 2007, 1880-1886. *(Bt corn hybrids expressing a “high dose” for European corn borer, Ostrinia nubilalis (Hübner), may not produce a sufficient high dose for the sugarcane borer.)*
 - 19) Wang et al, 2007. Mechanism of Resistance to Bacillus thuringiensis Toxin Cry1Ac in a Greenhouse Population of the Cabbage Looper, Trichoplusia ni. Applied and Environmental Microbiology, February 2007, 1199-1207, Vol. 73, No. 4.
 - 20) Anilkumar et al, 2007. Production and Characterization of Bacillus thuringiensis Cry1Ac-Resistant Cotton Bollworm Helicoverpa zea (Bodddie). Appl. Environ. Microbiol. 2008 74: 462-469. *(These results aid in understanding why this pest has not evolved B. thuringiensis resistance, and highlight the need to choose carefully the form of B. thuringiensis protein used in experiments.)*
 - 21) Eliseu et al, 2007. Selection for Cry1F resistance in the European corn borer and cross-resistance to other Cry toxins. Entomologia Experimentalis et Applicata 126 (2), 115–121. *(The lacks of cross-resistance between Cry1F and Cry1Ab suggest that maize hybrids expressing these two toxins are likely to be compatible for resistance management of O. nubilalis.)*
 - 22) Felke & Langenbruch, 2008. Susceptibility of European corn borer larvae to pollen of B.t.-176 maize. Pflanzenschutzdienstes vol. 60 (1) p.2-6. *(So susceptibility of 2nd instar larvae of the European corn borer to B.t.-176 maize pollen is comparable to susceptibility of larvae of some other European or North American butterfly species which are common in agricultural used habitats.)*
 - 23) Ferré et al, 2008. Insecticidal Genetically Modified Crops and Insect Resistance Management (IRM). Book Series - Progress in Biological Control Volume 5, 41-85. *(Such “pyramided” Bt crops hold great promise and, in combination with the high dose/refuge strategy, will likely confer maximum protection to the Bt crop technology against insect resistance. So far, no case of resistance evolution to Bt crops has been reported.)*
 - 24) Hommel, 2008. Insektenresistenzmanagement von Bt-Mais -- Entwicklung einer GIS-basierten Entscheidungshilfe auf Betriebsebene für die Refugienplanung. Pflanzenschutzdienstes vol. 60 (1) p.7-10. *(The high efficiency of such strategy (refuge) has been documented by robust data gathered in the USA where pest populations being resistant for B. thuringiensis have not been detected after utilization of Bt maize and cotton on Million of hectares for over 10 years. For supporting decision making on farm scale in planning refuges in Germany, a GIS based software tool is being developed in close collaboration with three experienced Bt maize growing farms located in north-east Germany (region Oderbruch).)*
 - 25) Huang F et al, 2008. Geographical susceptibility of Louisiana and Texas populations of the sugarcane borer, Diatraea saccharalis (F.) (Lepidoptera: Crambidae) to Bacillus thuringiensis Cry1Ab protein. Crop Protection Volume 27, Issues 3-5, March-May 2008, 799-806. *(The results of this study suggest that field populations of D. saccharalis remain generally susceptible to the Cry1Ab (trans)protein after 8 years use of transgenic Bt corn in Louisiana and the Gulf Coast area of Texas.)*
 - 26) Huang et al, 2008. Allele Frequency of Resistance to Bacillus thuringiensis Cry1Ab Corn in Louisiana Populations of Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Economic Entomology, Volume 101, Number 2, April 2008, 492-498. *(indique en conclusion de son résumé, « Major Bt resistance allele frequencies in Louisiana sugarcane borer populations seem to be low, and they should support the rare resistance allele requirement of the high dose/refuge strategy.»)*
 - 27) Lefko et al, 2008. Characterizing laboratory colonies of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) selected for survival on maize containing event DAS-59122-7. Journal of Applied Entomology 132 (3), 189–204. *(An allele conferring major resistance to DAS-59122-7 was not*

identified in either selected colony. The assessment also concluded that major resistance gene(s) are rare in populations of *D. v. virgifera* in the United States, and that a minor trait(s) conferring a low level of survival on DAS-59122-7 maize was present. The tolerance trait identified in this study was considered minor with respect to its impact on DAS-59122-7 maize efficacy, and the role this trait may play in total effective refuge for major resistance genes with recessive inheritance is the basis of future work.)

- 28) Nowatzki et al, 2008. Validation of a novel resistance monitoring technique for corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) and event DAS-59122-7 maize. *Journal of Applied Entomology* 132 (3), 177–188. (la souche résistante est sélectionnée en laboratoire).
- 29) Pereira et al, 2008. Selection for Cry1F resistance in the European corn borer and cross-resistance to other Cry toxins. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 126 (2), 115–121. (C'est une sélection conduite en laboratoire).
- 30) Witkowski et al, 2008. Bt Corn & European Corn Borer-Long-Term Success Through Resistance Management. Editors: K.R. Ostlie, W.D. Hutchison, & R. L. Hellmich - Reviewed 2008.

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

Qui plus est, comme l'a rapporté le CPHA dans son avis, des faits nouveaux montrent que l'on a bien déjà une résistance à la toxine du maïs Bt MON810 chez des ravageurs qui sont considérés aujourd'hui comme des cibles secondaires. Huang et al. (2007) ont trouvé des allèles de résistance à Cry1AB dans une population d'insectes foreurs de la canne à sucre, résistance qui pourrait être favorisée par la sécrétion constante de la toxine Bt par la plante (Dans l'article, ces auteurs indiquent que *Diatraea saccharalis* est moins sensible à cry que les autres ravageurs du maïs cibles du maïs Bt. La fréquence du gène de résistance est de 0,0023 qui ne pose pas de problème sur le terrain. D'autant que dans une publication parue en 2008, ce même auteur (Huang et al., 2008. Allele Frequency of Resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab Corn in Louisiana Populations of Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Economic Entomology*, Volume 101, Number 2, April 2008, 492-498.) indique en conclusion de son résumé "Major Bt resistance allele frequencies in Louisiana sugarcane borer populations seem to be low, and they should support the rare resistance allele requirement of the high dose/refuge strategy.". Evidemment, il faut suivre cette évolution pour voir si cette fréquence varie avec le temps ou non, mais cela fait partie de l'évaluation ex-post, mais elle ne justifie pas d'un moratoire du Mon810, à la limite on peut préconiser de ne plus planter de maïs Bt dans cette région ou bien d'utiliser des variétés exprimant deux gènes cry si la résistance s'avère

agronomiquement impactante.) tandis que Van Rensburg (2007) a montré que les populations d'un lépidoptère africain foreur de graminées, *Busseola fusca*, qui vivent sur du maïs Bt ont tendance à être plus tolérantes à la toxine Cry1AB que les insectes des zones agricoles où le maïs Bt n'est pas utilisé. Il se pourrait dans ce cas qu'il y ait une mauvaise application de la stratégie des zones refuges destinées à retarder le développement d'une résistance par les ravageurs, cette mauvaise application étant induite par un réflexe économique, donc sans doute généralisable (D'autres pourraient dire qu'il faut enseigner aux agriculteurs la façon d'utiliser ces nouvelles variétés), de l'agriculteur ; mais, malheureusement, l'étude n'indique pas si cette résistance évolue. En revanche, **pour le cotonnier**, GuoPing et al. (2007) mettent bien en évidence une augmentation de la résistance telle qu'elle devrait poser des problèmes agronomiques dans un délai de 11 à 15 ans. Le fait que ces phénomènes de résistance concernent le cotonnier ou des insectes non présents en Europe peut être simplement lié au fait que les surfaces de culture des plantes transgéniques utilisant des protéines Bt sont encore peu répandues en Europe. Ils doivent en tout cas inciter à la plus grande prudence compte tenu de la grande importance patrimoniale ces protéines Bt.

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

⌘ Comme le reconnaît aujourd'hui l'entreprise, l'apparition d'une résistance chez ravageurs est inéluctable et l'objectif doit donc être d'en minimiser l'importance.

⌘ Au vu des phénomènes de résistance apparaissant déjà pour le coton Bt, pour limiter l'apparition de ces phénomènes, il faut être prêt à envisager jusqu'à 70 à 80% de zones refuges dans les régions où le maïs OGM est cultivé.

⌘ L'apparition de résistance au MON810 est avérée pour des ravageurs jusqu'à présent considérés comme secondaires et qui peuvent donc devenir des ravageurs primaires.

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

➤ Effets sur la faune non cible.

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

Plus d'un millier d'articles ont été publiés en près de dix ans sur les effets des cultures transgéniques sur les organismes non cibles, dont plus de 200 sur le maïs transgénique (Dans la banque de données gérée par Bergé & Ricroch, 512 références sont répertoriées sur l'impact biologique du maïs transgénique). Malgré cette abondante littérature, la plupart des informations disponibles portent sur des espèces non européennes, pour les mêmes raisons que précédemment, et demanderaient à être approfondies (Quelques références sur

les travaux concernant l'impact biologique du maïs Bt en Europe en 2007 et 2008. Remonter plus en arrière dans le temps aurait nécessité plusieurs pages pour donner les références, en effet les 48 publications européennes que nous avons recensées ci-dessous représentent le 1/3 de la totalité des publications que nous avons trouvées sur l'impact biologique des maïs Bt :

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

- 18) Krogh PH, Griffiths, B.; Demsar, D.; Bohanec, M.; Debeljak, M.; Andersen, M. N.; Sausse, C.; Birch, A. N. E.; Caul, S.; Holmstrup, M.; Heckmann, L. H.; Cortet, J., 2007. Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. *Pedobiologia* vol. 51 (3) 219-227
- 19) Li Y, Romeis, J 2007. Assessing the impact of Bt maize pollen on adult green lacewings. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 20) Meissle M, Romeis J, 2007. Assessing the risk of Diabrotica-resistant Bt maize for the web building spider *Theridion impressum* (Ara.: Theridiidae). 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 21) Mulder C, 2007. Transgenic maize containing the Cry1Ab protein ephemerally enhances soil microbial communities. *Ambio*. 2007 Jun;36(4):359-61.
- 22) Priesnitz KU, et al., 2007. Impact of Coleopteran-specific Bt maize on Carabid beetles: results after two years of field and laboratory research. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 23) Ramirez-Romero R, et al., 2007. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. *Crop Protection* Volume 26, Issue 7, July 2007, Pages 953-962.
- 24) Rauschen S, et al., 2007. Assessment of possible non-target effects of the novel Bt-corn variety MON88017 resistant to the Western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte). 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 25) Raybould A, et al., 2007. Non-target organism risk assessment of MIR604 maize expressing mCry3A for control of corn rootworm. *Journal of Applied Entomology* 131 (6), 391–399.
- 26) Raybould A, et al., 2007. Environmental risk assessment of maize expressing mCry3A for control of corn rootworm. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 27) Toschki A, et al., 2007. Effects of Cultivation of Genetically Modified Bt Maize on Epigeic Arthropods (Araneae; Carabidae). *Environmental Entomology*, Vol. 36, No. 4, August 2007, 967-981.
- 28) Vaufleury A de, et al., 2007. Exposure and effects assessments of Bt-maize on non-target organisms (gastropods, microarthropods, mycorrhizal fungi) in microcosms. *Pedobiologia* 51 (3): 185-194.
- 29) Zemek R, Vávrová Z, 2007. Assessing the effects of Bt-maize pollen on *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 30) Zurawska M, Linkiewicz AM, 2007. Cry 1Ab expression in non-target organisms as an element for the correct environmental risk assessment of MON810 in Polish ecosystems. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 31) Zurbrugg C, Nentwig W, 2007. Cry1 and Cry3 toxins show different degradation patterns and thus exposure risk for soil organisms is higher for Cry1. 3rd EIGMO Meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms (EIGMO)" 23-25 May 2007, Warsaw, Poland.
- 32) Zwahlen C, et al., 2007. Field decomposition of transgenic Bt maize residue and the impact on non-target soil invertebrates. *Plant and Soil* vol. 300 (1/2) 245-257.
- 33) Alvarez-Alfageme F, et al., 2007. Prey mediated effects of Bt maize on fitness and digestive physiology of the red spider mite predator *Stethorus punctillum* Weise (Coleoptera: Coccinellidae). *Transgenic Research*, Volume 17, Number 5, 943-954.
- 34) Bøhn T, et al., 2008. Reduced fitness of *Daphnia magna* fed a Bt-transgenic maize variety. *Arch Environ Contam Toxicol*, in press (DOI 10.1007/s00244-008-9150-5) Received: 16 November 2007 Accepted: 11 February 2008 Published online: 18 March 2008.

- 35) Büechs W, et al., 2008. Effects of Diabrotica-resistant Bt-maize (MON 88017) on saprophagous Diptera and their coleopteran predators. 41th ANNUAL MEETING of the Society for INVERTEBRATE PATHOLOGY and 9TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON BACILLUS THURINGIENSIS Incorporating COST862 Action: Bacterial Toxins for Insect Control.
- 36) Farinos GP, et al., 2008. Diversity and seasonal phenology of aboveground arthropods in conventional and transgenic **maize** crops in Central Spain. *Biological Control* vol. 44 (3) 362-371.
- 37) Górecka J, et al., 2008. Effect of Bt maize MON 810 expressing Cry 1 Ab toxin on *Aphidius colemani* in tritrophic plant - herbivore - parasitoid system. *Journal of Plant Protection Research* vol: 48, number: 1, 129-136.
- 38) Hönemann L, et al., 2008. Effects of Bt-corn decomposition on the composition of the soil meso- and macrofauna. *Applied Soil Ecology* Volume 40, Issue 2, October 2008, 203-209.
- 39) Höss S, et al., 2008. Effects of transgenic corn and Cry1Ab protein on the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* Volume 70, Issue 2, 334-340.
- 40) Li Y, et al., 2008. Consumption of Bt Maize Pollen Expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 Does Not Harm Adult Green Lacewings, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *PLoS ONE* 3(8): e2909.
- 41) Oliveira Adília P, et al., 2008. A two-year field study with transgenic *Bacillus thuringiensis* maize: Effects on soil microorganisms. *Science of The Total Environment*, In Press, Corrected Proof, Available online 24 July 2008.
- 42) Ramirez-Romero R, et al., 2008. Bt-maize effects on biological parameters of the non-target aphid *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae) and Cry1Ab toxin detection. *Pesticide Biochem Physiol.* Volume 91, Issue 2, 110-115.
- 43) Rauschen S, et al., 2008. An evaluation of methods for assessing the impacts of Bt-maize MON810 cultivation and pyrethroid insecticide use on Auchenorrhyncha (Planthoppers and Leafhoppers). *Agr. Forest Entomol.* Published Online: Sep 17 2008.
- 44) Rauschen S, et al., 2008. Impact of Bt -corn MON88017 in comparison to three conventional lines on *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae) field densities. *Transgenic Research*, Received: 23 May 2008 Accepted: 12 July 2008 Published online: 31 July 2008.
- 45) Romeis Jörg, et al., 2008. Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs. *Book Series - Progress in Biological Control - Volume 5.*
- 46) Schrader S, et al., 2008. Earthworms of different functional groups affect the fate of the Bt-toxin Cry1Ab from transgenic maize in soil. *European Journal of Soil Biology*, Volume 44, Issue 3, 283-289.
- 47) Turrini A, et al., 2008. Experimental Systems to Monitor the Impact of Transgenic Corn on Keystone Soil Microorganisms. 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, June 16-20, 2008.
- 48) Zurbrügg C, Nentwig W, 2008. Ingestion and excretion of two transgenic Bt corn varieties by slugs. *Transgenic Research* (2008) 0962-8819 (Print) 1573-9368 (Online). Received: 11 January 2008 Accepted: 18 July 2008 Published online: 2 September 2008.

Dans ce contexte, l'entreprise trouve surprenant que l'Avis du CPHA se fonde sur des espèces non européennes, comme par exemple le grand Monarque. C'est paradoxal dans la mesure où à l'inverse, L'entreprise n'hésite pas à utiliser nombre d'arguments concernant une faune non européenne pour minimiser l'impact des plantes transgéniques sur la faune non cible. Du fait de l'insuffisance des informations pour la faune européenne (voir ci-dessus), le CPHA n'avait guère d'autre choix que de s'appuyer sur l'expérience antérieure des régions ayant déjà utilisé sur plusieurs années du MON 810. Eu égard au grand rôle des invertébrés dans le fonctionnement des écosystèmes, il est regrettable que la demande d'autorisation de dissémination des plantes transgéniques en Europe n'ait pas été précédée par une étude rigoureuse de leur impact sur ces derniers. Les connaissances sont clairement insuffisantes, ainsi sur l'éventuel impact aux différentes étapes du développement des insectes pollinisateurs. Le CPHA a en outre jugé certains faits nouveaux comme suffisamment inquiétants pour introduire un sérieux doute sur l'innocuité du MON810 sur l'environnement. (Dans le cas du papillon monarque, ce n'est pas tellement le

fait qu'il s'agisse d'une faune non européenne qui est important, c'est plutôt que les effets délétères ont été mesurés dans des conditions « artificielles » et que ces effets n'ont pas été retrouvés dans les conditions naturelles (voir Bergé & Ricroch, 2008 *ibidem*).

C'est par exemple le cas pour les lombrics (Zwahlen et al., 2003), pour lesquels une diminution de 18% du poids a été observée après 200 jours (Ce qui est omis d'être précisé par l'auteur de ce rapport est que dans cette publication de Zwahlen et al. la perte de poids entre adulte (Bt+/Bt-) est un résultat obtenu en laboratoire, alors que, comme l'indiquent les auteurs, « *In the field, immature L. terrestris showed a similar growth pattern in both treatments (Bt+/Bt-), with few statistically insignificant differences between the two groups.* » De plus, comme le montre le graphique ci-dessous tiré de l'article : à 200 jours de traitement les lombrics Bt+ sont plus lourds que les lombrics Bt-

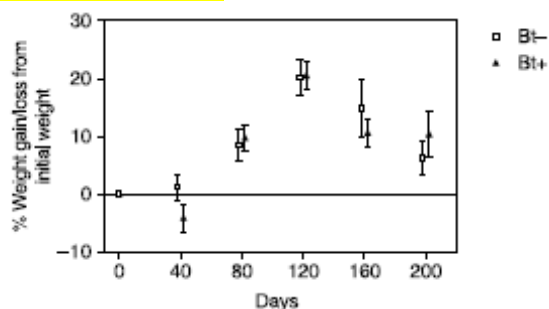


Fig. 4 Mean (\pm SE) weight gain, respectively, weight loss (in percentage) compared to the initial weight of the immature (Bt-) corn-fed (white rectangles) and (Bt+) corn-fed (black triangles) *L. terrestris* in the field trial after 40, 80, 120, 160 and 200 days. No significant differences were observed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

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

(Au sujet de la persistance de la transprotéine dans les sols, ce tableau publié par Icoz & Stotzky 2008 (Icoz I, Stotzky G, 2008. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40 (3) 559-586.)

Table 5
Summary of persistence of Cry proteins in soil

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

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

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

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

Organism	Species	Study location	Experimental variable	Protein expressed	Effect of Cry proteins on organism	References
Earthworm	<i>Eisenia fetida</i>	Laboratory	Soil amended with biomass of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	CryIAb	No effect on mortality and weight	Ahl Gey et al. (1991)
Earthworm	<i>Lumbricus terrestris</i>	Laboratory	Soil amended with biomass of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize; soil planted to <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	CryIAb	No significant differences in mortality and weight	Saxena and Stotzky (2001b)
Earthworm	<i>Lumbricus terrestris</i>	Laboratory	Fed residues of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	CryIAb	No differences in mortality and weight	Zwahlen et al. (2003)
Earthworm	<i>Lumbricidae</i> community	Field	Cultivation of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize; cultivation of maize treated with commercial insecticide (Baythroid®) and of untreated maize	CryIAb	No effect of Cry protein on numbers in soil planted with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize and in soil planted with non- <i>Bt</i> maize treated with commercial insecticide and with noninsecticide	Lang et al. (2006)
Earthworm	<i>Eisenia fetida</i>	Laboratory	Fed leaves of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	CryIAb	No deleterious effects on survival and reproduction	Clark and Coats (2006)
Earthworm	<i>Aporrectodea caliginosa</i>	Laboratory	Fed leaves of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	CryIAb	No effect on mortality and weight	Vercesi et al. (2006)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Process/function	Experimental variable	Protein	Effect	References
Phosphatases, dehydrogenases, and methanogenesis	Soils amended with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> rice straw	Cry1Ab	Increased activities in soil of phosphatases and dehydrogenases, as well as an increase in methanogenesis, after the addition of transgenic <i>Bt</i> rice straw to flooded soil No significant differences in activities	Wu et al. (2004b) Wu et al. (2004b)
Proteases, neutral phosphatases, urease, and anaerobic respiration	Soils amended with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	No differences in the activities of enzymes between soil with <i>Bt</i> and near-isogenic non- <i>Bt</i> maize	Flores et al. (2005)
Arylsulfatases, phosphatases, dehydrogenases, and proteases	Soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	No significant differences in the activities of enzymes between soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize during 4 years of maize cultivation	Lang et al. (2006)
Catalase, dimethylsulphoxide reductase, β -glucosidase, and arginine deaminase	Soil with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> cotton	Cry1Ac	No differences in the activities of enzymes between soil with <i>Bt</i> and near-isogenic non- <i>Bt</i> cotton	Shen et al. (2006)
Ureases, alkaline phosphatases, dehydrogenases, phenol oxidases, and proteases	Soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab Cry3Bb1	No consistent, significant differences in the activities between soil with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize during 4 years of maize cultivation	Icoz et al. (2007)
Arylsulfatases, phosphatases, dehydrogenases, and proteases	Soils amended with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> cotton	Cry1Ac	The addition of biomass of <i>Bt</i> cotton to soil stimulated the activities of all enzymes, except that of arylsulfatase, which was inhibited	Sun et al. (2007)
Ureases, acid phosphomonoesterases, invertases, cellulases, and arylsulfatases	Soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	Lower evolution of CO ₂ in soils planted to <i>Bt</i> maize than to non- <i>Bt</i> maize	Dinel et al. (2003)
CO ₂ evolution	Soils amended with biomass of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	Lower evolution of CO ₂ from soils amended with biomass of <i>Bt</i> maize than with biomass of non- <i>Bt</i> maize	Devare et al., 2004
CO ₂ evolution	Soils amended with biomass of various <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> plants	Cry1Ab Cry1Ac Cry3A	Lower evolution of CO ₂ from soils amended with biomass of <i>Bt</i> maize, rice, potato, cotton, canola, and tobacco than with biomass of near-isogenic non- <i>Bt</i> counterparts	Flores et al. (2005)
CO ₂ evolution	Soils amended with biomass of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	No differences between soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize during growth. Lower evolution of CO ₂ from soils amended with biomass of <i>Bt</i> maize than of non- <i>Bt</i> maize	Castaldini et al. (2005)
Decomposition rate (CO ₂ production)	Soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	No differences in the decomposition of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Hopkins and Gregorich (2003)
Decomposition rate	Soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	Very small differences in the rate of decomposition of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Gupta and Watson (2004)
N-mineralization	Soils with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry3Bb1	No differences in potential aerobic N-mineralization	Devare et al. (2004)
N-mineralization	Soils amended with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize residues	Cry1Ab	No consistent differences in N-mineralization	Mungai et al. (2005)
N-mineralization	Soils amended with biomass of <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	No effect on decomposition processes	Cortet et al. (2006)
N mineralization potential and nitrification and respiration rates	Soil with <i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry3Bb1	No adverse effects of <i>Bt</i> maize on N mineralization potential and on nitrification and respiration rates	Devare et al. (2007)
Chemical composition	<i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	<i>Bt</i> maize had higher content of starch and lignin and lower content of protein and soluble N than non- <i>Bt</i> maize	Masoero et al. (1999)
Chemical composition	<i>Bt</i> and non- <i>Bt</i> maize	Cry1Ab	No differences in chemical composition of <i>Bt</i> (event Bt11) and isogenic non- <i>Bt</i> maize tissues	Folmer et al. (2002)

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

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

Pour ce qui suit nous conseillons de nouveau de consulter la méta-analyse de Bergé & Ricoch, 2008 *ibidem*.

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

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

En ce qui concerne les effets des plantes transgéniques sur la faune microbienne du sol, le CPHA a fait référence aux travaux de Saxena et Stotzky (2005) (Dans l'avis du CPHA, la seule publication citée dans le paragraphe « Effets biologiques et microbiologiques » est celle de Crecchio & Stotzky 2001 non mentionnée par l'auteur Le Maho), qui effectivement montrent que l'exposition aux protéines Cry dans le sol est possible. L'avis fait aussi référence aux travaux de Mulder et al., (2006). Leurs résultats, complétés depuis (Mulder et al. 2007 (Cette référence n'a pas été citée par le CPHA) ; Raubuch et al. 2007), montrent un éphémère mais important pic dans la respiration bactérienne sur maïs MON810. Griffiths et al. (2005, 2006 et 2007) (Ces deux dernières références n'ont pas été citées par le CPHA), se sont intéressés à la faune microbienne du sol et à la structure des communautés de nématodes. Leurs travaux montrent un impact réduit du maïs Bt par rapport à d'autres effets, comme par exemple celui de la nature du sol. Mais en fait, les travaux du CPHA ont surtout mis en évidence la pauvreté des études et connaissances sur le transfert de gènes des plantes transgéniques vers les bactéries. (Voir tous les travaux du groupe de P. Simonet à Ecole centrale de Lyon dont une publication récente est : Demanèche S, Sanguin H, Poté J, Navarro E, Bernillon D, Mavingui P, Wildi W, Vogel TM, Simonet P, 2008. Antibiotic-resistant soil bacteria in transgenic plant fields. PNAS, March 11, 2008, vol. 105, no. 10, 3957–3962. Voir aussi Badosa E, Moreno C, Montesinos E, 2004. Lack of detection of ampicillin resistance gene transfer from Bt176 transgenic corn to culturable bacteria under field conditions. FEMS Microbiol Ecol 48: 169-178. Ces publications examinent la possibilité de transfert de transgène de maïs vers les bactéries du sol en utilisant les gènes de résistance aux antibiotiques comme traceurs.).

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

✂ Il est observé que la société Monsanto évoque d'autres cultures que le maïs Bt dans son argumentaire (dans ce rapport la même démarche est utilisée dans l'argumentaire.).

✂ Si le CPHA ne se fonde pas exclusivement sur des études liées à des espèces européennes, c'est que ces études sont trop peu nombreuses (Voir les 48 publications référencées en 2007 et 2008 et citées précédemment).

✂ Il a été prouvé que la protéine Cry1Ab est plus ou moins rémanente dans les milieux. On la retrouve dans les sols jusqu'à 350 jours, elle est également présente dans les milieux aquatiques (Voir tableau 5 de Icoz & Stotzky 2008 pour avoir une connaissance non biaisée des résultats sur ce sujet).

✂ Diverses études présentes des résultats à approfondir sur différentes espèces (lombrics, coléoptères, daphnies, parasitoïdes) (La bibliographie dans ce rapport n'est pas à jour au vu de toutes les références que nous avons du donner ci-dessus. Les lecteurs pourront trouver de nombreuses autres références dans les revues suivantes : Icoz et Stotzky (2008) ; Romeis Jörg, Anthony M. Shelton & George G. Kennedy, 2008. Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs. Book Series - Progress in Biological Control - Volume 5 ; Romeis J, (Jörg), Detlef Bartsch, Franz Bigler, Marco P Candolfi, Marco M C Gielkens, Susan E Hartley, Richard L Hellmich, Joseph E Huesing, Paul C Jepson, Raymond Layton, Hector Quemada, Alan Raybould, Robyn I Rose, Joachim Schiemann, Mark K Sears, Anthony M Shelton, Jeremy Sweet, Zigfridas Vaituzis & Jeffrey D Wolt, 2008. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. *Nature Biotechnology*, February 2008, Volume 26 No 2 pp203-208). En effet se sont pour la plupart des études à court terme ne recouvrant pas la durée de rémanence de la molécule dans les milieux (Comme indiqué précédemment il faut savoir si l'auteur parle des rémanences en conditions de laboratoire ou en conditions naturelles (voir tableau 5 dans Icoz & Stotzky, 2008. De plus, la revue de Romeis et al. *Nature Biotech* jan 2006 n'est pas citée et celle de M. Marvier (Marvier M, McCreehy C, Regetz J, Kareiva P, 2007. A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science*. 2007 Jun 8;316(5830):1475-7) est à peine effleurée. Ces méta-analyses indiquent un effet nul ou très faible (moins de prédateurs ou parasitoïdes spécialisés de l'insecte cible dans le champ Bt, mais doit-on éviter cela). Cela montre qu'il y a déjà des données nombreuses en champ et que leurs résultats ne justifient pas d'alarmisme, bien au contraire (lire le résumé de Romeis). Dans ce contexte, nous ne pouvons pas dire qu'il n'y a pas eu d'études en champ).

✂ Les travaux sur lesquels la Société Monsanto s'appuie pour affirmer l'innocuité de la protéine Bt n'ont pas la robustesse scientifique nécessaire permettant de justifier cette affirmation. Les études actuelles concernant la faune non cible européenne sont insuffisantes (Voir les références que nous avons citées *supra*), mais comportent suffisamment d'indices pour susciter des inquiétudes (surtout quand on sait que les impacts dus aux PGM sont du même ordre que ceux dus aux effets des rotations culturales, aux modifications climatiques ou autres facteurs environnementaux – voir Bergé & Ricroch, 2008 *ibidem*). Le manque de connaissances sur les impacts sur cette faune et en particulier sur la faune européenne (Voir les remarques que nous avons déjà faites sur ce sujet) doit être comblé du fait de l'importance de ces populations dans le fonctionnement des écosystèmes.

Remarque générale : certaines études réclamées par l'auteur de ce rapport relève de la biovigilance (études à faire dans des vrais champs après culture en conditions réelles, elles n'ont que peu de portée écologique à petite échelle, et encore moins si on ne peut pas faire d'essais en champ en France). Curieusement le terme biovigilance n'existe pas dans ce rapport.

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

➤ **Santé.**

(Cet aspect relève de l'expertise biomédicale)

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

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

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

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

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

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

vache folle », et plus récemment de celle de l'hormone de croissance touchant les jeunes enfants (Lewis et al., 2006 ; Pauli, 2005).

3/ Les études toxicologiques doivent désormais également viser la recherche des oncogènes.

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

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

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

Par ailleurs, les scientifiques devraient avoir accès aux données originales sur les tests toxicologiques qui ont été utilisés. Bloquer leur diffusion, comme cela s'est produit dans les années précédentes en ce qui concerne les résultats des tests sur les rats nourris ou non avec du maïs MON 863, empêche l'avancée des connaissances scientifiques et est d'ailleurs contraire à la législation européenne (en particulier, à la Directive CEE/2001/18) et française. En réexaminant ces résultats, Séralini et al. (2007) ont mis en évidence des différences de variation de poids entre rats mâles et femelles, ainsi que des signes de toxicité hépatorenale. Une étude soutenue par l'entreprise (Doull et al., 2007) a ensuite contesté cette interprétation en arguant qu'une relation dose-effet n'avait pas été mise en évidence et parce que les résultats différaient en fonction du sexe.

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

✂ Les protéines produites par le Bacille de Thuringe et celle produite par le MON 810 n'ont pas les mêmes séquences primaires

✂ La protéine produite par le MON 810 peut être modifiée dans sa conformation spatiale par l'ajout d'éléments, ce qui peut avoir d'importantes conséquences quant à ses caractéristiques fonctionnelles et à son pouvoir pathogène éventuel.

✂ La durée des tests toxicologiques est insuffisante et ils devraient être conduits sur différents modèles animaux.

⌘ Les tests de toxicologie suivis pour l'évaluation des plantes transgéniques ne couvrent pas les nouveaux domaines de la santé (maladies à prions, oncologie).

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

(Bien que ces aspects relèvent d'une expertise biomédicale que nous ne pouvons pas conduire, nous avons tout même pris connaissance d'un rapport récent du JRC Européen (2008) dont les conclusions vont à l'encontre de ce qu'affirme l'auteur pour le Mon810 :

The overall results of this study show that:

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

In Scientific and technical contribution to the development of an overall health strategy in the area of GMOs. JRC Report CT 30249.

http://ec.europa.eu/dgs/jrc/index.cfm?id=2820&obj_id=232&dt_code=HLN&lang=en)

On peut donc conclure que, pour Mon810 au moins, les tests toxicologiques, leurs durées et les méthodes ont été validés par des toxicologues internationalement reconnus.

➤ **Éléments économiques**

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

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

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

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

⌘ Après une économie initiale d'herbicides (je rappelle que le sujet est le maïs Mon810 résistant aux insectes) dans les cultures de plantes transgéniques par rapport aux cultures conventionnelles, le phénomène s'est inversé et cela dès 2002 pour le maïs.

⌘ Nécessité d'employer des insecticides complémentaires lors de fortes invasions de ravageurs primaires ou pour éradiquer les ravageurs secondaires devenus primaires (c'est sur coton).

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

CONCLUSION

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

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

(Nos commentaires peuvent répondre à de nombreuses interrogations que l'auteur pose.).

Références Bibliographiques

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

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

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

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

- Benbrook C. (2003) GMOs, Pesticide Use, and Alternatives Lessons from the U.S. Experience Delivered at the Conference on GMOs and Agriculture, Paris, France, June 20, 2003. Available Online http://www.biotech-info.net/lessons_learned.pdf
- Bohn, T, Primicerio, R., Hessen, D.O. & Traavik, T. (2008). Reduced fitness of *Daphnia magna* fed a Bt-transgenic maize variety. Archives of Environmental Contamination and Toxicology (in press).
- Bonham L, MacKenzie K, Wood S, Rowe PB, Symonds G. Both myeloproliferative disease and leukemia are induced by transplantation of bone marrow cells expressing v-myc. Oncogene. 1992 Nov;7(11):2219-29.
- Bourguet, D., Chaufaux, J., Micoud, A., Delos, M., Naibo, B., Bombarde, F., Marque, G., Eychenne, N. & Pagliari, C. (2002). *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). Environmental Biosafety Research 1: 49 – 60.
- Brunet, Y. (2006) On maize pollen transport in the atmospheric boundary layer. In 27th Conference on Agricultural and Forest Meteorology, 17th Symposium on Boundary Layers and Turbulence, 17th Conference on Biometeorology and Aerobiology. San Diego, California, USA
- Chen YX, Du JT, Zhou LX, Liu XH, Zhao YF, Nakanishi H, Li YM.(2006) Alternative O-GlcNAcylation/O-phosphorylation of Ser16 induce different conformational disturbances to the N terminus of murine estrogen receptor beta. Chem Biol. 13(9):923-4.
- Darlix JL, Sitbon M. Prostate cancer leads to the discovery of a new human infectious retrovirus Med Sci (Paris). 2007;23(8-9):690-1.
- Dennis RJ, Taylor EJ, Macauley MS, Stubbs KA, Turkenburg JP, Hart SJ, Black GN, Vocadlo DJ, Davies GJ.(2006) Structure and mechanism of a bacterial betaglucosaminidase having O-GlcNAcase activity. Nat Struct Mol Biol. 13(4):365-71.
- Domingo, J. L. (2007). Toxicity studies of genetically modified plants: a review of the published literature. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47:8, 721 – 733.
- Doull, J., Gaylor, D., Greim, H.A., Lovell, D.P., Lynch, B., Munro, I.C. (2007) Report of an Expert Panel on the reanalysis by Séralini et al. (2007) of a 90-day study conducted by Monsanto in support of the safety of a genetically modified corn variety (MON 863). Food Chem. Toxicol. 45, 2073-2085.
- Douville, M., Gange, F., Masson, L., McKay, J. & Blaise, C. (2005). Tracking the source of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab endotoxin in the environment. Biochemical Systematics and Ecology 33: 219 – 232.
- Fonseca, A. E., Westgate, M. E., Grass, L., Dornbos, D. L. Jr. (2003). Tassel morphology as an indicator of potential pollen production in maize. Crop Manag. Doi :10.1094/CM- 2003-0804-01-RS.
- Gelman IH, Khan S, Hanafusa H. Morphological transformation, tumorigenicity and src-specific cytotoxic T-lymphocyte-mediated tumor immunity induced by murine 3T3 cells expressing src oncogenes encoding novel non-myristylated N-terminal domains. Oncogene. 1993 Nov;8(11):2995-3004.
- Griffiths, B., Caul, S., Thompson, J., Birch, A., Scrimgeour, C., Andersen, M., Cortet, J., Messean, A., Sausse, C., Lacroix, B. and Krogh, P. (2005) A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and genetically modified maize expressing the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin, Plant and Soil, 275, 135-146.

- Griffiths BS, Caul S, Thompson J, Birch AN, Scrimgeour C, Cortet J, Foggo A, Hackett CA, Krogh PH. (2006) Soil microbial and faunal community responses to bt maize and insecticide in two soils. *J Environ Qual*. 2006 35:734-41.
- Griffiths, B.S., Heckmann, L-H., Caul, S., Thompson, J.A., Scrimgeour, C. & Krogh, P.H. (2007). Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non-Bt maize on soil microbial and nematode community structure. *Plant Biotechnology Journal* 5: 60 – 68.
- GuoPing L, KongMing W, Gould F, JianKang W, Jin M, XiWu G & G YuYuan (2007). Increasing tolerance to Cry1Ac cotton from cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, was confirmed in Bt cotton farming area of China. *Ecological Entomology*, vol. 32 (4) 366-375
- Harwood J.D., Wallin, W.G., Obrycki, J.J. (2005) Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. *Mol. Ecol*. 14: 2815-2823
- Hassan Y, Priel E, Segal S, Huleihel M, Aboud M. Chemical-retroviral cooperative carcinogenesis and its molecular basis in NIH/3T3 cells. *Carcinogenesis*. 1990 Dec;11(12):2097-102.
- Huang, F., Leonard, B. R. and Wu, X. (2007) Resistance of sugarcane borer to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 124, 117- 123.
- Jackson, R.E., Bradley, J.R., Jr., Van Duyn, J.W. & Gould, F. Comparative production of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic cotton expressing either one or two *Bacillus thuringiensis* proteins with or without insecticide oversprays. *J. Econ. Entomol.* 97, 1719-1725 (2004).
- Jackson, R.E., Gould, F., Bradley, J.R., Jr. & Van Duyn, J.W. (2006) Genetic variation for resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) from eastern North Carolina. *J. Econ. Entomol.* 99, 1790–1797
- James, C. (2006). Global status of commercialized biotech/GM crops: ISAA Brief 35 2006, 1–11.
- Klein E.K., Lavigne C., Foueillassar X., Gouyon P.H., Laredo C. (2003) Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecol. Monogr.* 73 (1): 131-150.
- Knols, B.G.J. & Dicke, M. (2003). Bt-crop risk assessment in the Netherlands. *Nature Biotechnology* 21: 973 – 974.
- Krogh PH, Griffiths B, Demsar D, Bohanec M, Debeljak M, Andersen MN, Sausse C, Birch ANE, Caul S, Holmstrup M, Heckmann LH & J Cortet (2007). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and Bt maize cropping systems. *Pedobiologia*, 51(3) 219-227
- Kroghsbo S, Madsen C, Poulsen M, Schrøder M, Kvist PH, Taylor M, Gatehouse A, Shu Q, Knudsen I. (2008). Immunotoxicological studies of genetically modified rice expressing PHA-E lectin or Bt toxin in Wistar rats. *Toxicology* 245(1-2):24-34.
- Lang, A., Lauber, E. & Darvas, B. (2007). Early-tier tests insufficient for GMO risk assessment. *Nature Biotechnology* 25: 35 – 36.

- Lavielle M., (2007) Remarques sur les analyses statistiques effectuées au sujet du maïs MON810, note pour le comité de préfiguration
- Lewis AM, Yu M, DeArmond SJ, Dillon WP, Miller BL, Geschwind MD. (2006) Human growth hormone-related iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease with abnormal imaging. *Arch Neurol.* 63(2):288-90.
- Liberski PP, Brown P. (2007) Kuru-fifty years later. *Neurol Neurochir Pol.* 41(6):548-56. Review. PMID: 18224577 [PubMed - indexed for MEDLINE] Lüdemann N, Clement A, Hans VH, Leschik J, Behl C, Brandt R. (2005) O-glycosylation of the tail domain of neurofilament protein M in human neurons and in spinal cord tissue of a rat model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *J Biol Chem.* 280(36):31648-58.
- Marvier M., McCreedy C., Regetz J., Kareiva P. (2007) A Meta-Analysis of Effects of Bt Cotton and Maize on Nontarget Invertebrates. *Science* 316 (5830): 1475 - 1477
- Meissle, M., Vojtech, E. & Poppy, G.M. (2005). Effects of Bt maize-fed prey on the generalist predator *Poecilus cupreus* L. (Coleoptera: Carabidae). *Transgenic Research* 14: 123 – 132.
- Messéan A., Angevin F., Gómez-Barbero M., Menrad K., Rodríguez-Cerezo E., (2006). New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture, Technical Report Series, EUR 22102 En, 112 p
- Messéan A. & Angevin F. (2007). Coexistence measures for maize cultivation: lessons from gene flow and modelling studies. Proceedings of the third international conference about coexistence GMCC07, Seville, 20-21 November 2007, pp 23-26
- Messean A. (2008) Faisabilité de la coexistence chez le maïs: leçons tirées des études de flux de gènes et de la modélisation. Note dans le cadre des travaux du comité de préfiguration de la haute autorité des biotechnologies, Paris, janvier 2008.
- Mulder C, Wouterse M, Raubuch M, Roelofs W, Rutgers M. (2006). Can transgenic maize affect soil microbial communities? *PLoS Comput Biol.* 2(9): e128
- Mulder, C., Wouterse, M., Rutgers, M. & Posthuma, L. (2007). Transgenic maize containing the Cry1Ab protein ephemerally enhances soil microbial communities. *Ambio* 36(4): 359 – 361.
- Nguyen H.T., Jehle J.A. (2007) Quantitative analysis of the seasonal and tissue-specific expression of Cry1Ab in transgenic maize Mon810 *Journal of Plant Diseases and Protection*, 114 (2), 82–87,
- Obrist L.B., Dutton A., Albajes, R., Bigler, F. (2006) Exposure of arthropod predators to Cry1Ab toxin in Bt maize fields. *Ecol. Entomol.* 31: 143–154
- Pagel-Wieder S, Niemeyer J, Fischer WR & F Gessler (2007). Effects of physical and chemical properties of soils on adsorption of the insecticidal protein (Cry1Ab) from *Bacillus thuringiensis* at Cry1Ab protein concentrations relevant for experimental field sites. *Soil Biology and Biochemistry*, 39 : 3034-3042
- Pang CN, Hayen A, Wilkins MR.(2007) Surface accessibility of protein post-translational modifications. *J Proteome Res.* 6(5):1833-45. Epub 2007 Apr 12.
- Pauli G. (2005) Tissue safety in view of CJD and variant CJD. *Cell Tissue Bank.* 6(3):191-200. Review.

- Prasifka P.L., Hellmich R.L., Prasifka J.R., Lewis L.C. (2007). Effects of Cry1Ab-expressing corn anthers on the movement of monarch butterfly larvae. *Environ Entomol* 36(1): 228-233
- Qayum A., Sakkhari K. (2005) Bt Cotton in Andhra Pradesh – A three year assessment. Deccan Development Society, produced by BOOKSLINE.
- Quist D., Chapela I.H. (2001) Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 414: 541-543.
- Ramírez-Romero, R., Bernal, J.S., Chaufaux J. & Kaiser, L. (2007). Impact assessment of Bt maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. *Crop Protection* 26: 953 – 962.
- Raubuch, M., Roose, K., Warnstorff, K., Wichern, F. & Joergensen, R.G. (2007). Respiration pattern and microbial use of field-grown transgenic Bt-maize residues. *Soil Biol. Biochem.* 39(9): 2380-2389
- Rosati A., Bogani P., Santarlasci A. (2008) Characterisation of 30 transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. *Plant Mol Biol* 67:271–281
- Rosi-Marshall E. J., Tank J. L., Royer T. V., Whiles M. R. , Evans-White M., Chambers C., Griffiths N.A., Pokelsek J., Stephen M. L.. (2007) Toxins in transgenic crop byproducts may affect headwater stream ecosystems. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 104 (41): 16204-16208.
- Saxena, D., Flores, S. & Stotzky, G. (2002). Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events. *Soil Biol. Biochem.* 34: 133 – 137.
- Saxena, D. and Stotzky, G. (2005) Release Of Larvicidal Cry Proteins In Root Exudates Transgenic Bt Plants. *ISB News Report*, pp. 1-3.
- Schmidt, J.E.U., C.U. Braun, C. L'Abate, L.P. Whitehouse & A. Hilbeck. (2004). Studies on effects of *Bacillus thuringiensis*-toxins from transgenic insectresistant plants on predaceous lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 14(1-6): 419 – 1422.
- Séralini G.E., Cellier D., Spiroux de Vendomois J. (2007) New Analysis of a Rat Feeding Study with a Genetically Modified Maize Reveals Signs of Hepatorenal Toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 52, 596–602
- Sivasupramaniam S, Head GP, English L, Li YJ & TT Vaughn (2007). A global approach to resistance monitoring. *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol 95, Issue 3, July 2007, 224-226, Special Issue for SIP 2007
- Szekeres, D., Kadar, F., & Kiss, J. (2006). Activity density, diversity and seasonal dynamics of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in Bt-(MON810) and in isogenic maize stands. *Entomologica Fennica* 17(3): 269 – 275.
- Tabashnik, B.E., Gassmann, A.J., Crowder, D.W., Carrière, Y. (2008). Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. *Nature Biotechnology.* 26 : 199-202.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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