

COMMISSION DU Génie BIOMOLECULAIRE

Paris, le 14 JUIN 2007

AVIS

La Commission du génie biomoléculaire a été saisie le 24 mai 2007 par le Ministère de l'agriculture et de la pêche d'une demande d'avis sur un rapport de Greenpeace relatif à la teneur en protéine Bt du maïs MON810¹. Il est demandé à la Commission du génie biomoléculaire de déterminer si ce rapport est de nature ou non à remettre en cause les conclusions émises précédemment sur le maïs MON810.

1) Contexte

Le maïs MON810 est autorisé à la culture commerciale dans l'Union européenne depuis 1998 (décision n° 98/294/CE du 22 avril 1998 de la Commission européenne). La CGB avait été amenée à examiner le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché et avait rendu un avis favorable en avril 1996.

2) Examen du rapport de Greenpeace

L'étude présentée par Greenpeace a été réalisée au cours de l'année 2006 à partir d'échantillons de feuilles du maïs génétiquement modifié MON810 cultivé en Allemagne et en Espagne. Au total, 619 échantillons provenant de 12 champs ont été analysés à l'aide d'une méthode ELISA en vue de déterminer la concentration de toxine Cry1Ab dans différentes parties des plantes de maïs MON810. Le rapport fait état d'une variabilité importante de la production de toxine Bt entre plantes et de concentrations en toxine nettement inférieures à celles présentées par Monsanto dans le dossier de mise sur le marché. Le dossier s'appuie aussi en partie sur une étude publiée en 2007 par Nguyen et Jehle² qui suggère également que la quantité de CryAb contenue dans les maïs MON810 varie entre les plantes analysées individuellement et dans une moindre mesure entre champs.

2.1- protocole utilisé

Les tests ELISA permettent de déterminer une quantité d'épitopes portés par la molécule Cry1Ab présents dans un échantillon à un moment donné. Cette quantité d'épitopes,

¹ Rapport de Greenpeace "How much Bt toxin do genetically engineered MON810 maize plants actually produce ? Bt field plants from Germany and Spain" A. Lorch, C. Then, Mai 2007

² Quantitative analysis of the seasonal and tissue specific expression of Cry1Ab in transgenic maize Mon810. H.T. Nguyen et J.A. Jehle, J. Plant Dis. Protect. (2007) 114(2), pp 82-87

reconnus par les anticorps polyclonaux anti Cry1Ab, peut varier en fonction de la stabilité de la protéine, qui dépend du milieu - en l'occurrence le tissu végétal - et des conditions dans lesquelles les échantillons ont été récoltés, acheminés et stockés sur le lieu d'analyse. La quantité de toxine déterminée par ELISA ainsi estimée n'est donc pas nécessairement représentative du niveau d'expression du gène *cry1Ab* dans la plante au moment du prélèvement.

Le rapport fait apparaître que certaines plantes ou parties de plantes acheminées par courrier, dans des conditions non décrites, conservées à -20°C, puis analysées par ELISA contiennent moins de protéine Cry1Ab que ce qui est annoncé par Monsanto ou publié par Nguyen et Jehle. Ces différences peuvent résulter de l'âge des tissus prélevés, d'une mauvaise ou trop longue conservation, de variations d'ordre expérimental (lors de l'extraction des protéines par exemple), etc. Le protocole fourni dans le rapport de Greenpeace n'est pas suffisamment détaillé pour juger la validité des mesures en vue d'une comparaison avec d'autres études.

De plus, les tests ELISA, les protocoles d'extraction, les réactifs et les unités de mesure diffèrent d'une étude à l'autre. Cela ne permet donc pas de comparer les résultats des trois études et pourrait expliquer les différences observées entre ces études. Enfin, les stades de développement du maïs analysé sont souvent variables et ne sont pas toujours précisés. Ainsi, le rapport de Greenpeace n'indique que la date d'échantillonnage dans les différents champs.

2.2 Risque d'évolution de la résistance

Si les doses produites par les maïs MON810 étaient insuffisantes pour contrôler l'ensemble des pyrales infestant ces maïs, le risque d'évolution de la résistance pourrait en effet être accru. Ce risque serait d'autant plus important que les doses seraient suffisantes pour tuer l'ensemble des pyrales sensibles tout en étant trop faibles pour tuer les pyrales hétérozygotes, la stratégie de gestion des résistances (Haute Dose – Refuge) étant fondée sur cette hypothèse. Ce risque est d'autant plus important que la dose produite est proche de la DL₉₉ des pyrales sensibles sans pour autant la dépasser.

La vitesse de sélection d'allèles de résistance dépend notamment de la dose produite au cours du développement et dans les différentes parties de la plante, du niveau de résistance de la pyrale à la toxine Bt et du degré de dominance de cette résistance.

A ce jour, aucune souche de pyrale (*Ostrinia nubilalis*) ou de sésamie (*Sesamia nonagrioides*) capable de se développer sur du maïs MON810 n'a pu être sélectionnée. Par conséquent, le niveau exact de résistance et le degré de dominance de cette résistance ne peuvent pas être connus.

Les tests réalisés en laboratoire montrent une mortalité des pyrales supérieure à 99% sur du maïs MON810. De plus, la présence de larves diapausantes de pyrale ou de sésamie dans les champs de maïs Bt MON810 en fin de saison semble rare, ce qui suggère que les doses produites par ces variétés sont suffisantes, à un moment donné du développement des larves de ces ravageurs, pour tuer plus 99% des larves se nourrissant de feuillage ou de parenchyme.

C'est en effet la quantité de toxine Bt produite au moment où les larves des ravageurs cibles vont se développer qui est importante. Si la concentration est variable dans le temps et dans les différents tissus de la plante, il est possible que les larves se nourrissant sur une plante ingèrent des doses suffisantes à un moment ou un autre de son développement de telle sorte qu'elles sont incapables d'atteindre le stade de larves diapausantes. Même en

admettant que les concentrations de toxine Bt observées dans l'étude de Greenpeace correspondent à la production réelle de toxine dans les plantes testées, il n'est donc pas nécessaire d'évoquer une toxicité supérieure de la toxine produite par les feuillages des maïs MON810 pour expliquer l'efficacité de ce maïs contre les ravageurs cibles.

Par ailleurs, l'absence de production de toxine dans 8% des échantillons de maïs prélevés dans un des champs peut être liée à la présence de semences non transgéniques dans les lots de semences. Un tel taux ne se trouve pas en principe dans les semences commerciales. Peut être s'agit-il d'un mélange ?

La présence de ces plantes à ce taux au sein d'un champ de maïs Bt pourrait augmenter, en cas de mouvements larvaires d'une plante à l'autre, la pression de sélection d'allèles de résistance ; en cas d'absence de mouvement larvaire, elles ne font qu'augmenter la proportion de zones refuges.

2.3- Impact sur l'entomofaune non cible

Le rapport de Greenpeace indique que si les faibles concentrations de toxines mises en évidence permettent tout de même de contrôler les attaques de pyrale, il se pourrait alors que la protéine Cry1Ab contenue dans les maïs MON810 soit plus toxique pour l'entomofaune non cible que son homologue produite directement par *Bacillus thuringiensis*. Ceci amène les auteurs à remettre en cause les études réalisées sur l'entomofaune non-cible avec des formulations de Cry1Ab issues de ces bactéries, et les études effectuées avec du maïs MON810 sans contrôle de la teneur en Cry1Ab.

La publication récente de Marvier *et al.*³ permet une comparaison globale des effectifs d'invertébrés non cibles dans des champs de maïs Bt et non Bt en présence ou non d'insecticides. Pour les variétés de maïs MON810, cette analyse prend en compte 11 études différentes assurant un total de 235 comparaisons Bt versus non Bt. Elle montre que les maïs MON810, comparés à des lignées non OGM, provoquent une légère diminution des effectifs des invertébrés, mais qui n'est pas plus importante que la réduction constatée sur l'ensemble des variétés de maïs Bt produisant la toxine Cry1Ab (24 études et 425 comparaisons) et inférieure à celle observée dans les champs de maïs conventionnel traités avec des insecticides. Les 24 études prises en considération par Marvier *et al.* ont été réalisées en champs, prenant ainsi en compte la variabilité génétique et environnementale qui influencent la quantité de toxine produite dans les feuillages.

3) Conclusion

Le protocole fourni dans le rapport de Greenpeace ne permet pas de déterminer si les concentrations de toxine Bt observées dans l'étude correspondent à la production réelle de toxine dans les plantes testées. Une variabilité des concentrations en toxine Bt est observée dans cette étude, comme dans les études précédentes, ce qui confirme l'effet de facteurs environnementaux et génétiques sur l'expression de protéines, en particulier de Cry1Ab. A cet égard, la CGB souligne l'intérêt qu'il y aurait à approfondir dans des conditions expérimentales rigoureuses l'effet des conditions environnementales sur l'expression des gènes *cry*. D'autre part, il serait souhaitable que les protocoles utilisés pour de telles études soient standardisés et suivent une procédure d'assurance qualité.

³ A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. Marvier, C. McCreedy, J. Regetz et P. Kareiva. Science (2007) 316, pp 1475-1477


En tout état de cause, les éléments essentiels pour l'évaluation des risques sont l'efficacité de l'OGM sur les insectes cibles et son impact sur les organismes non-cibles, qui peuvent être évalués indépendamment de la mesure de la production de toxine Bt.

Les études en laboratoire et en champs montrent un bon contrôle des ravageurs cibles. Les maïs MON810 semblent donc produire des doses de toxine qui, indépendamment des variations selon l'âge de la plante et l'environnement, sont suffisamment élevées pour tuer les larves sensibles avant qu'elles n'atteignent le stade diapausant.

Concernant l'hypothèse d'une toxicité accrue de la protéine Cry1Ab produite par le maïs MON810 pour l'entomofaune non cible, la récente étude de Marvier *et al.* (2007) montre que les variétés MON810 n'ont pas plus d'impact sur les invertébrés non cibles que les autres variétés de maïs Bt et que cet impact est limité, et inférieur à celui des traitements insecticides.

En conclusion, les données scientifiques apportées par Greenpeace et par l'article de Nguyen et Jehle n'apportent pas d'éléments pertinents de nature à remettre en question l'évaluation environnementale de la culture du maïs MON810.

Le Président



Marc FELLOUS