

Demande d'autorisation
de dissémination de maïs
génétiquement modifiés pour
la réalisation d'essais au champ
- année 2002

**Etude de l'impact du développement
des plantes transgéniques
dans les systèmes de culture**

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----------|
| RESUME DES POINTS PRINCIPAUX DU DOSSIER | 1 |
| AVANT-PROPOS | 2 |
| A - INFORMATIONS ADMINISTRATIVES GENERALES | 2 |
| 1 - Titre du projet | 2 |
| 2 - Nom et adresse du notifiant | 2 |
| 3 - Co-demandeurs ou partenaires du projet | 2 |
| 4 - Noms et qualifications des scientifiques responsables | 3 |
| B - CARACTERISTIQUE BIOLOGIQUE DE L'ESPECE VEGETALE RECEPTRICE | 4 |
| 1 - Position taxinomique, distribution géographique | 4 |
| 2 - Informations concernant la reproduction et la compatibilité sexuelle | 4 |
| 3 - Capacité de survie | 4 |
| 4 - Dissémination | 4 |
| 5 - Distribution géographique de la plante | 4 |
| 6 - Habitat naturel | 4 |
| 7 - Interactions potentielles | 4 |
| C - INFORMATIONS CONCERNANT LA MODIFICATION GENETIQUE | 5 |
| D - INFORMATIONS CONCERNANT LA PLANTE SUPERIEURE GENETIQUEMENT MODIFIEE | 5 |
| E - CARACTERISATION DES SITES DE DISSEMINATION | 6 |
| 1 - Localisation et étendue des sites de dissémination | 6 |
| 2 - Description de l'écosystème | 6 |
| 3 - Présence d'espèces apparentées | 7 |
| 4 - Proximité du site de biotopes officiellement reconnus ou de zone protégée susceptibles d'être affectées | 7 |
| F - INFORMATIONS CONCERNANT LA DISSEMINATION | 8 |
| 1 - Objectifs de la dissémination | 8 |
| 2 - Date et durée de l'opération | 8 |
| 3 - Méthode de dissémination | 8 |
| 4 - Préparation et gestion du site avant, pendant et après la dissémination | 8 |
| 5 - Nombre de plantes approximatif | 9 |

| | |
|--|---|
| G - MESURE DE PREVENTION DE DISPERSION | 10 |
| 1 - Distance des autres espèces végétales sexuellement compatibles | 10 |
| 2 - Mesures pour minimiser la dissémination de pollen ou de graines | 10 |
| 3 - Proposition de gestion de la parcelle après la récolte et pour le traitement des déchets | 10 |
| 4 - Description des plans d'urgence | 11 |
| | |
| H - INCIDENCES DE LA DISSEMINATION SUR L'ENVIRONNEMENT | 11 |
| 1 - Modification de la persistance ou de la vitesse de propagation dans les habitats agricoles | 11 |
| 2 - Avantages ou inconvénients sélectifs conférés par transfert de gènes aux autres espèces sexuellement compatibles | 11 |
| 3 - Incidence des interactions avec les organismes cibles | 11 |
| 4 - Incidence des interactions avec les organismes non cibles | 11 |
| | |
| ANNEXE I | Projet action de recherche COS ACTA |
| ANNEXE II-1 | Plan général des sites |
| ANNEXE II-2 | Plan de la parcelle maïs |
| ANNEXE II-3 | Localisation des sites de dissémination |
| ANNEXE III-1 | Protocoles de suivi des sites d'observation |
| ANNEXE IV-6 | Tableau récapitulatif des essais |

Résumé des points principaux du dossier d'expérimentation

| | |
|--|--|
| Notifiant | AGPM-TECHNIQUE |
| Partenaires | AVENTIS CROP SCIENCE, MONSANTO, SYNGENTA INRA Laboratoire de Malherbologie de Dijon INRA Unité de Recherches Biologiques de la Minière UMR CNRS 5557, Université Lyon 1 |
| Titre | Etude de l'impact du développement des plantes transgéniques dans les systèmes de culture |
| Objectifs | <ul style="list-style-type: none">- Poursuivre l'évaluation des risques de contournement de la résistance des variétés transgéniques à la pyrale- évaluer les conséquences de l'introduction de cultures transgéniques résistantes au glyphosate ou au glufosinate (colza et betterave) dans une rotation comportant des parcelles de maïs résistants à ces deux herbicides- mettre au point les modalités de gestion des cultures transgéniques- accompagner la mise en place d'un système de biovigilance |
| Espèce végétale | Maïs (zea Mays) : variétés hybrides |
| Caractères introduits | <ul style="list-style-type: none">- résistance à la pyrale (événements Bt 176 et Bt 11)- résistance au glufosinate (événement T 25)- résistance au glyphosate (événement Nk 603) |
| Durée du projet | Trois ans. Poursuite du projet de 2002 à 2004 faisant suite au dossier B/FR/99.02.09 et B/FR/01.03.05. Demande d'autorisation de dissémination pour la réalisation d'essais au champ avec les événements Bt 11 et Nk 603. Les événements T 25 et Bt 176 bénéficient d'une autorisation de mise sur le marché. |
| Localisation des sites | VAROIS et CHAIGNOT (21) MONTESQUIEU LAURAGAIS (31) |
| Surface et nombre de plantes transgéniques dans les essais | 2 x 9900 m ² environ 2 x 80 000 plantes Total 19800 m ² environ 160 000 plantes |
| Surface totale des essais | 2 x 9900 m ² soit 19800 m ² |
| Précautions principales envisagées | <ul style="list-style-type: none">- Zone de surveillance d'un rayon de 500 m autour des sites suivi des éventuelles levées de colza ou d'adventices tolérantes aux herbicides dans les parcelles maïs- Précautions particulières pour éviter la dissémination des graines (semis, récolte, envoi d'échantillons)- Destruction des récoltes ; mise en décharge contrôlée- Suivi des parcelles après la récolte. |

La présente demande s'intègre dans le cadre d'un projet annuel mené conjointement par l'AGPM-TECHNIQUE, l'Institut Technique de la Betterave Industrielle (ITB), l'Institut Technique des Céréales et des Fourrages (ITCF) et le Centre Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitains (CETIOM).

Les instituts responsables ont souhaité procéder, dès 1996, à l'évaluation à moyen et long terme de l'introduction de plantes transgéniques dans les principaux systèmes de culture. Menées avec le souci constant de concertation et de transparence, ces actions sont des éléments importants pour éclairer les décisions ultérieures dans le domaine des OGM. Elles sont particulièrement utiles à l'accompagnement de la mise en place du système de biovigilance.

Le projet fait donc suite au dossier B/FR/96.01.09 pour lequel l'AGPM-TECHNIQUE a bénéficié d'une expérimentation pluriannuelle de 1996 à 1998. Il fait suite également au dossier B/FR 99.02.09 (annexe II – 4 - 5) qui a obtenu une autorisation pour une durée de 3 ans le 26 mars 1999 pour l'événement Bt 11 (échéance février 2002) et au dossier B/FR/01.03.05 qui a obtenu une autorisation d'une durée de trois ans pour l'événement NK 603 (annexe II – 4 – 6).

Ce dossier est à relier aux deux dossiers concernant la betterave et le colza par le CETIOM et l'ITB. Pour le maïs, cette demande concerne les systèmes de résistance à la pyrale et aux herbicides qui ont fait l'objet de nombreuses expérimentations.

A - Informations administratives générales

1) Titre du projet

Impact du développement des plantes transgéniques dans les systèmes de culture

Titre abrégé : Développement des plantes transgéniques

2) Nom et adresse du notifiant

| | |
|-----------------------|----------------------|
| AGPM-TECHNIQUE | 64121 Montardon |
| 21, Chemin de Pau | Fax : 05.59.12.67.10 |
| Tél. : 05.59.12.67.00 | |

3) Partenaires du projet

- . SYNGENTA
- . MONSANTO
- . AVENTIS CROP SCIENCE
- . INRA Laboratoire de Malherbologie de Dijon
- . INRA Unité de Recherche de Lutte Biologique de la Minière

Partenariat

AGPM-TECHNIQUE

SYNGENTA :

AVENTIS CROP SCIENCE

MONSANTO :

INRA

CNRS

B - Caractéristiques biologiques de l'espèce végétale réceptrice

1. Positions taxinomiques, distribution géographique

| | | |
|----------------|---|----------|
| a) Nom | : | Zea mays |
| b) Genre | : | Zea |
| c) Espèce | : | Mays |
| d) Sous-espèce | : | Mays |
| e) Cultivar | : | Hybrides |
| f) Nom usuel | : | Maïs |

2. Informations concernant la reproduction

Le mode de reproduction est préférentiellement allogame. Il n'existe pas en Europe d'espèces sauvages donc aucun risque de constitution d'hybrides interspécifiques.

3. Capacité de survie

Le maïs est une plante annuelle dont les grains ne se conservent pas dans le sol, dès lors qu'elles sont enfouies après la récolte.

Après la récolte, il n'y a pas de possibilités de repousses du fait de la période d'hiver.

4. Dissémination

La dissémination des organismes génétiquement modifiés est possible par le pollen vers les maïs qui pourraient être cultivés à proximité immédiate. Les seuls maïs cultivés autour des parcelles sont ceux destinés à l'expérimentation ; ils entrent dans le système de gestion de la parcelle (destruction de la récolte).

Les graines obtenues ne sont jamais utilisées pour des semis ultérieurs. La contamination de productions de semences est très peu probable (pas de production de semences autour des sites).

5. Distribution géographique de la plante

En France, les surfaces de maïs sont d'environ 3,3 millions d'hectares (1,8 M d'ha en maïs grain et 1,5 M d'ha en maïs fourrage).

La culture est implantée sur une large partie du territoire sauf dans les zones de montagne (altitudes supérieures à 500 - 800 m selon les régions climatiques).

En Europe, le maïs est présent dans tous les Etats-membres de l'Union Européenne à l'exception des pays les plus nordiques (Suède, Finlande).

6. Habitat naturel

Plante originaire du Mexique introduite en France en 1530. Pas d'espèce sauvage en Europe.

7. Interactions potentielles

Le maïs est une plante qui ne présente pas de risques majeurs pour l'homme, les animaux ou les autres organismes.

C - Informations concernant la modification génétique

Pour chacun des systèmes, on se reportera aux dossiers référencés ci-après :

- . Maïs Bt résistant à la pyrale : Bt 176, l'évènement de transformation et le matériel utilisé sont décrits dans le dossier C/F/94-11-03. Autorisation de mise sur le marché : J.O. CE du 23/01/97 (voir copie en annexe II-4-1).
- . Maïs Bt résistant à la pyrale : Bt 11, l'évènement de transformation et le matériel utilisés sont décrits dans le dossier C/F/96-05-10 mais également dans les dossiers 95-12-04, 95-01-03 et 94-01-06 - décision d'autorisation de mise sur le marché pour la consommation : J.O. CE du 22/04/98 (copie en annexe II-4-2)
- . Maïs résistant au glufosinate ammonium : T25 l'évènement de transformation et le matériel utilisé sont décrits dans le dossier C/F/95-12-07 - autorisation de mise sur le marché : J.O. CE du 22/04/98 (copie en annexe II-4-3)
- . Maïs résistant au glyphosate : NK603, l'évènement de transformation et le matériel végétal utilisés sont décrits dans le dossier fourni par Monsanto (voir annexe II-4-4 ; dossier B/FR/99.04.06)

D - Informations concernant la plante supérieure modifiée

Les plantes cultivées sont des hybrides.

Le matériel utilisé est le même que celui décrit dans le point C.

On se reportera aux dossiers référencés ci-après :

- . résistance à la pyrale : Bt 176 même matériel que le dossier C/F/94 - 11 - 03 (AMM 23/1/97 pour la culture et la consommation) - annexe II-4-1
- . résistance à la pyrale : Bt 11 même matériel que le dossier C/F/96 - 05 - 10 (AMM du 22/04/98 pour la consommation) - annexe II-4-2
- . résistance au glufosinate d'ammonium : T25 même matériel que le dossier C/F/95 - 12 - 07 (AMM du 2/04/98 pour la culture et la consommation) - annexe II-4-3
- . résistance au glyphosate : (voir annexe II-4-4). - dossier B/FR/99.04.06

E - Caractérisation du site de dissémination

1. Localisation et étendue des sites de dissémination

Les sites sont localisés dans deux grandes régions de production (Bourgogne, Midi-Pyrénées) et seront maintenus pendant environ cinq années.

Chaque site d'observation est constitué :

- d'un ensemble de 5 à 6 parcelles d'environ 1 ha chacune, sur lesquelles seront implantées différentes cultures reproduisant le système de culture représentatif de la zone. Sur chacune des parcelles de maïs, un essai d'évaluation de l'intérêt du système de résistance herbicide seront implantés. Les autres parcelles (jachères ou céréales) seront conduites de façon classique (voir annexe II).
- d'une zone de surveillance autour de cet ensemble de parcelles dont le rayon sera de 500 m. Afin de reproduire les conditions réelles de production, aucune contrainte ne sera imposée pour le contenu et la conduite des cultures des parcelles situées dans la zone.

Toutefois aucune parcelle de maïs ne sera implantée dans un rayon de 500 m.

La parcelle de maïs sera divisée en trois parties égales :

- . 1/3 de la surface sera consacrée aux maïs transgéniques tolérants à la pyrale,
- . 1/3 de la surface portera les maïs transgéniques résistants au glufosinate,
- . 1/3 de la surface sera attribuée aux maïs transgéniques résistants au glyphosate.

| | Surface de maïs transgéniques | | | TOTAL |
|---------------|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Résistant pyrale | Glufosinate | Glyphosate | |
| Bourgogne | 3300 m ² | 3300 m ² | 3300 m ² | 9900 m ² |
| Midi-Pyrénées | 3300 m ² | 3300m ² | 3300m ² | 9900 m ² |

- Sur la parcelle tolérance à la pyrale, on réalisera un suivi de la courbe toxicologique, de la population de pyrale soumise aux maïs transgéniques à la toxine Bt (voir protocole en annexe).
- Les deux autres parcelles, l'une implantée en maïs résistants au glyphosate, l'autre au glufosinate seront divisées en deux parties :

1 - la moitié de la parcelle sera désherbée exclusivement au glyphosate ou au glufosinate, ceci dans le but d'étudier les risques de multiplication d'espèces adventices résistantes à l'une des deux ou aux deux herbicides (voir protocole en annexe).

2 - l'autre partie de la parcelle sera destinée à tester l'intérêt du système de résistance par rapport à un traitement classique. Les traitements seront les suivants : témoin de référence, traitements de prélevée suivi d'un glyphosate ou un glufosinate, traitement de post-levée classique, accompagné de glyphosate ou glufosinate (parcelles de 60 m² chacune) (voir protocole en annexe III).

2. Description de l'écosystème

Les sites sont localisés dans des régions représentatives de la production du maïs.

3. Présence d'espèces apparentes

Les sites d'observations seront localisés dans des zones de production habituelle où des parcelles de maïs seront présentes.

4. Proximité du site de biotopes officiellement reconnus ou de zones protégées susceptibles d'être affectées

A proximité de chaque site, il n'y a pas de biotopes officiellement reconnus ou de zones protégées susceptibles d'être affectés.

F - Informations concernant la dissémination

1. Objectif de la dissémination

Les objectifs de la dissémination sont les suivants :

- poursuivre l'évaluation des risques de contournement de la tolérance des variétés transgéniques à la pyrale,
- évaluer les conséquences de l'introduction de cultures résistantes au glufosinate et au glyphosate (colza et betterave) dans une rotation comportant des parcelles de maïs résistantes à ces deux herbicides.
- mettre au point les modalités de gestion des cultures transgéniques,
- accompagner la mise en place d'un système de biovigilance.

Les protocoles sont décrits en annexe 3.

Il est prévu d'introduire des observations supplémentaires concernant l'impact des maïs transgéniques sur la faune auxiliaire (collaboration INRA).

Une réflexion est également engagée afin de mettre en place un système d'information autour de ces plates-formes et d'organiser sur le long terme toutes les données recueillies depuis 1996.

2. Date et durée de l'opération

Le projet s'est déroulé de 1999 à 2001 avec l'autorisation B/FR/99.02.09 (annexe II – 4 – 5) obtenue le 26 mars 1999 pour une durée de trois ans. Du fait du remplacement de l'un des événements de transformation en 2001, une nouvelle demande a été formulée en mars 2001 (B/FR/01.03.05 – annexe II – 4 – 6).

En 2002, les semis interviendront entre le 5 avril et le 15 mai, la floraison en juillet - août et la récolte en octobre 2002. Un nouveau cycle annuel devrait démarrer en avril 2003.

3. Méthode de dissémination envisagée

Les semis sont effectués à l'aide d'un semoir 4 ou 6 rangs. Les écartements entre les rangs sont de 0,75 à 0,80 m.

4. Préparation du site pendant et après la dissémination

La préparation et la conduite des sites seront effectuées selon la pratique des régions.

Le suivi des parcelles est indiqué dans l'annexe III. A l'issue des années d'expérimentation et en fonction des résultats de l'évaluation de la réglementation deux scénarios sont envisagés :

- . si les plantes disséminées sont commercialisées sans restriction, remise en culture normale du site,
- . au terme final de l'expérimentation et si les plantes transgéniques étudiées font l'objet d'une restriction quant à leur mise sur le marché (et notamment l'impossibilité de cultiver dans une même région des plantes résistantes à différents herbicides) les parcelles expérimentales cultivées en maïs pendant la période expérimentale seront surveillées et maintenues, durant 4 années au moins, sans culture de colza ou de betterave.

Un contrôle de la nature des repousses ou adventices sera effectué chaque année tant sur la parcelle expérimentale que dans la zone d'observation.

5. Nombre de plantes

La surface totale de plantes génétiquement modifiées sera donc de 9900 m² par site, soit 19 800 m² au total. Le nombre de plantes sera d'environ 80 000 plantes par site.

G - Mesures de prévention de dispersion

1. Distance des autres espèces sexuellement compatibles

Aucune mesure particulière n'est envisagée sur les deux sites d'observation afin de reproduire fidèlement les conditions de la pratique agricole.

Au cas où une parcelle de maïs serait cultivée par des agriculteurs dans la zone de surveillance de 500 m, leur récolte serait isolée de façon à garantir la non exportation des graines hors du territoire national.

Les adventices ou les repousses de colza transgéniques observées éventuellement dans les cultures de maïs seront particulièrement suivies par l'équipe du CETIOM (voir dossier colza).

2. Mesures pour minimiser la dissémination de pollen ou de graines

Aucune mesure particulière n'est envisagée pour minimiser la dispersion du pollen. Les essais réalisés par l'AGPM-TECHNIQUE de 1998 à 2000 sur la dispersion du pollen indiquent qu'au-delà du rayon de 500 m de surveillance prévu pour l'essai, une contamination accidentelle de parcelles de maïs extérieures à l'essai est très peu probable.

Des précautions particulières seront prises pendant toute la durée de la culture de façon à éviter la dispersion des graines hors des parcelles d'expérimentation. Il s'agit de précautions au semis, à la récolte, lors du prélèvement des plantes et pour l'envoi d'échantillons de graines :

- à la fin du semis, le semoir sera soigneusement nettoyé sur la parcelle. Les graines non semées seront récupérées par l'AGPM-TECHNIQUE. Elles seront retournées au fournisseur.
- à la fin de la récolte, la moissonneuse-batteuse sera soigneusement nettoyée sur la parcelle.
- le transport des graines devra respecter les normes AFNOR (NFX 42071 - décembre 1992).
- envoi des graines : les échantillons de graines destinées aux analyses seront placés dans un double sac plastique étanche et dans un contenant suffisamment rigide pour ne pas être déchiré ou éventré. Avant tout envoi de graines transgéniques (par la poste ou par un transporteur), l'expéditeur préviendra le destinataire par l'envoi d'un fax en précisant :
 - le numéro de l'essai et la nature des graines,
 - le nombre d'échantillons envoyés
 - le poids total de l'échantillon.

Ce fax comportera en bas la mention « reçu le » après signature, le destinataire pourra s'en servir comme accusé de réception.

Les graines après analyse sont envoyées à l'incinération (arrêté du 4/01/85 J.O. du 16/02/85). Un justificatif est conservé.

3. Proposition de gestion de la parcelle après la récolte ou le traitement des déchets

A l'issue des années d'expérimentation, et en fonction des résultats de l'évaluation et de l'évolution de la réglementation, deux scénarios sont envisagés :

- . si les plantes disséminées sont commercialisées sans restriction, remise en culture normale du site,

. au terme final de l'expérimentation et si les plantes transgéniques étudiées font l'objet d'une restriction quant à leur mise sur le marché (et notamment l'impossibilité de cultiver dans une même région des plantes résistantes à différents herbicides) les **parcelles expérimentales cultivées en maïs** pendant la période expérimentale seront surveillées et maintenues, durant 4 années au moins, **sans culture de colza, de betterave ou de maïs.**

Un contrôle de la nature des repousses ou adventices sera effectué chaque année tant sur la parcelle expérimentale que dans la zone d'observation (y compris les repousses éventuelles de maïs).

4. Description des plans d'urgence

Si un évènement imprévu survenait, il convient de :

- contacter l'AGPM-TECHNIQUE,
- la CGB et le Ministère de l'Agriculture seront avisés.

Les évènements susceptibles de provoquer la mise en place d'un plan d'urgence sont les suivants :

- mise en évidence d'un avantage sélectif de la culture de maïs entraînant des perturbations sur les autres cultures,
- problèmes d'allergies rencontrées par les équipes en charge de l'expérimentation.

La culture de maïs transgénique serait alors détruite par broyage et labour.

H - Incidences de la dissémination sur l'environnement

1. Modifications de la persistance ou de la vitesse de propagation dans les habitats agricoles

En l'absence de traitement herbicide, les plantes transformées tolérantes aux herbicides ne présentent aucun avantage sélectif.

2. Avantages ou inconvénients sélectifs conférés par transfert de gènes aux autres espèces sexuellement compatibles

Le transfert du caractère de résistance vers d'autres espèces n'est pas possible, du fait de l'absence dans le milieu des plantes sauvages proches.

La culture du maïs résistant au glyphosate ou du glufosinate, désherbée uniquement avec ces herbicides peut favoriser le développement d'adventices résistantes issues de cultures transgéniques (colza, betteraves) voisines. Toutefois, les adventices résistantes peuvent être détruites par l'emploi d'un herbicide maïs classique.

3. Incidence des interactions avec les organismes cibles :

Sans objet.

4. Incidence des interactions avec les organismes non ciblés

Sans objet.

Annexe I

Projet Action de recherche ICTA 2002 - 2004

Protocole de suivi des sites d'observation

Le présent protocole décrit les modalités de suivi et de contrôle des deux sites «systèmes de culture» dans lequel le maïs intervient.

A III – 1) Avril à octobre (du semis à la récolte)

- avril - mai : semis des maïs transgéniques dans la parcelle destinée au maïs.

Dans les parcelles maïs résistants au glufosinate et au glyphosate, implantation d'un essai de comparaison de désherbage (64 m2 par parcelle) :

- T1 traitement de référence selon les préconisations régionales
- T2 traitements exclusifs au glyphosate ou au glufosinate
- T3 traitement de prélevée accompagné d'un traitement en post-levée au glyphosate ou au glufosinate
- T4 traitement de post-levée classique accompagné d'un traitement au glyphosate ou au glufosinate.

- prévoir une bande témoin de 2 m non désherbé entre chaque traitement

L'essai sera implanté au milieu de chacune des parcelles de façon à éviter les éventuelles dérives de produits sur les autres parcelles (voir schéma).

| Maïs transgéniques résistants à la pyrale | Maïs transgéniques résistants au glufosinate | Maïs transgéniques résistants au glyphosate | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|
| | NT NT NT <table border="1" style="margin: auto; border-collapse: collapse;"> <tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td></tr> <tr><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>1</td></tr> <tr><td>3</td><td>4</td><td>1</td><td>2</td></tr> <tr><td>4</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td></tr> </table> essai glufosinate 64 m2 par parcelle | 1 | 2 | 3 | 4 | 2 | 3 | 4 | 1 | 3 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 3 | NT NT NT <table border="1" style="margin: auto; border-collapse: collapse;"> <tr><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>1</td></tr> <tr><td>4</td><td>2</td><td>1</td><td>3</td></tr> <tr><td>1</td><td>4</td><td>3</td><td>2</td></tr> <tr><td>3</td><td>1</td><td>2</td><td>4</td></tr> </table> essai glyphosate 64 m2 par parcelle | 2 | 3 | 4 | 1 | 4 | 2 | 1 | 3 | 1 | 4 | 3 | 2 | 3 | 1 | 2 | 4 | Intérêt technique du système de résistance |
| 1 | 2 | 3 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 3 | 4 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 4 | 1 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 1 | 2 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 3 | 4 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 2 | 1 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 4 | 3 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 1 | 2 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | étude des risques de multiplication des adventices résistantes | étude des risques de multiplication des adventices résistantes | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

NT : témoins non traités

1-2-3-4 : tirage au sort des traitements
T1 - T2 - T3 - T4
(réalisés en 1996 et repris depuis cette date)

Plan de la parcelle maïs

A III – 2) Mai à octobre

1) Observations réalisées sur la parcelle maïs transgénique résistant à la pyrale

Un suivi de la courbe toxicologique de la population de pyrales soumise au maïs transgénique sera réalisé sur cette parcelle (établissement de la dose létale 50 sur larves du premier ou du deuxième stade). La comparaison sera faite avec une population témoin provenant des champs de maïs transgéniques résistants aux herbicides maïs sensibles à la pyrale et cultivés sur le même site.

En juillet, août, on prélèvera dans la parcelle de maïs transgénique les insectes survivants de première génération sur les plantes visuellement attaquées par la pyrale. Ces insectes de dernier stade (2 cm env.) seront envoyés au laboratoire de la Station de recherche de lutte biologique de La Minière (Mme J. CHAUFFAUX) qui étudiera la sensibilité de leur descendance à la toxine Cry IA (b) de *Bacillus thuringiensis* synthétisée par le maïs transgénique (nombre minimum d'insectes nécessaires : entre 50 et 100, en situation extrême, une dizaine de chenilles pourrait être testée).

La population témoin sera prélevée à la même époque sur les parcelles avoisinantes sensibles à la pyrale (nombre minimum d'insectes nécessaires : 100 à 150 chenilles au minimum). Ces populations seront l'objet de mêmes tests que pour celles prélevées sur les parcelles transgéniques résistantes à la pyrale.

S'il est impossible d'obtenir des insectes de première génération, l'étude sera envisagée avec des larves de 2ème génération. Ces essais sont menés sur la descendance ; ils ne seront réalisés qu'au printemps de l'année suivante étant donné la diapause obligatoire des larves de 2ème génération.

Pour la collecte de larves de 2ème génération (dernier stade : 2 cm de long), récolter les cannes attaquées (partie inférieure à l'épi) et les stocker de façon à recueillir le maximum de larves viables (pour les conditions de stockage et de traitement contacter Mme CHAUFFAUX, INRA). Les nombres de larves prélevées seront du même ordre que ceux mentionnés précédemment.

2) Observations réalisées sur les parcelles maïs transgéniques résistants au glufosinate et au glyphosate

2-1 Essais intérêt du système de résistance (voir plan de la parcelle)

- On dénombre sur les parcelles de maïs non désherbées la flore initiale présente (méthodes habituelles utilisées dans les essais désherbage).
- Sur les parcelles traitées (T1 à T4), on dénombre les levées des adventices.

Les désherbages à base de glufosinate et de glyphosate seront comparés à un désherbage classique (efficacité, évolution de la flore, surveillance de l'apparition éventuelle de résistance).

En années n + 1 et suivantes, les mêmes essais seront reconduits sur les mêmes parcelles. On dénombre sur toutes les parcelles les levées éventuelles de colza ou de betterave issues des parcelles avoisinantes avant et après préparation du sol pour la culture. La sensibilité de ces espèces au glyphosate ou au glufosinate sera testée.

Il est donc impératif de repérer l'essai de façon à retrouver les points d'infestation initiaux (culture du maïs en monoculture).

2-2 Observations des résidus d'herbicides dans le sol

Des prélèvements de sols seront effectués sur les parcelles avant et après l'application des produits et au moment de la récolte des cultures. On recherchera la présence des herbicides et de leurs métabolites pertinents.

2-3 Parcelles étude des risques de dissémination des adventices résistantes au glyphosate ou au glufosinate en conditions naturelles

Chacune des parcelles (voir plan) sera traitée uniquement au glyphosate ou au glufosinate en fonction de la variété cultivée. Un relevé floristique sera effectué.

En cas d'apparition de colza ou de crucifères ou de betteraves dans les parcelles, un test de résistance au glyphosate et au glufosinate sera effectué (parcelle glyphosate : test glyphosate puis glufosinate ; parcelle glufosinate : test glufosinate puis glyphosate).

3) Observation de l'impact des plantes transgéniques sur la faune auxiliaire

Des mesures particulières seront effectuées de juin à octobre pour juger de l'impact éventuel des maïs transgéniques tolérants à la pyrale sur la faune auxiliaire (collaboration Mme CHAUFaux).

Le protocole sera celui retenu en 1999 dans le cadre du comité de biovigilance.

4) Observations des possibilités de transfert de gènes vers la microflore du sol

Des prélèvements de sol seront effectués par l'équipe de microbiologie des sols du CNRS de l'Université de Lyon I pour mesurer un éventuel transfert de gènes du végétal vers la microflore du sol [prélèvements effectués dans les parcelles portant les événements de transformation Bt 176 (avec gène marqueur ampicilline) et Bt 11 (sans gène marqueur ampicilline)].

Le protocole sera fourni par l'équipe de microbiologie des sols du CNRS/Université Lyon 1.

A III – 3) Octobre : récolte des parcelles

Récolte de toutes les parcelles à la machine.

Le transport des grains devra respecter les normes AFNOR (NFX 42 - 071).

Les grains obtenus ne seront pas introduits dans un circuit de commercialisation mais seront mis en décharge contrôlée, en vue d'obtenir leur destruction et l'impossibilité de dissémination. La partie des grains utilisée pour analyse sera détruite après usage (voir chapitre G, point 2).

Moyens :

L'application du suivi nécessitera l'affectation de moyens adaptés :

- le site de Midi-Pyrénées se trouve à proximité de la station d'expérimentation de l'AGPM-TECHNIQUE qui a l'expérience de l'implantation, du suivi et de contrôle d'essais agronomiques
- En Bourgogne, le suivi sera fait en collaboration avec le CETIOM et le laboratoire de Malherbologie de Dijon avec l'appui de la station AGPM-TECHNIQUE Expérimentale de Boigneville (Essonne).