

**Avis sur le dossier EFSA/GMO/DE/2008/63. Paris, le
le 07/01/2010**

Comité Scientifique, Jean-Christophe Pagès, Jean-Jacques Leguay, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Florence Coignard, François-Christophe Coleno, Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, et al.

► **To cite this version:**

Comité Scientifique, Jean-Christophe Pagès, Jean-Jacques Leguay, Yves Bertheau, Pascal Boireau, et al.. Avis sur le dossier EFSA/GMO/DE/2008/63. Paris, le le 07/01/2010. Haut Conseil des Biotechnologies. 2010, 22 p. hal-02916034

HAL Id: hal-02916034

<https://hal.inrae.fr/hal-02916034>

Submitted on 17 Aug 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Comité Scientifique
du
Haut Conseil des Biotechnologies

Paris: le 07/01/2010

AVIS
sur le dossier
EFSA/GMO/DE/2008/63

Le Haut conseil des biotechnologies a été saisi le 8 août 2009, par les autorités compétentes françaises (Ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Pêche) d'une demande d'avis relative à un dossier de ***demande d'autorisation aux fins de mise en culture, d'importation, de transformation et d'alimentation humaine et animale, dans l'Union Européenne d'une betterave génétiquement modifiée portant l'évènement H7-1***. Ce dossier est déposé par **KWS SAAT AG Allemagne** et **Monsanto Europe S.A.**, dans le cadre du règlement 1829/2003 et enregistré à l'AESA (Autorité européenne de sécurité des aliments) sous la référence **EFSA/GMO/DE/2008/63**.

Le Comité scientifique (CS) du Haut conseil des biotechnologies réuni le 15 décembre 2009, sous la présidence du Professeur Jean-Christophe PAGES, a procédé à l'examen du dossier EFSA/GMO/DE/2008/63. Outre l'analyse des risques pour l'environnement et la santé, le CS a examiné les implications qu'aurait la mise en culture de betterave H7-1 pour la coexistence des filières de production.

RÉSUMÉ.....	3
INTRODUCTION	5
OBJET DE LA SAISINE	5
ANALYSE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE.....	5
1- DESCRIPTION DU PRODUIT	5
2- MÉTHODE DE TRANSFORMATION.....	5
3- DESCRIPTION MOLÉCULAIRE ET GÉNÉTIQUE	5
3.1 Caractéristiques génétiques de la construction.....	5
3.2 Caractéristiques génétiques de la betterave transgénique.....	6
3.3 Expression du transgène	6
4- ÉVALUATION DES RISQUES POUR LA SANTÉ ANIMALE ET HUMAINE.....	7
5- ÉVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT.....	8
5.1 <i>Systèmes de cultures et itinéraires techniques</i>	8
5.2 <i>Persistance, avantages ou désavantages sélectifs</i>	12
5.3 <i>Dissémination potentielle du transgène (pollen, graines)</i>	13
5.3.1 Dissémination par le pollen :	13
5.3.2 Dissémination par les graines	14
5.4 <i>Transfert de gène horizontal</i>	14
6- INTERACTIONS POTENTIELLES DE L'OGM, ET DES PRATIQUES CULTURALES INHÉRENTES, AVEC LES ORGANISMES NON CIBLES.....	14
7- ÉMERGENCE DE PLANTES ADVENTICES TOLÉRANTES À L'HERBICIDE	15
8- EFFETS SUR LES PROCESSUS BIOGÉOCHIMIQUES	15
9- PLAN DE SURVEILLANCE POST-COMMERCIALISATION	15
10- MESURES PROPRES À ASSURER LA COEXISTENCE DES FILIÈRES.....	17
CONCLUSIONS.....	18
BIBLIOGRAPHIE	21

Résumé

La demande examinée par le Comité Scientifique (CS) du Haut Conseil des biotechnologies (HCB) porte sur la culture, l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de denrées ou d'ingrédients produits à partir de betteraves sucrières génétiquement modifiées portant l'évènement H7-1. Cette betterave exprime le gène *cp4 epsps* provenant de la souche CP4 d'*Agrobacterium* sp, codant la protéine 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase. L'insertion du transgène est caractérisée sur le plan moléculaire, tant pour le site du génome de la plante que pour la séquence transgénique. Aucun gène de la plante n'est altéré par l'insertion. Une délétion de quelques nucléotides en 5' de la séquence régulatrice du transgène est notée, sans conséquences sur le plan de l'expression et de la structure de la protéine. La protéine transgénique est fonctionnelle conférant la tolérance à l'herbicide non sélectif, glyphosate.

Sur le plan des qualités agricoles, de nombreux essais en champ ont permis de comparer les teneurs de la betterave H7-1 avec d'autres variétés, pour la matière sèche, les minéraux, les acides aminés, les protéines, les glucides, les lipides, etc... Des dosages ont également été effectués, sur les mélasses et la pulpe de betterave, qui sont utilisées essentiellement en alimentation animale. L'ensemble de ces dosages n'a pas montré de différences significatives, les variations restent dans les limites de celles qui sont observées pour les variétés commerciales.

Le Comité Scientifique du Haut Conseil des biotechnologies a noté plusieurs points qui nécessitent une attention particulière avant d'envisager une éventuelle autorisation :

Un des problèmes de l'emploi de plantes transgéniques tolérantes à un herbicide provient de la sélection d'adventices¹ tolérantes à cet herbicide. Le CS note que pour la betterave, le problème est particulièrement aigu puisqu'une partie des adventices est de la même espèce que la plante génétiquement modifiée. La tolérance pourrait donc être transmise par croisement. En cas de forte pression sélective, d'autres mécanismes moléculaires ont également été décrits pour expliquer la survenue de plantes tolérantes. Si une autorisation était proposée, l'utilisation du glyphosate pour la culture de ces betteraves génétiquement modifiées devrait donc être particulièrement réglementée.

Les résultats d'une série d'essais renforcent la nécessité de mettre en œuvre des mesures visant à éradiquer les betteraves adventices transgéniques. Laisser les adventices ou des repousses, même à faible fréquence, dans les cultures suivantes, surtout si elles sont tolérantes au même herbicide, pourra conduire à voir se développer rapidement une très forte proportion de betteraves tolérantes dans le stock semencier (Darmency & Richard-Molard, 2008 ; Darmency et al., 2009).

De plus, pour cette plante cultivée en rotation, si la rotation implique d'autres espèces tolérantes au même herbicide, les repousses de la culture de betteraves, les "traînantes" provenant de résidus de plantes non récoltés, deviendraient des adventices présentant la tolérance à l'herbicide, ce qui altèreraient l'ensemble des cultures de la rotation.

Conformément au règlement (CE) 1830/03, et du fait d'un manque de spécificité d'un marqueur moléculaire de référence de l'espèce transgénique, le CS demande que le pétitionnaire fournisse une méthode d'identification/quantification réellement spécifique de

¹

Adventice : Espèce végétale qui s'ajoute à un peuplement auquel elle est étrangère. Ce sont en général les « mauvaises herbes » mais pas uniquement, le terme « adventice » est donc plus général.

la betterave H7-1 avant qu'une autorisation de mise en culture ne soit délivrée.

En cas de mise en culture de la betterave H7-1, le Comité scientifique du Haut Conseil des biotechnologies recommande de mettre en place :

- Un **plan de surveillance générale** : pour surveiller les effets inattendus comprenant entre autres l'émergence d'adventices tolérantes au glyphosate et la réduction potentielle de la biodiversité (flore et faune du sol).
Les questionnaires de surveillance une fois dépouillés, le CS du HCB recommande que les autorités compétentes interviennent pour que les risques sur l'environnement soient évalués, ce, même si le taux de réponses des questionnaires utilisés pour le suivi des cultures mentionnant des effets adverses liés à la culture des OGM est inférieur à 5%.

- Un **plan de surveillance spécifique** : contrôlant la dispersion, volontaire ou involontaire, du transgène des betteraves H7-1 hors des parcelles cultivées et permettant de garantir la durabilité des différentes filières de production (production de semences, filières conventionnelles, filières «sans OGM, jardins particuliers et maraîchages).
Ces mesures devront être appliquées au titre de la coexistence des filières selon la loi n° 2008-595 du 25 juin 2008 et s'appliquer au delà de la durée d'autorisation. Une méthode de détection de la betterave réellement spécifique devra être fournie par le pétitionnaire avant toute autorisation.

Introduction

En date du 8 septembre 2005, l'AFSSA a émis un avis favorable pour l'utilisation en alimentation humaine et animale des betteraves portant l'évènement H7-1. Le 20 décembre 2006, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) a rendu un avis favorable pour la mise sur le marché européen de denrées et d'ingrédients alimentaires, ainsi que d'aliments pour animaux, produits à partir de la betterave sucrière portant l'évènement H7-1 (EFSA Journal 2006, 431, 1-18).

En date du 24 Octobre 2007, suite à la décision 2007/692/EC de la commission, est autorisée la mise sur le marché de denrées et d'ingrédients alimentaires, ainsi que d'aliments pour animaux, produits à partir de betterave sucrière portant l'évènement H7-1.

Objet de la saisine

La nouvelle demande porte sur la culture, l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de denrées ou d'ingrédients produits à partir de betteraves sucrières génétiquement modifiées portant l'évènement H7-1.

Analyse du Comité Scientifique

1- Description du produit

La betterave H7-1 correspond à un élément de transformation de la lignée 3S0057 de betterave sucrière. Elle porte le gène *cp4 epsps* provenant de la souche CP4 d'*Agrobacterium* sp, codant la protéine 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase ([E.C.2.5.1.19](#)). La protéine EPSPS est une enzyme ubiquiste, localisée dans le chloroplaste, présente chez de nombreuses plantes et microbes, mais absente chez les animaux. L'expression de l'enzyme EPSPS de la souche CP4 d'*Agrobacterium* sp confère une tolérance au glyphosate.

2- Méthode de transformation

La transformation a été réalisée au moyen d'agrobactéries portant le plasmide PV-BVGT08. La sélection des transformants a été faite grâce à l'expression du gène *cp4 epsps* conférant une aptitude à pousser sur un milieu sélectif contenant du glyphosate.

3- Description moléculaire et génétique

3.1 Caractéristiques génétiques de la construction

La construction a été réalisée dans le plasmide bactérien PV-BVGT08 désarmé d'*Agrobacterium tumefaciens*. Le plasmide porte les éléments ori-V et ori-322, de réplication chez *Escherichia coli*, le gène *rop* provenant du plasmide de clonage pBR322 permettant le maintien du plasmide dans l'hôte bactérien, ainsi que le gène *aadA*

conférant la résistance à la streptomycine et à la spectinomycine. La cassette portant le gène *epsps* contient les éléments suivants:

- frontière droite de transfert provenant du plasmide pTiT37 d'*A. tumefaciens* (25 bp)
- promoteur 35S du *Figwort mosaic virus* (*Caulimovirus*) (672 bp)
- gène *ctp2* codant un peptide d'adressage au chloroplaste, provenant d'*Arabidopsis thaliana* (310 bp)
- gène *cp4 epsps* (1363 bp)
- signal de polyadénylation du gène *rbcS E9* de *Pisum sativum* (630 bp)
- frontière gauche de transfert provenant du plasmide pTi15955 d'*A. tumefaciens* (25 bp).

3.2 Caractéristiques génétiques de la betterave transgénique

Des expériences selon la technique de « *Southern* » ont montré que la betterave H7-1 porte une seule copie intacte de la cassette d'expression du *cp4 epsps*, en un seul locus. La séquence du transgène intégré confirme son identité à la cassette insérée et montre l'existence d'une substitution silencieuse dans le gène *cp4 epsps*.

Le séquençage des extrémités du transgène indique un remaniement de l'extrémité 5' puisque les 43 premières bases de la cassette, portant notamment la frontière droite, sont absentes. Ce phénomène est fréquemment observé sur les frontières droites ou gauches lors des transformations par agrobactéries.

Le séquençage des extrémités a également permis de vérifier qu'aucun peptide, ou aucune protéine, n'était susceptible d'être produit ou supprimé du fait du site d'insertion du transgène dans le génome de la plante.

L'étude de la descendance en ségrégation, par autofécondations ou croisements avec une lignée monogème, sur 3 générations, indique le caractère mendélien du transgène et sa stabilité :

- Par l'expression de la tolérance au glyphosate.
- Par les profils en Southern blot.

3.3 Expression du transgène

La protéine exprimée par la betterave H7-1 a été comparée à la protéine CP4 EPSPS exprimée dans *E. coli*. La conformité des protéines et leur équivalence fonctionnelle sont déduites des travaux suivants :

- Poids moléculaire établi par migration électrophorétique en SDS-PAGE ou par spectrométrie de masse (MALDI-TOF),
- Propriétés immunologiques par immuno-empreinte,
- Séquence des extrémités N-terminales des protéines : la protéine produite dans la plante ne porte pas le 1^{er} résidu méthionine, ce qui est classique (Giglione, C. et Meinel, T. 2001) mais est ensuite identique à la séquence attendue,
- Absence de glycosylation,
- Activité enzymatique.

La quantité de protéines produites dans les feuilles et la racine de la betterave H7-1 a été déterminée à l'aide d'une méthode ELISA, en utilisant la protéine purifiée, à partir d'*E. coli*, dans des gammes étalon. Les travaux ont porté sur des échantillons collectés dans plusieurs essais réalisés en Europe en 1998 et 1999, sur des plantes ayant, ou non, reçu un traitement glyphosate. Les résultats indiquent une forte variation intra- et inter-sites des

teneurs en protéine EPSPS.

La concentration déterminée dans les feuilles est de l'ordre de 170 µg par g de matériel frais. Les résultats indiquent un taux beaucoup plus faible dans les racines prélevées en 1998 (48 – 53 µg/g de poids frais). En 1999 les taux étaient comparables dans les deux tissus (168 µg/g). Bien que cela ne soit pas clairement apparent dans les annexes présentant les travaux, la différence semble être expliquée par une amélioration du protocole d'extraction à partir des racines. Dans tous les cas, le traitement par l'herbicide ne modifie pas de manière notable les teneurs en protéines transgénique.

4- Évaluation des risques pour la santé animale et humaine

Un test de toxicité chronique a été réalisé chez le rat alimenté pendant 90 jours avec de la pulpe de betterave. Sept régimes ont été comparés: pulpe provenant de H7-1 aux taux d'incorporation de 2% et 5% dans l'alimentation, comparativement à la pulpe de betteraves quasi-isogéniques au taux de 5% (contrôles), ou de quatre variétés commerciales non-OGM de betterave au taux de 5%.

Chaque régime alimentaire a été administré à des groupes de 20 mâles et 20 femelles. Le suivi a consisté en un examen « clinique » journalier, des pesées et la détermination hebdomadaire de la prise de nourriture, des examens biologiques (analyses de sang et urine). En fin d'essai, après sacrifice des animaux, les organes principaux ont été pesés, et des observations macroscopiques et microscopiques.

Des analyses statistiques « classiques » ont été développées (analyse de variance pour détecter des différences entre groupes, test de Dunnett en cas de différence observée précédemment). Si des différences significatives au seuil 5% ont été observées, les données obtenues restent dans l'intervalle des valeurs déterminées pour les groupes contrôles avec les tests statistiques utilisés par le pétitionnaire.

Une étude d'alimentarité a par ailleurs été conduite sur 6 groupes de moutons pendant 3 semaines. L'un des groupes recevait de la betterave H7-1, comparativement à 5 variétés commerciales. Aucune différence jugée significative n'a été rapportée entre les différents régimes.

De nombreux essais en champ (11 en Europe en 1998 et 1999 ; 1 aux USA en 2003), comparant une H7-1 tolérante au glyphosate à la lignée quasi-isogénique et à différentes variétés cultivées, ont permis de comparer les teneurs en matière sèche, minéraux, acides aminés, protéines, glucides, lipides, saponines, etc.. Des dosages ont été également effectués sur les mélasses et la pulpe de betterave, qui sont utilisées essentiellement en alimentation animale. Les dosages comparatifs n'ont pas montré de différences significatives et restent toujours dans les limites des variations observées dans les variétés commerciales. Au total, la betterave transgénique H7-1 paraît présenter la même valeur nutritive que la variété quasi-isogénique.

Toutefois, bien que les conclusions obtenues soient acceptables, le CS constate que les nouvelles règles d'analyse statistique, proposées par l'AESA (The EFSA journal 2009, 1250: 1-66) en date du 21 avril 2009, règles que le CS approuve, n'ont pas été appliquées, le dossier ayant été évalué par l'AESA antérieurement à la publication de ces nouvelles règles.

Le CS demande qu'à l'avenir, pour tout dossier proposé par un pétitionnaire, les résultats bruts des expériences soient fournis sous un format électronique qui permette l'utilisation des données pour la réalisation de tests statistiques complémentaires.

5- Évaluation des risques pour l'environnement

La betterave sucrière (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) est une espèce bisannuelle cultivée pour sa racine. Celle-ci contient 16 à 20% de sucre en poids frais. Les produits dérivés de la purification du saccharose sont la mélasse et la pulpe, qui sont utilisées majoritairement en alimentation animale.

5.1 Systèmes de cultures et itinéraires techniques

La betterave sucrière est semée dans le nord de la France entre mi-mars et mi-avril pour être récoltée à l'automne de la même année. Elle apparaît souvent dans les rotations, tous les deux ans (BS/blé), trois ans (BS/blé/orge) ou quatre ans (BS/blé/pomme de terre/blé) (les cultures sont données à titre d'exemple).

La maîtrise de la densité de peuplement est primordiale pour la réussite de la culture. La plante est peu adaptée, au début de son cycle, pour rattraper des défauts de semis et est peu compétitive contre les mauvaises herbes. La préparation du sol nécessite également un soin particulier pour éviter des zones compactées qui pourraient déformer les racines.

La lutte contre les maladies, les ravageurs et les adventices joue un rôle crucial dans l'élaboration du rendement et influe directement sur le prix de revient. On dit couramment que si un hectare donne un revenu brut d'une valeur de 100, il aura fallu dépenser, pour cultiver cet hectare, 25 à 30 de produits phytosanitaires, dont 15 à 20 d'herbicides. Le désherbage, effectué à la main jusqu'en 1965, est maintenant largement réalisé grâce à des herbicides spécifiques. Le binage mécanique interligne garde cependant une importance notable, ainsi que certains passages manuels durant l'été. Les produits herbicides sont souvent utilisés en mélange, et appliqués en plusieurs passages.

Les problèmes de désherbage, et notamment le recours à un binage mécanique ou manuel, proviennent des betteraves adventices difficiles à éliminer car étant de la même espèce.

La betterave, du genre *Beta*, comporte trois espèces :

Beta macrocarpa

Beta patula

Beta vulgaris, qui comporte elle-même trois sous-espèces :

- *Beta vulgaris*, dont une forme est la betterave cultivée
- *Beta maritima*, littorale ou rudérale
- *Beta adanensis*, non présente en France

La taxonomie des différentes betteraves est complexe, elle est représentée Figure 1.

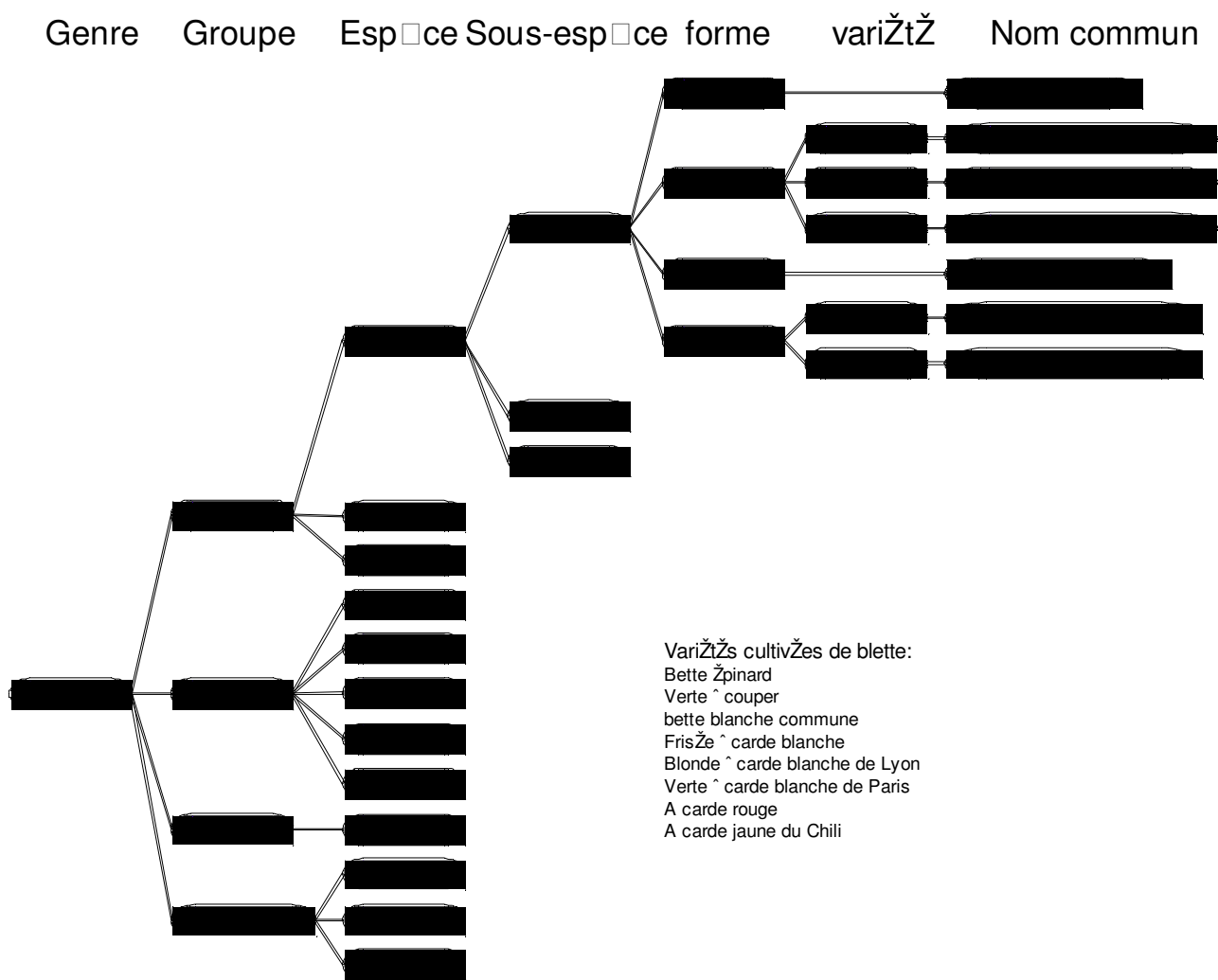


Figure 1 : Taxonomie du genre *Beta* (OECD, 2001).

Ces espèces sont très largement interfertiles (Santoni et Bervillé, 1992, Boudry et al., 1993). Le taux d'allogamie est particulièrement fort.

Ces espèces et sous espèces se répartissent géographiquement sur tout le territoire français (Figure 2). Les betteraves sauvages (*Beta vulgaris* ssp *maritima*) sont rudérales² dans le sud de la France, où se cultive la betterave pour la production de semence, ou littorale, près des zones de culture pour la production de sucre.

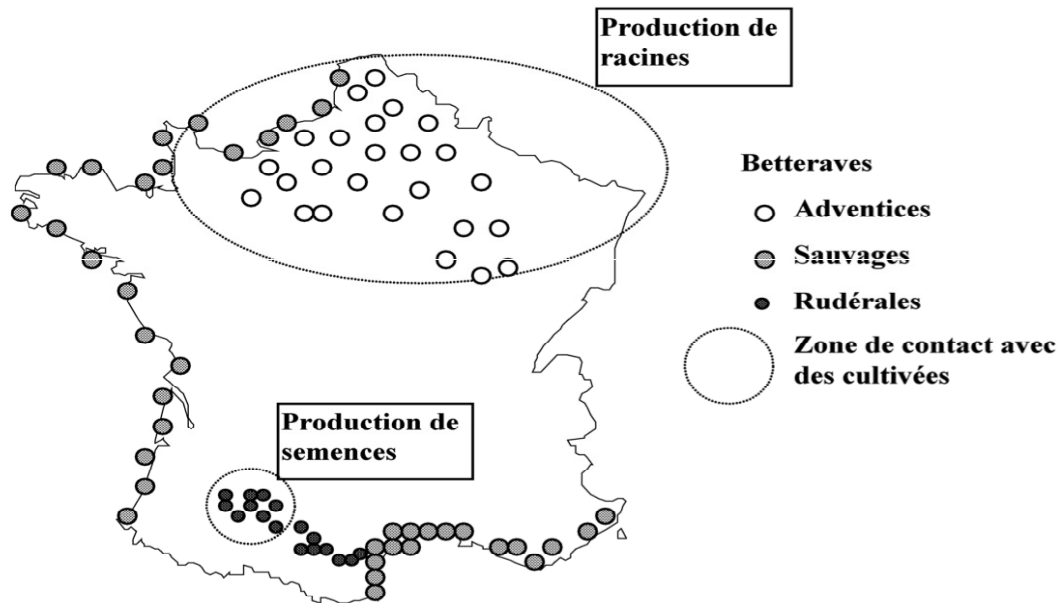


Figure 2 : Classement géographique des cultures de betteraves en France et leurs zones de contact (d'après Sester, 2004, repris de Desplanque et al., 1999).

Du fait de cette interfertilité, les betteraves peuvent devenir elles-mêmes adventices de la culture suivante lors des rotations, mais aussi de la culture de betterave. En effet, la plante développe son cycle en deux années (Figure 3), la première, végétative, pendant laquelle se fait l'accumulation de sucre dans la racine, et après laquelle la plante est récoltée, et la seconde, reproductrice qui voit la tige monter, fleurir et produire des graines après fécondation. Les betteraves sucrières cultivées sont bisannuelles et ne fleurissent pas la première année. La plante, pour fleurir, nécessite des périodes de froid (vernalisation) et des jours courts. Elle peut être « dévernalisée », et donc perdre son aptitude à fleurir, lorsqu'elle est soumise à des températures élevées. La betterave semée en fin d'hiver ou début de printemps n'acquiert généralement pas une aptitude à fleurir la première année. Cependant, toutes les betteraves ne sont pas bisannuelles. Les betteraves sauvages, contrairement aux espèces cultivées qui sont homozygotes pour la forme récessive du gène de montaison (*b* pour « bolting »), possèdent l'allèle dominant (*B*) qui leur procure la capacité à monter sans vernalisation. Elles ne requièrent donc pas de vernalisation pour fleurir dès la première année.

Les betteraves rudérales peuvent donc polliniser les plantes cultivées pour la production de semence dans le sud de la France. Cette pollinisation contamine des lots qui comporte alors quelques semences hybrides qui donneront des fleurs dès la première année dans les champs de betterave. On les reconnaît aisément dans le champ puisqu'elles se

² Espèce rudéral: qui pousse sur des friches ou en bord de chemin.

trouvent sur le rang de semis.

Certaines betteraves deviennent également adventices par les résidus de récolte. Des morceaux de racines ou de collets, voire des plantes entières, peuvent rester au sol, donner de nouvelles plantes qui, ayant été vernalisées, montent, fleurissent et une fois fécondées par les betteraves sauvages donnent des graines. Ces plantes sont généralement appelées des « traînantes ». Contrairement aux hybrides qui ont perdu la nécessité d'une vernalisation pour fleurir, ces plantes sont identiques aux plantes cultivées. Elles peuvent devenir des adventices des cultures suivantes.

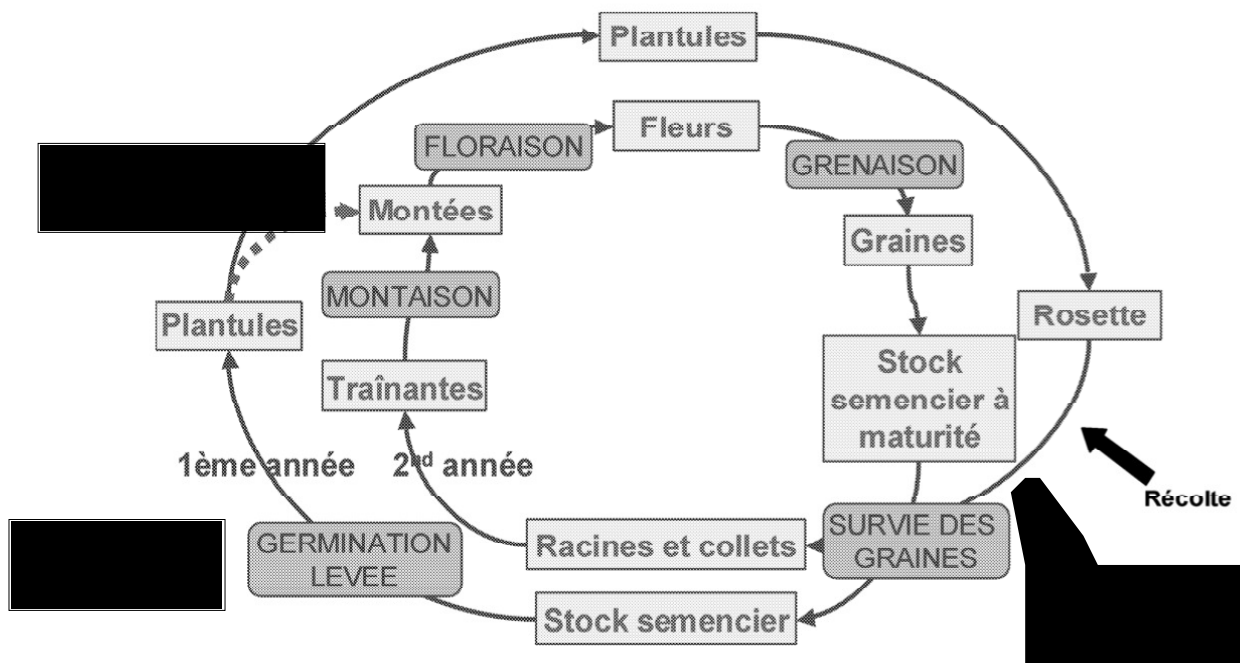


Figure 3 : Développement de la betterave sous ses différentes formes, cultivée ou adventice. Pour la dernière forme : les hybrides contenus dans le lot de semence qui vont produire des graines dans le champ cultivé ; les traînantes, provenant des résidus de culture des années antérieures ou de la germination de graines de betterave du stock semencier (d'après Sester, 2004).

Les betteraves adventices (hybrides de l'année sur le rang, ou filles de ces mêmes hybrides ou des traînantes qui ont abondé le stock semencier) vont être dommageables à deux titres :

- Celles de l'année, outre le fait qu'elles entrent en compétition avec les plantes cultivées pour les facteurs de production (eau, éléments nutritifs, lumière...) gênent par leur hampe florale la récolte mécanique et l'extraction ultérieure de sucre. Si elles ne sont pas éliminées, leurs graines vont abonder le stock semencier et amplifier le processus « d'infestation » des champs.
- Elles peuvent également être, à des degrés divers, dommageables aux cultures suivantes (Sester et al, 2004). Elles sont peu gênantes dans les cultures de céréales, où elles sont peu compétitives et facilement maîtrisables par l'emploi raisonné d'herbicides. La compétition est plus rude dans une culture de pois protéagineux ou une culture de pomme de terre ou de maïs, pour laquelle l'écartement des rangs permet la croissance des betteraves adventices. Si la production de graines de betterave adventice est faible

dans une culture de pois en raison de la récolte précoce, avant la montaison de la betterave, il n'en va pas de même pour le maïs, où les betteraves adventices peuvent fleurir et produire des graines qui augmenteront le stock semencier du sol. Il est cependant à signaler que les rotations comprenant la betterave impliquent peu le maïs ou le pois.

Les betteraves adventices sont particulièrement difficiles à éliminer dans les cultures de betterave puisque appartenant à la même espèce que la plante cultivée. Les techniques pour les éradiquer sont spécifiques (Sester, 2004). Il s'agit, le plus souvent, de les éliminer manuellement par des passages répétés, lorsqu'elles sont sur le rang, ou encore par binage lorsqu'elles sont entre les rangs. Ce point est très fréquemment évoqué dans le dossier du pétitionnaire. Toute négligence peut s'avérer dramatique pour la suite. L'ITB³ (cité par Sester, 2004) estime qu'une montée peut engendrer une vingtaine de montées dans la culture de betterave suivante. 20.000 ha des 450.000 que comptait la culture en 1996 étaient très fortement infestés, ce qui a conduit à l'arrêt de culture de la betterave sur bon nombre des parcelles pendant plusieurs années, celle-ci n'étant plus rentable. La persistance des graines dans le sol pendant de nombreuses années amplifie évidemment le problème.

Pour l'agriculteur, l'emploi d'une variété tolérante à un herbicide non sélectif, comme le glyphosate, est de nature à faciliter la gestion des adventices dans les peuplements de betterave en :

- permettant un meilleur contrôle des adventices (Petersen and Röver, 2005 ; Gianessi, 2005; Phipps and Park, 2002),
- augmentant la flexibilité des pratiques de désherbage dans le temps (Cuguen et al., 2004; May, 2003; Wevers, 1998)
- diminuant les coûts de contrôle des adventices (Demont and Dillen, 2008; Giesy et al., 2000; Williams et al., 2000). Le coût moyen du désherbage de la betterave en France est de 130 euros / ha en moyenne.
- permettant de passer à la pratique du « non-labour » (Bennett et al., 2004; Bennett et al., 2006; Bricklemyer et al., 2006; Petersen and Röver, 2005) avec ses bénéfices environnementaux (Hebblethwaite, 1995; Reicosky, 1995; Ruiz et al., 2001; Warburton and Klimstra, 1984; Wevers, 1998).
- réduisant la phytotoxicité des produits actuellement utilisés pour le désherbage (Richard-Molard et al., 1996)

Malgré ces avantages, supposés ou réels, un des problèmes de l'emploi des plantes transgéniques tolérantes à un herbicide reste la sélection d'adventices tolérantes à cet herbicide. Pour la betterave, le problème est particulièrement aigu puisqu'une partie des adventices est de la même espèce. De plus, si la rotation emploie d'autres espèces cultivées tolérantes au même herbicide, les repousses de la culture précédente de betteraves transgéniques et tolérantes (dites "traînantes" provenant de résidus de plantes non récoltés), deviennent des adventices présentant la tolérance à l'herbicide.

5.2 Persistance, avantages ou désavantages sélectifs

En absence d'application de glyphosate, les caractéristiques agronomiques de la betterave H7-1 étant analogues à celles de la betterave cultivée (croissance, morphologie, vigueur, sensibilité aux maladies aux ravageurs et aux pesticides, rendement et survie), il

³ Institut Technique de la Betterave

n'est pas attendu de changement dans la persistance, la vigueur ou la compétitivité de la betterave H7-1 par rapport aux autres variétés cultivées. En dehors de la tolérance au glyphosate, la betterave H7-1 ne présente pas de capacités à survivre différentes de celles des variétés conventionnelles cultivées.

5.3 Dissémination potentielle du transgène (pollen, graines)

5.3.1 Dissémination par le pollen :

La durée de vie du pollen disséminé par le vent dépend des conditions environnementales mais n'excède pas 24 heures. La dissémination du transgène concerne principalement une dissémination vers *Beta maritima* et *Beta vulgaris*, qui sont des adventices (les variétés potagères ou maraîchères n'ayant pas été étudiées).

En ce qui concerne les transferts de gène de *Beta vulgaris* vers *Beta vulgaris* adventices, Darmency & Richard-Molard (2008) montrent, sur un essai comportant deux sites de 4 ha chacun, que sur les 222 000 graines présentes après la première rotation, 22 % sont transgéniques, ce qui représente 0.6 graine par m², mais avec une très large variabilité selon les parcelles (Darmency & Richard-Molard, 2008).

Des résultats très récents (Darmency et al., 2009), obtenus sur la dispersion de pollen de betterave, montrent une contamination non négligeable à longue distance par le pollen (Figure 4). La proportion de graines « tolérantes » par fruit produit est très forte dans un rayon de 3 m autour de la source composée de plantes tolérantes à l'herbicide, pour décroître ensuite jusqu'à 200 m. On note encore une présence de graines tolérantes à 1km de la source. Cette dispersion à longue distance montre que la dispersion du pollen reste un facteur important dans la transmission des gènes à l'échelle du paysage.

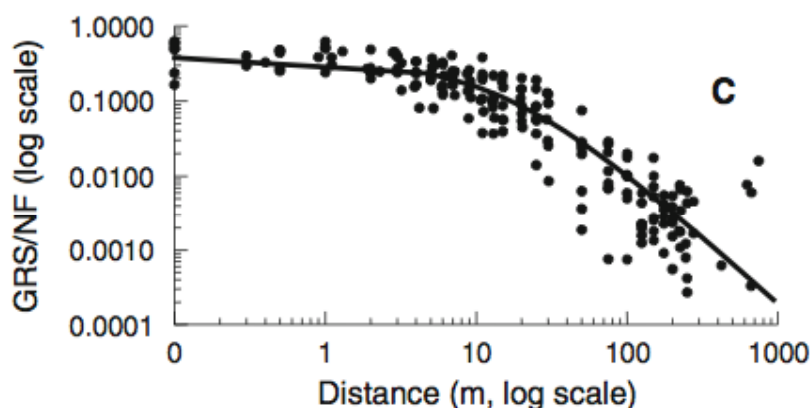


Figure 4 : Nombre de graines produites par fruits de pieds mâles stériles en fonction de la distance à la source de pollen. GRS/NF= proportion de graines résistantes aux herbicides. La courbe représente la valeur prédite en utilisant le meilleur modèle de prédiction (Darmency et al., 2009).

Ces résultats renforcent la nécessité d'éradiquer les betteraves adventices transgéniques soit par des techniques culturales (arrachage, binage...), soit par l'emploi de graines certifiées de très haute qualité, non sensibles à la vernalisation et exemptes d'hybrides annuels. Laisser les adventices ou des repousses, même à faible fréquence, dans les cultures suivantes, surtout si elles sont tolérantes au même herbicide, pourra conduire à

voir se développer rapidement une très forte proportion de betteraves tolérantes dans le stock semencier.

5.3.2 Dissémination par les graines

En ce qui concerne les transferts de gène vers *Beta maritima*, une étude (Arnaud et al., 2003) a montré des traces d'introgression dans certaines populations maritimes des côtes de la Manche situées au contact des champs de betteraves sucrières. Dans ces populations, des individus présentant des génotypes hybrides pour leur génome nucléaire ont pu être mis en évidence. Au vu des résultats de cette étude, la cause de ce transfert de gène est moins liée aux flux de pollen qu'à une importante banque de graines constituées dans le sol au fil du temps (voir aussi Viard et al., 2004).

Les études de V Fievet et al. publiées en 2007, non citées par le pétitionnaire, montrent que la dispersion des graines de *Beta vulgaris* ssp. *maritima*, sur les côtes françaises du golfe anglo-normand dans la Manche peuvent se produire à longue distance par le biais des courants marins, ce qui assure à cette espèce un fort pouvoir de colonisation.

5.4 Transfert de gène horizontal

Le gène *epsps* est présent chez de nombreuses plantes et microbes. Le gène introduit provient d'une bactérie du sol. Les codons du gène *CP4 epsps* ont été optimisés de façon à assurer une meilleure expression dans la plante hôte. Dans les faits, les organismes non cibles (animaux, plantes, microorganismes du sol, pathogènes et parasites) qui pourraient interagir avec les betteraves transgéniques ont déjà été confrontés à ce gène. Seul un effet quantitatif pourrait être éventuellement à considérer. Il faut noter qu'aucun effet négatif n'a été signalé dans des cultures régulières et/ou à grande échelle d'autres espèces transgéniques exprimant le gène *epsps* (soja, maïs), sous réserve toutefois qu'un suivi ait été organisé.

Un transfert dans l'environnement ne pourrait être consécutif qu'à la dégradation des résidus de culture par les bactéries du sol ou au rejet via les fèces des animaux alimentés avec ces betteraves. Sur la base des données scientifiques sur le sujet, il n'y a pas de risque spécifique lié à un transfert éventuel de ces transgènes vers les microorganismes du sol ou du système digestif des animaux d'élevage.

6- Interactions potentielles de l'OGM, et des pratiques culturelles inhérentes, avec les organismes non cibles

En dehors de l'alimentation humaine et animale, aucun autre organisme cible n'est apparemment concerné. En ce qui concerne les organismes non-cibles, de nombreuses études sont citées qui ne montrent pas d'effets délétères de la protéine CP4 EPSPS (vis à vis des bactéries et champignons, vers de terre, mammifères) ni envers les processus associés aux microorganismes du sol, impliqués dans la transformation des sources de carbone et d'azote.

7- Émergence de plantes adventices tolérantes à l'herbicide

La mise en culture de betterave H7-1 pourrait conduire, par le biais d'applications de glyphosate sur de grandes surfaces, à la sélection d'adventices tolérantes à cet herbicide

comme cela a été démontré dans un cas similaire (Gaines et al., (2009) <http://www.pnas.org/content/early/2009/12/10/0906649107>). Ce constat n'est pas spécifique au caractère génétiquement modifié de H7-1, il concerne plus généralement le nouveau caractère phénotypique de résistance au glyphosate, quelle que soit la manière dont il a été obtenu.

De ce fait, il importe que l'usage et les doses d'emploi du glyphosate se conforment à l'avis NOR:AGRG0402105V du JO 235 du 8 octobre 2004 texte numéro 83, qui régit son emploi en France dans le cadre de bonnes pratiques d'utilisation. De même, l'homologation éventuelle du glyphosate sur betteraves devra s'accompagner de mesures de gestion des applications de glyphosate telles que la pression de sélection sur les adventices reste limitée et que les impacts sur la biodiversité soient identiques, voire moindres, à ceux résultant de la culture des betteraves conventionnelles.

Les sociétés KWS SAAT AG Allemagne et Monsanto Europe S.A. proposent un plan de surveillance générale de l'apparition des adventices tolérantes au glyphosate, qui serait mis en place pendant la durée de l'autorisation. Le CS du HCB participera à l'élaboration de la surveillance qui sera mise en œuvre par les Autorités compétentes avec avis du Comité de surveillance biologique du territoire, en accord avec le dispositif mis en place par la loi de juin 2008.

Il est à noter que les croisements possibles avec d'autres *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* cultivées, dont certaines par des particuliers, n'ont pas été considérés dans le dossier du pétitionnaire.

8- Effets sur les processus biogéochimiques

Comme les pratiques culturales appliquées aux parcelles de betterave H7-1 seront différentes de celles appliquées aux parcelles de betteraves conventionnelles, il convient que les conséquences de l'utilisation de glyphosate sur les processus biogéochimiques du sol soient évaluées de manière spécifique.

9- Plan de surveillance post-commercialisation

Les pétitionnaires considèrent la surveillance à deux niveaux: au niveau local (parcelle ou ensemble de parcelles) et aux niveaux plus larges de la région ou du pays. Ils considèrent que leur responsabilité n'est directement impliquée que dans le premier niveau.

Les acteurs d'un plan de surveillance sont en premier lieu les exploitants puis les sociétés qui commercialisent ou transforment le produit et, enfin, les autorités nationales de surveillance ou contrôle.

Le plan de surveillance proposé correspond à un questionnaire qui sera transmis à des producteurs. L'enquête porte sur les caractéristiques des sites de production, les pratiques culturales mises en œuvre et les observations des exploitants quant à la conduite et au rendu des cultures: traitement, fertilisation et irrigation, sensibilité aux maladies et parasites, pression exercée par les adventices et les betteraves mauvaise herbe, présence d'animaux (mammifères, oiseaux et insectes). Une base de données sera constituée à partir des résultats de l'enquête et transmise au moins annuellement à l'UE. Les réponses aux questions posées définissent trois catégories (moins, plus ou semblable/similaire) permettant de transformer les données en caractères ternaires (effet négatif ou, au contraire, pas d'effet ou effet positif). L'analyse statistique visera à déterminer si le taux de réponses indiquant un effet négatif est inférieur à 5%. L'objectif du questionnaire est de tester si le taux de réponses mentionnant des effets adverses liés à la culture des OGM est inférieur à 5% (H0) ou supérieur à 5% (H1). Dans le cas où

l'hypothèse nulle H0 n'est pas rejetée - et donc que l'on accepte que ce taux est inférieur à 5% - on ne peut pas pour autant en conclure qu'il n'y a pas d'effets adverses statistiquement significatifs comme le prétend le pétitionnaire.

De plus, ce seuil de 5% est tout à fait discutable puisque:

- on ne sait pas quelles sont les variations naturelles que l'on peut attendre, par manque d'expériences et de recul.

- on n'a absolument aucune idée du seuil (à quel % de modification par rapport à une situation antérieure) on doit intervenir.

La seule information statistique que l'on peut déduire de ces questionnaires est un intervalle de confiance très précis (environ +/- 1%) du taux de réponses mentionnant des effets adverses liés à la culture des OGM. Le nombre de questionnaires à renseigner est évalué à 2500 sur une période de 10 ans. Cent questionnaires sont prévus la 1^{ère} année, année de mise en route de cultures transgéniques en Europe et durant laquelle une importante vente de semences transgéniques n'est visiblement pas envisagée. Un retour d'information est également attendu de la part des distributeurs, tout au moins en cas d'insatisfaction des producteurs. Dans tous les cas, aucun contrôle de dissémination du transgène n'est toutefois envisagé, pas plus chez les agriculteurs, dans l'environnement, que dans les jardins de particuliers ou périmètres de maraîchage qui pourraient être contaminés.

Outre la collecte et la diffusion régulière des informations déduites de l'enquête, les pétitionnaires proposent une veille active de toute information issue de diverses sources (publications scientifiques, rapports d'experts). Le reste du plan de surveillance consiste en une discussion sur l'intérêt de la mise en place de comités de surveillance nationaux et de leur liaison en réseau.

Néanmoins, comme le souligne le pétitionnaire, l'un des éléments importants pour éviter l'apparition de betteraves adventices tolérantes au glyphosate est la pureté des semences proposées. Il conviendrait donc que le pétitionnaire envisage un plan de surveillance qui inclurait toutes sous-espèces confondues, en particulier dans le cas d'espèces potagères.

En outre, le recours à des questionnaires annuels portant sur les pratiques culturales des agriculteurs de l'année semble insuffisant. En effet, l'apparition de betterave adventice et traînantes tolérantes au glyphosate n'aura lieu, au mieux, que l'année suivante. Il conviendrait donc, pour le moins, que les agriculteurs ayant semé des betteraves H 7-1 continuent à recenser l'apparition de betterave adventice H7-1 plusieurs années après chaque semis.

Il est à noter que le pétitionnaire ne prévoit aucun suivi d'autres sous-espèces de *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* (betterave fourragère, carde, potagère, etc.) en particulier dans le cas de plantes cultivées par des particuliers et maraîchers. La surveillance devrait englober toutes les *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* cultivées.

Par ailleurs, l'évaluation du risque a mis en évidence des effets indirects liés au changement de pratiques agricoles, et en particulier le régime herbicide avec l'utilisation du glyphosate : l'émergence d'adventices tolérantes au glyphosate d'une part, une réduction potentielle de la biodiversité (flore et faune) d'autre part. Des mesures adaptées de gestion du glyphosate (limitation de la fréquence des applications, rotations culturales, etc.) permettent de minimiser ces impacts. Ces mesures devraient être définies et adaptées aux conditions régionales lors de l'examen de l'homologation de l'usage du glyphosate sur la betterave. Ces mesures pourraient être rendues obligatoires par les Autorités compétentes.

Le plan de surveillance, tel qu'il est prévu par la directive 2001/18, doit permettre de vérifier que ces mesures de gestion sont bien de nature à minimiser les risques identifiés.

Le CS considère qu'il est donc nécessaire de mettre en place **un plan de surveillance spécifique**, à étendre aux autres plantes cultivées *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*, en particulier potagères et maraîchères. Le plan de surveillance général devra prendre en compte non seulement l'environnement en tant que tel, mais également les surfaces de maraîchage et les jardins particuliers.

Compte tenu de la diversité des environnements et des systèmes agricoles en Europe et du fait que l'homologation de l'herbicide sera discutée à l'échelle nationale, un tel plan doit être reformulé sous l'égide des Autorités compétentes nationales avec avis du CSBT.

À ce titre, il faut que ces dispositifs de surveillance spécifique et générale se poursuivent au-delà de la durée de l'autorisation afin de limiter au maximum les flux de gènes issus de germination de graines encore présentes dans les sols, voire zones de stockage ou de transport.

10- Mesures propres à assurer la coexistence des filières

Le respect du principe de coexistence impose aux états membres de mettre en place des mesures de gestion des cultures qui permettent de respecter les seuils légaux d'étiquetage de la présence d'OGM.

Les méthodes de détection et quantification de la betterave H7-1 ont été validées par le CRL-GMFF quant à leurs critères de performance.

Il convient cependant de noter que le gène de référence de la betterave, glutamine synthase, fourni par le pétitionnaire manque de spécificité, car il ne permet pas de discriminer le navet ou navette (*Brassica rapa*, sous espèce non précisée par le CRL-GMFF), espèce différente de la betterave (Rapport de validation CRL-GMFF⁴ <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/statusofdoss.htm>).

Par ailleurs des résultats non publiés (Bertheau et al.) en collaboration avec le CRL-GMFF ont montré que le système proposé par le pétitionnaire amplifiait également des espèces adventices, potagères et maraîchères :

Beta vulgaris ssp. *vulgaris*

- betterave fourragère (fodder-beet, Brigadier, Eckendorf Gelb, Jauna, Merveille, Starmon)

- betterave potagère (garden beet; Pablo F1)

- poirée / bette à couper, bette à carde (leaf beet; Rétina, et Verte à Couper)

Beta vulgaris ssp. *maritima* (bette maritime, allogame)

Beta vulgaris ssp. *adanensis*

Beta patula

Beta macrocarpa

Sans toutefois amplifier :

Spinacia Oleracea : épinard (Monstrueux de Viroflay, Gigante America)

Beta patellaris

Atriplex hortensis (Arroche Rouge)

Cette absence de spécificité des systèmes de contrôle pourrait induire des erreurs d'interprétation dans la quantification des PGM et affecter la loyauté des transactions.

⁴ Community Reference Laboratory on Genetically Modified Food and Feed.

Conformément au règlement (CE) 1830/03, le Comité Scientifique demande donc que le pétitionnaire fournisse une méthode d'identification/quantification spécifique, en particulier au niveau du gène de référence du taxon, avant toute délivrance d'une autorisation de mise en culture.

Il importe qu'aux éléments de surveillance mentionnés dans les paragraphes précédents, s'ajoute un **plan de surveillance spécifique et général**. Ce plan tiendrait compte de: la dispersion, volontaire ou involontaire, du transgène des betteraves H7-1 hors des zones autorisées à la culture, et en particulier dans les jardins de particuliers et dans les zones de maraîchage et permettant de garantir la durabilité des différentes filières de production (production de semences, filières conventionnelle, filières «sans OGM»). Ces mesures devront être appliquées au titre de la coexistence des filières selon la loi n° 2008-595 du 25 juin 2008.

Conclusions

Le Comité Scientifique du Haut Conseil des biotechnologies a pris connaissance du dossier EFSA/GMO/NL/2005/22 fourni par l'AESA, et des informations existantes de l'AFSSA.

Il approuve les nouvelles règles d'analyse statistique proposées par l'AESA (The EFSA Journal 2009; 1250: 1-66) du 21 avril 2009, qui recommandent la mise en oeuvre de procédures statistiques adaptées : tests d'équivalence, analyse de puissance, utilisation de modèles mixtes applicables aux différents volets d'un dossier :

- Le dossier ayant été évalué par l'AESA antérieurement à ces nouvelles règles, le CS constate que ces nouvelles règles d'analyse statistique proposées par l'AESA n'ont pu être appliquées par le pétitionnaire dans l'analyse des données.

- Le CS demande que ces règles soient appliquées dans l'avenir lors de l'examen des dossiers soumis à autorisation et que pour tout dossier proposé par un pétitionnaire, les résultats bruts des expériences soient fournis sous un format électronique qui permette l'utilisation directe des données pour la réalisation de tests statistiques complémentaires.

Conformément au règlement (CE) 1830/03, le CS demande que le pétitionnaire fournisse une méthode d'identification/quantification réellement spécifique de la betterave H7-1 avant qu'une autorisation de mise en culture ne soit délivrée.

Le Comité Scientifique du Haut Conseil des biotechnologies considère, pour la betterave génétiquement modifié H7-1, que les conséquences des pratiques culturales générées par les cultures de betteraves tolérantes au glyphosate, et notamment les conditions d'usage de cet herbicide, sont à surveiller dans le cadre général de la loi d'orientation agricole n° 99-574 du 9 juillet 1999, consolidée au 06 janvier 2006 et de l'avis NOR:AGRG0402105V du JO 235 du 8 octobre 2004, texte numéro 83 et de la loi n° 2008-595 du 25 juin 2008.

Il importe que l'homologation éventuelle du glyphosate sur les cultures de betterave s'accompagne de mesures de gestion des applications de glyphosate telles, que la pression de sélection sur les adventices reste limitée et que les impacts sur la biodiversité soient identiques, voire moindres, à ceux de la culture des betteraves conventionnelles.

Le Comité Scientifique du Haut Conseil des biotechnologies considère qu'un des problèmes de l'emploi des plantes transgéniques résistantes à un herbicide reste la sélection d'adventices tolérantes à cet herbicide. Pour la betterave, le problème est particulièrement aigu puisqu'une partie des adventices est de la même espèce et provient donc potentiellement d'une hybridation directe entre adventices et culture génétiquement modifiée. De plus, si la rotation emploie d'autres espèces cultivées tolérantes au même herbicide, les repousses de la culture précédente (betteraves dites "traînantes" provenant de résidus de plantes non récoltés), transgéniques et tolérantes, deviennent des adventices présentant la tolérance à l'herbicide.

En cas de mise en culture de la betterave H7-1, le Comité scientifique du Haut Conseil des biotechnologies recommande de mettre en place:

- Un **plan de surveillance générale** pour surveiller les effets inattendus comprenant entre autres l'émergence d'adventices tolérantes au glyphosate et la réduction potentielle de la biodiversité (flore et faune du sol)...

Les questionnaires de surveillance une fois dépouillés, le CS du HCB recommande que les autorités compétentes interviennent pour que les risques sur l'environnement soient évalués, ce, même si le taux de réponses des questionnaires utilisés pour le suivi des cultures mentionnant des effets adverses liés à la culture des OGM est inférieur à 5%.

- Un **plan de surveillance spécifique** contrôlant la dispersion, volontaire ou involontaire, du transgène des betteraves H7-1, hors des parcelles de culture et permettant de garantir la durabilité des différentes filières de production (production de semences, filières conventionnelles, filières «sans OGM», jardins particuliers et maraîchage). Ces mesures devront être appliquées au titre de la coexistence des filières selon la loi n° 2008-595 du 25 juin 2008.

Le CS du HCB considère que la mise en place de ces plans, d'une durée supérieure à celle de l'autorisation pour tenir compte du temps de rémanence des graines dans les sols, doivent être sous le contrôle des Autorités compétentes nationales et nécessiteraient un financement approprié. Un plan de surveillance des filières de transport et de la distribution pourrait être associé.

De façon plus générale, le Comité Scientifique du Haut Conseil des Biotechnologies souligne l'importance de mettre en place une surveillance générale prenant en compte les conséquences sur l'environnement des cultures de différents OGM tolérants à différents types d'herbicides.

Au total, l'intérêt de l'emploi de la Betterave H7-1 reste à démontrer :

- Cette betterave compte tenu de son potentiel de dissémination pollinique peut s'hybrider avec les espèces sauvages et rudérales et donc faciliter l'introggression du caractère de tolérance au glyphosate dans ces espèces.

- L'intérêt agronomique peut apparaître fondé sur le court terme (difficulté de désherbage et destruction des betteraves adventices) mais ne le semble pas sur le long terme, puisque l'apparition de betteraves adventices tolérantes (issues du stock semencier notamment) limitera largement l'intérêt premier.

Bibliographie

- Arnaud J.F., Viard F., Delescluse M. and Cuguen J., 2003. Evidence for gene flow via seed dispersal from crop to wild relatives in *Beta Vulgaris* (Chenopodiaceae) : consequences for the release of genetically modified crop species with weedy lineages. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Vol 270* : 1565-1571.
- Bennett, R., Phipps, R. and Strange, A., 2006. An application of life-cycle assessment for environmental planning and management: the potential environmental and human health impacts of growing genetically modified herbicide-tolerant sugar beet. *Journal of Environmental Planning and Management*, 49 : 59-74.
- Bennett, R., Phipps, R., Strange, A. and Grey, P., 2004. Environmental and human health impacts of growing genetically modified herbicide-tolerant sugar beet : a life-cycle assessment, *Plant Biotechnology Journal*, 2 : 1-6.
- Boudry O., Mörchen M., Saumitou-Laprade P., Vernet P. and Van Dijk H., 1993. The origin and evolution of weed beets : consequences for breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beet. *Theoretical and applied genetics*, 87 : 471-478.
- Bricklemyer, R. S., Lawrence, R. L., Miller, P. R. and Battogtokh, N., 2006. Predicting tillage practices and agricultural soil disturbance in north central Montana with Landsat imagery. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 114, 210-216.
- Cuguen, J., Arnaud, J. F., Delescluse, M. and Viard, F., 2004. Gene flow within Beta species complex: genetic diversity of weed and wild sea beet populations within the French sugar beet production area. *Proceedings of the 67th IIRB Congress*, 135-148.
- Darmency H., Klein E.K., Gestat de Garanbe T., Gouyon P.H., Richard-Molard M. and Muchembled C., 2009. Pollen dispersal in sugar beet production fields. *Theor Appl Genet (2009) 118:1083–1092*
- Darmency, H. Vigouroux, Y., Gestat de Garambé T., Richard-Molard M. and Muchembled C., 2007. Pollen flow to weedy beets in sugar beet production fields: data from six years farm scale monitoring. *Environmental Biosafety Research* 6, 197–206.
- Darmency, H. and Richard-Molard, M. 2008. Gene flow in sugar beet production fields. ISB News Report, April 2008, 8-10
- Delplanque B., Boudry P., Broomberg K., Saumitou-Laprade P., Cuguen J. and Van Dijk H. 1999. Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L. (chenopodiaceae) assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and applied genetics* 98 : 1194-1201.
- Delplanque B., Hautekèete N. and Van Dijk H., 2002. Transgenic weed beets : possible, probable, avoidable ?. *Journal of applied ecology* 39 : 561-571.
- Demont, M., Tollens, E. and Fogarasi J., 2005. Potential impact of biotechnology in Eastern Europe: transgenic maize, sugarbeet and oilseed rape in Hungary. *Working Paper 2005/92*

- Edwards, W. M., Norton, L. D. and Redmond, C. E., 1988. Characterizing macropores that affect infiltration into notilled soil. *J. Soil Sci.*, 52, 483-487.
- Fievet, V., Touzet, P. Arnaud, JF. and Cuguen, J. 2007. Spatial analysis of nuclear and cytoplasmic DNA diversity in wild sea beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) populations: do marine currents shape the genetic structure? *Molecular Ecology*, 16, 1847–1864.
- Gaines, T. A., Zhang, W., Wang, D., Bukun, B., Chisholm, S. T., Shaner, D. L., Nissen, S. J., Patzoldt, W. L., Tranel, P. J., Culpepper, A. S., Grey, T. L., Webster, T. M., Vencill, W. K., Sammons, R. D., Jiang, J., Preston, C., Leach, J. E. and Westra, P. 2009. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*.
- Gianessi, L., 2005. Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops, *Pest Management Science*. 61, 241-245.
- Giesy, J. P., Dobson, S. and Solomon, K. R., 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 167, 35-120.
- Giglione, C. and Meinnel, T. (2001). Organellar peptide deformylases: universality of the N-terminal methionine cleavage mechanism. *Trends in Plant Science* 6, 566-572.
- Hebblethwaite, J. F., 1995. The contribution of no-till to sustainable and environmentally beneficial crop production: a global perspective. *Conservation technology information center*, 1-11.
- May, M. J., 2003. Economic consequences for UK farmers of growing GM herbicide tolerant sugar beet. *Annals of Applied Biology*, 142, 41-48.
- OECD 2001. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 18
- Petersen, J. and Röver, A., 2005. Comparison of sugar beet cropping systems with dead and living mulch using a glyphosate resistant hybrid, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 191, 55-63.
- Phipps, R. H. and Park, J. R., 2002. Environmental benefits of genetically modified crops: global and European perspectives on their ability to reduce pesticide use, *Journal of Animal and Feed Sciences*, 11, 1-18.
- Richard-Molard M., Muchembled C. and Gestat de Garambe T., 1996. Experimentations au champs de betteraves tolérantes à un herbicide non selectif : premiers resultats et perspectives X^{ème} colloque international sur la biologie des adventices Dijon septembre 1996.
- Ruiz, P., Novillo, C., Fernandez-Anero, J. and Campos, M., 2001. Soil arthropods in glyphosate tolerant and isogenic maize lines under different soil/weed management practices, *1st World Congress on Conservation Agriculture*.
- Santoni S. and Bervillé A., 1992. Evidence for gene exchanges between sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and wild beets : consequences for transgenic sugar beets. *Plant molecular biology* 20 : 578-580.

Sester M., 2003. Modélisation de l'effet des systèmes de culture sur les flux de gènes entre culture transgénique et adventice apparentée. Cas de la betterave sucrière (*Beta vulgaris* L.). Doctorat de l'Université de Bourgogne.

Sester M., Delanoy M., Cobach N., Darmency H. 2004. Crop and density effects on weed beet growth and reproduction. *European Weed Research* 44, 50–59.

Sester M., Tricault Y., Darmency H. and Colbach N., 2008. GENESYS-BEET: a model of the effects of cropping systems on gene flow between sugar beet and weed beet. *Field Crops Research* 107, 245–256.

Tricault Y., Darmency H. and Colbach, N. (in press) : Identifying key components of weed beet management using sensitivity analyses of the GENESYS-BEET model in GM sugar beet. *Weed research*. DOI: 10.1111/j.1365-3180.2009.00729.x

Viard F., Arnaud, J.F., Delescluse M. and Cuguen J., 2004. Tracking back seed and pollen flow within the crop-wild *Beta vulgaris* complex: genetic distinctiveness vs hot spots of hybridization over a regional scale. *Molecular Ecology* vol 13, pp 1357-1364.

Warburton, D. B. and Klimstra, W. D., 1984. Wildlife use of no-till and conventionally tilled corn fields, *J. Soil and Water Cons*, 39, 327-330.

Wevers, J. D. A., 1998. Agronomic and environmental aspects of herbicide resistant sugar beet in the Netherlands, *Aspects of Applied Biology*, 52, 1-6.

Williams, G. M., Kroes, R. and Munro, I. C., 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup® and its active ingredient, Glyphosate, for humans., *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32, 117-165.