AVIS en réponse à la saisine 100510-saisine HCB-dossiers imports concernant notamment le dossier EFSA-GMO-RX-40-3-2

Jean-Christophe Pagès, Jean-Jacques Leguay, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Florence Coignard, François Coléno, Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, Maryse Deguergue, et al.

▶ **To cite this version:**

Jean-Christophe Pagès, Jean-Jacques Leguay, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, et al.. AVIS en réponse à la saisine 100510-saisine HCB- dossiers imports concernant notamment le dossier EFSA-GMO-RX-40-3-2. [0] Haut Conseil des Biotechnologies. 2010. hal-02916002

HAL Id: hal-02916002
https://hal.inrae.fr/hal-02916002

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.

Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 23 décembre 2010

AVIS

en réponse à la saisine[1] **100510-saisine HCB- dossiers imports**
concernant notamment le dossier **EFSA-GMO-RX-40-3-2**.

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 7 juillet 2010 par les autorités compétentes françaises (le Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-RX-40-3-2 portant sur le renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié 40-3-2 pour l'importation, la transformation, et l'alimentation humaine et animale.

Ce dossier a été déposé par la société Monsanto dans le cadre du règlement (CE) 1829/2003 auprès de l'Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire, sous la référence **EFSA-GMO-RX-40-3-2**. La saisine du HCB correspondante est référencée **100510-saisine HCB- dossiers imports**.

Le Comité scientifique (CS)[2] du HCB a procédé à l'examen du dossier le 22 septembre 2010 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès.

[1] La saisine « **100510-saisine HCB- dossiers imports** » est reproduite dans l'Annexe 1.
[2] La composition du CS ainsi que le rapporteur externe ayant contribué à l'élaboration de l'avis sont indiqués dans l'Annexe 2.

RESUME DE L'AVIS[3]

La saisine reçue par le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) porte sur l'évaluation du dossier EFSA-GMO-RX-40-3-2. Ce dossier, déposé par la société Monsanto, correspond à une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié 40-3-2 pour l'importation, la transformation, et l'alimentation humaine et animale.

Description du produit

Le soja génétiquement modifié 40-3-2[4] exprime l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase de la souche CP4 d'*Agrobacterium* (CP4 EPSPS), qui lui confère la tolérance au glyphosate, ingrédient actif d'herbicides non-sélectifs. La cassette d'expression transgénique permettant l'expression du gène *cp4 epsps* est présente en un locus d'insertion et en une copie unique. L'insertion n'interrompt pas de séquences codantes ou régulatrices connues ou reconnaissables. Le caractère est stable au cours des générations d'auto-fécondations et de croisements. Aucun autre transgène que *cp4 epsps* n'est présent dans le soja 40-3-2.

Impact sur la santé humaine et animale

L'innocuité de la protéine CP4 EPSPS a été établie compte tenu de l'historique de son usage, et notamment de (1) l'innocuité pour les mammifères de la bactérie donneuse du gène (souche CP4 d'*Agrobacterium*), (2) la similarité de la protéine CP4 EPSPS exprimée par le soja 40-3-2 avec les protéines EPSPS ubiquistes présentes dans les algues, les plantes à usage alimentaire et les micro-organismes tels que les levures et les bactéries, dont la consommation n'a jamais révélé de conséquences délétères pour la santé, (3) l'absence d'homologie de séquence des protéines CP4 EPSPS avec des toxines connues ou des protéines possédant une activité pharmacologique, répertoriées dans les bases de données, (4) l'absence de détection d'effets négatifs dans les tests de toxicité orale aiguë, (5) le poids de l'évidence en faveur d'une absence d'allergénicité.

Les études de tolérance du soja 40-3-2, menées sur 4 et 13 semaines chez le rat n'ont pas mis en évidence d'effets cliniques, d'altérations de la consommation alimentaire, de la croissance pondérale, ni d'anomalies histologiques des principaux organes. L'étude de tolérance menée sur des souches de rats et de souris communément utilisés comme modèles d'étude de l'allergénicité et de l'immunotoxicité n'a pas mis en évidence d'effets cliniques associés à une réaction allergénique ou immunotoxique à ce soja.

Les études d'alimentarité menées sur le poulet, la vache laitière, le porc et le poisson chat, consommant des régimes renfermant du soja 40-3-2 ou du soja témoin quasi-isogénique, n'ont pas mis en évidence d'effets sur la consommation alimentaire, ni d'altérations de croissance pondérale, de qualité de production ou de composition de chair.

Risques de dissémination et impact sur l'environnement

Le potentiel de dissémination du transgène au travers de croisements de soja 40-3-2 avec des soja conventionnels est très peu probable, pour les raisons suivantes :

- les conditions thermiques de germination des graines de soja sont élevées (optimum à 30°C)
- le soja fait partie des espèces d'origine tropicale sensibles au froid
- le développement des plantules nécessite une nutrition azotée adéquate, difficilement réalisable en l'absence d'inoculum de *Bradyrhizobium japonicum* (bactérie fixatrice d'azote de l'atmosphère)

[3] Ce résumé ne se substitue pas à l'analyse du dossier développée dans cet avis.
[4] Le terme de soja 40-3-2 désigne la lignée de soja 40-3-2 d'origine ainsi que toute lignée contenant l'événement 40-3-2 obtenue par autofécondation ou croisement avec la lignée 40-3-2 d'origine.

- la dissémination du transgène par pollinisation nécessiterait ensuite une dispersion du pollen vers des cibles fertiles, ce qui est peu probable considérant (1) le taux d'autogamie très élevé du soja, et (2) le fait qu'à part les cultures de soja elles-mêmes, aucune autre espèce sexuellement compatible avec le soja n'existe en Europe.

Mesures propres à assurer la coexistence des filières

Des mesures propres à permettre la coexistence des filières de soja non transgéniques avec le soja génétiquement modifié 40-3-2, s'il est ré-autorisé à l'importation, devraient être appliquées au titre de la coexistence des filières selon la loi n° 2008-595 du 25 juin 2008.

Conformément au règlement (CE) 1829/2003, des méthodes de détection et de quantification du soja 40-3-2 ont été fournies par le pétitionnaire et validées par le CRL-GMFF (EURL-GMFF)[5]. Du matériel de référence certifié est disponible auprès de l'IRMM[6] et des revendeurs. L'identifiant unique communautaire MON-Ø4Ø32-6 a été attribué au soja 40-3-2.

L'importation de graines de soja 40-3-2 ne devrait pas poser de problème de coexistence au niveau des cultures de soja non transgéniques, sauf dans l'éventualité où un échappement fortuit de graines aux alentours des voies d'importation produirait des repousses de soja 40-3-2 à proximité de cultures de soja non transgéniques, ce qui pourrait résulter en une contamination de semences par pollinisation ou en un mélange de graines à la récolte. Ces événements seraient rares compte tenu de la nécessité d'une étroite proximité entre les rares zones de culture de soja et les voies d'importation, de la faible probabilité de telles repousses, considérant la rareté des conditions requises (voir paragraphe sur les risques de dissémination), combinée à la faible probabilité de synchronisation avec les cultures de soja pour conduire à un mélange de graines, elle-même combinée à la probabilité encore plus faible d'une contamination par pollinisation compte tenu de la forte autogamie des soja.

Les conditions de coexistence dans certains DOM-TOM seraient à envisager différemment du fait d'un climat plus favorable aux repousses de soja.

Plans de surveillance post-commercialisation

PSPC[7] spécifique

Le pétitionnaire, qui n'a pas identifié de problème particulier lié à l'import de ce soja, ne prévoit pas de PSPC spécifique.

Plan de surveillance générale

La surveillance générale proposée par le pétitionnaire reprend les formulations classiques de surveillance par (i) les opérateurs en charge des importations et de la trituration des fèves, avec éventuellement des cahiers des charges et de bonnes pratiques particulières, (ii) les réseaux existants (on peut noter à ce propos un manque total de précisions sur ces réseaux dans le dossier), et (iii) la veille bibliographique.

Le CS du HCB demande que :

- le pétitionnaire centralise les données recueillies dans une base centrale de données avec SIG[8], si possible connectée avec des bases de données du Centre Commun de Recherche de la Commission européenne,
- le pétitionnaire se rapproche des autorités compétentes afin d'établir un plan de surveillance générale des santés humaine et animale,

[5] Community Reference Laboratory for GM Food and Feed of the Joint Research Centre, Laboratoire de référence communautaire du Centre de recherche commun de la Commission Européenne, instauré par le règlement (CE) 1829/2003, appelé maintenant l'EURL-GMFF (European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed : http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-gmff.

[6] Institute for Reference Materials and Measurements : l'un des sept instituts du laboratoire de référence communautaire, http://irmm.jrc.ec.europa.eu/html/homepage.htm.

[7] Plan de surveillance post-commercialisation

[8] Système d'information géographique capable d'organiser et de présenter des données spatialement référencées.

- le pétitionnaire et les autorités compétentes examinent les risques environnementaux potentiels dès que le taux de réponses aux questionnaires mentionnant des effets indésirables liés à l'importation de soja 40-3-2 est significatif, même si le seuil classique de 5 % n'est pas atteint.
- le pétitionnaire étende le plan de surveillance générale au-delà de la durée d'autorisation.

En conclusion

Au terme de l'analyse de l'ensemble des données fournies par le pétitionnaire et de données supplémentaires disponibles dans la littérature scientifique, le CS du HCB note que :

- aucun effet particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été observé par le pétitionnaire dans les analyses expérimentales et bioinformatiques de la protéine CP4 EPSPS et du soja 40-3-2. Toutefois, il est à noter que l'un des tests fournis par le pétitionnaire manque de précision quant aux méthodes statistiques utilisées pour traiter les données. Ces informations seront exigées à l'avenir, conformément aux nouvelles lignes directrices sur l'analyse statistique de l'AESA (EFSA, 2010).
- Les études d'alimentarité n'ont pas détecté de différences entre le soja 40-3-2 et son équivalent quasi isogénique non transgénique.
- Aucun impact négatif sur l'environnement n'a été identifié.
- En termes de coexistence avec des cultures de soja non transgénique, le risque de mélange direct de graines est faible et la dissémination de gènes par pollinisation est peu probable. Des méthodes permettant de surveiller la coexistence du soja 40-3-2 avec les filières de soja non transgéniques ont été fournies.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION 6

2. CARACTERISTIQUES DES PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES 6

2.1 DESCRIPTION DU PRODUIT 6

2.2 CARACTERISTIQUES DE LA CONSTRUCTION GENETIQUE 6

2.3 METHODE DE TRANSFORMATION 7

2.4 CARACTERISTIQUES DU SOJA 40-3-2 8

3. EVALUATION DES RISQUES POUR LA SANTE HUMAINE ET ANIMALE 9

3.1 EVALUATION DE LA TOXICITE ET DE L'ALLERGENICITE DE LA PROTEINE CP4 EPSPS 9

3.2 EVALUATION DE LA TOXICITE ORALE SUBAIGUË ET DE L'ALLERGENICITE DU SOJA 40-3-2 11

3.3 ETUDE D'ALIMENTARITE DU SOJA 40-3-2 11

4. EVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT 12

5. COEXISTENCE DES FILIERES 14

6. PLAN DE SURVEILLANCE POST-COMMERCIALISATION 14

7. CONCLUSIONS 16

8. BIBLIOGRAPHIE 16

ANNEXE 1 : SAISINE 18

ANNEXE 2 : ELABORATION DE L'AVIS 20

ANNEXE 3 : RECOMMANDATIONS GENERALES DE BIO-SURVEILLANCE 21

1. Introduction

Le dossier EFSA-GMO-RX-40-3-2, soumis par la société Monsanto dans le cadre du réglement (CE) 1829/2003[9] auprès de l'AESA[10], est une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié 40-3-2 pour l'importation, la transformation, et l'alimentation humaine et animale.

Le Haut Conseil des biotechnologies est saisi par les autorités compétentes françaises (le Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche) pour éclairer la position de la France sur la mise sur le marché de ce soja lors du vote en comité réglementaire (CPCASA) et, en cas d'absence de majorité qualifiée, en Conseil des ministres (Conseil de l'Union européenne).

2. Caractéristiques des plantes génétiquement modifiées

2.1 Description du produit

Le soja génétiquement modifié 40-3-2[11] exprime l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) de la souche CP4 d'*Agrobacterium tumefaciens* (CP4 EPSPS), qui lui confère la tolérance au glyphosate, ingrédient actif d'herbicides non-sélectifs.

La toxicité non-sélective du glyphosate pour les plantes s'explique par le fait qu'il inhibe la fonction de l'enzyme EPSPS de la majorité des plantes. EPSPS est une enzyme essentielle à la production des acides aminés et autres composés aromatiques chez les plantes, les bactéries et les champignons. Elle n'est pas présente chez les animaux, qui ne synthétisent pas leurs propres composés aromatiques. Plusieurs stratégies ont été déployées pour développer des plantes résistantes au glyphosate. La stratégie la plus utilisée actuellement est l'utilisation du gène *cp4 epsps* de la souche CP4 d'Agrobactérie. Ce gène possède une mutation qui rend l'enzyme produite, CP4 EPSPS, insensible à l'inhibition par le glyphosate. Il s'agit donc de rajouter une copie de ce gène dans les plantes pour maintenir l'activité de la voie métabolique des composés aromatiques tandis que l'enzyme végétale EPSPS endogène est inhibée par le glyphosate (Duke and Powles, 2008; Funke et al., 2006).

2.2 Caractéristiques de la construction génétique

La construction transgénique à l'origine de l'événement 40-3-2 provient du plasmide PV-GMGT04, un dérivé du plasmide pUC119. Ce plasmide de 10505 pb[12] porte trois cassettes d'expression, initialement destinées au transfert dans la plante, ainsi qu'une origine de réplication procaryote et un gène procaryote *npt*II de résistance à la kanamycine lui permettant d'être sélectionné dans *Escherichia coli*.

Deux des cassettes destinées au transfert dans la plante visent à conférer à la plante receveuse une tolérance au glyphosate par une expression maximale de l'enzyme CP4 EPSPS. Cette expression maximale est recherchée par l'utilisation de deux promoteurs différents, tous les deux induisant une expression constitutive, pour chacune des constructions :

---

[9] Le règlement (CE) 1829/2003 est un règlement du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments, consistant en, ou contenant des, ou issus d'organismes génétiquement modifiés, pour l'alimentation humaine et animale.
http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:FR:HTML

[10] Autorité européenne de sécurité des aliments, ou EFSA : European Food Safety Authority.

[11] Le terme de soja 40-3-2 désigne la lignée de soja 40-3-2 d'origine ainsi que toute lignée contenant l'événement 40-3-2 obtenue par croisement avec la lignée 40-3-2 d'origine.

[12] Paires de bases

- soit P-E*35S* : promoteur du gène *35S* du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV), avec sa région *enhancer*[13] dupliquée afin d'induire une forte expression dans les cellules de plantes
- soit P-FMV : promoteur du gène *35S* du virus de la mosaïque de la scrofulaire (figwort mosaic virus, virus génétiquement proche du CaMV).

Le reste de la construction de ces deux cassettes est identique, avec pour composition :

- CTP4 : séquence amino-terminale d'un peptide d'adressage au chloroplaste provenant de la séquence CTP du gène *epsps* de *Petunia hybrida*. Cet élément permet de diriger la protéine CP4 EPSPS dans le chloroplaste où se déroule la synthèse d'acides aminés aromatiques.
- *cp4 epsps* : la séquence codant la 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase de la souche CP4 d'*Agrobacterium*, conférant la résistance à l'herbicide glyphosate
- NOS 3' : région de polyadénylation du gène de la nopaline synthase d'*A. tumefaciens*.

La troisième cassette vise à la sélection des transformants par l'expression de la β-glucuronidase (GUS), un marqueur histologique produit par le gène *uidA* d'*E. coli.* Elle est constituée de :

- P-MAS : promoteur du gène *TR2' de* la mannopine synthase d'*A. tumefaciens*
- *uidA* : séquence codante du gène exprimant la β-glucuronidase d'*E. coli*
- 7S 3' : région de polyadénylation du gène de la sous-unité alpha du complexe de type 7S (protéine de réserve des graines) du soja.

2.3 Méthode de transformation

Des cellules du cultivar de soja A5403 ont été bombardées de particules d'or sur lesquelles étaient adsorbées des molécules de plasmide PV-GMGT04. Dans cette méthode de transformation, les particules d'or pénètrent dans les cellules, et l'ADN plasmidique qu'elles portent se fragmente une fois relargué dans le cytoplasme et peut s'intégrer à différents endroits du génome végétal (Christou et al., 1988; McCabe et al., 1988). Les cellules issues du bombardement ont été déposées sur un milieu de culture contenant des hormones végétales (auxines et cytokinines) afin d'obtenir des cals clonaux puis des bourgeons. Les bourgeons transformés ont été sélectionnés par un test histochimique colorimétrique caractéristique de l'expression de la β-glucuronidase. Les régénérants transformés (R0) ont été transférés en serre et leurs graines ont été récoltées. Les familles de plantes R1 ainsi obtenues ont été testées et sélectionnées pour leur résistance au glyphosate. La descendance R2 a été récoltée à partir des plantes R1 exprimant les plus fortes résistances au glyphosate.

L'analyse de descendance des plantes R2 sélectionnées indique que leur ancêtre R0 contenait deux insertions génétiquement indépendantes, l'une lui conférant la positivité au test histochimique de coloration, l'autre la tolérance au glyphosate. Les données de ségrégation indiquent que la plante 40-3-2 sélectionnée ne possède plus qu'une insertion conférant la résistance au glyphosate, à l'état homozygote, l'autre insertion ayant été perdue par ségrégation.

Ce sont les descendants de cette plante 40-3-2, en autofécondation ou par croisement avec d'autres variétés de soja, qui constituent le soja génétiquement modifié 40-3-2.

[13] Enhancer: séquence d'activation de la transcription d'un gène.

2.4 Caractéristiques du soja 40-3-2

- Nombre de sites d'insertion et nombre de copies par insertion

Des analyses moléculaires par Southern Blot, PCR et séquençage, ont permis de déterminer que le génome nucléaire du soja 40-3-2 porte deux sites d'insertion de fragments du plasmide PV-GMGT04 ; ces deux insertions sont génétiquement liées (elles co-ségrégent), et contiennent chacune un fragment unique du plasmide. Le premier correspond à la cassette quasi complète du gène *cp4 epsps* sous le contrôle du promoteur P-E*35S* ; le second à un fragment du gène *cp4 epsps* (voir structure ci-dessous). Ni les cassettes exprimant le gène *uidA* ou le gène *cp4 epsps* sous le contrôle du promoteur P-FMV, ni les régions correspondant au reste du plasmide PV-GMGT04, dont le gène *npt*II, n'ont été détectées dans le soja 40-3-2.

- Structure des inserts

La structure des inserts est représentée schématiquement dans la Figure 1.

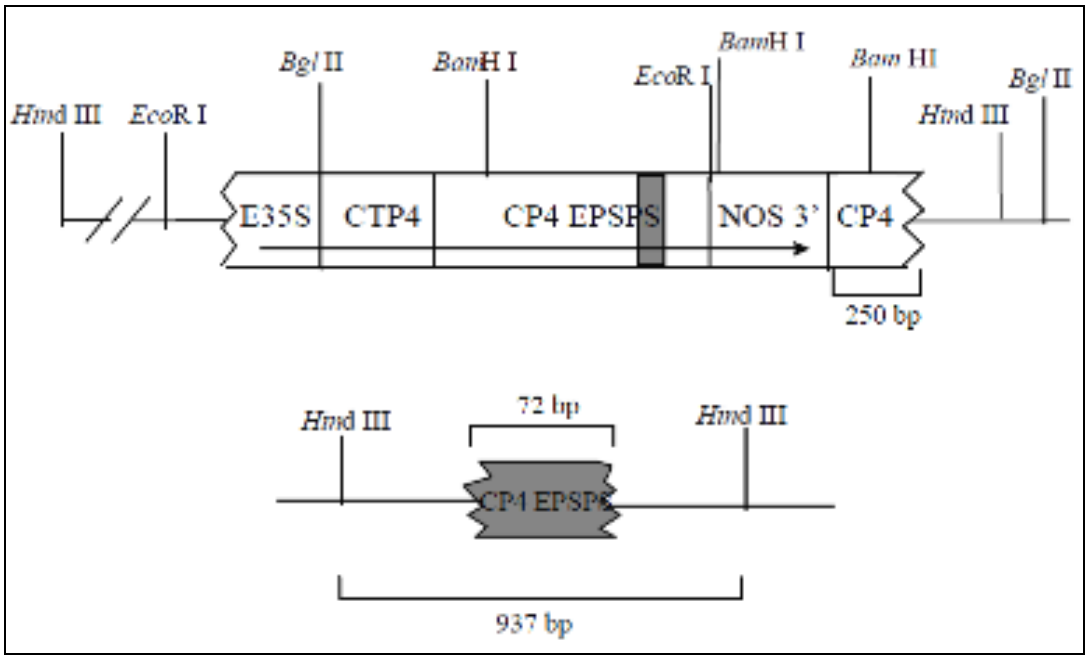

Figure 1. Représentation schématique des inserts présents dans le soja 40-3-2.

Le premier insert est un fragment de 3,2 kb. Il correspond à la cassette d'expression du gène *cp4 epsps* sous le contrôle du promoteur P-E*35S*. Ce promoteur est tronqué de 354 pb en 5', ce qui résulte en la perte d'un enhancer, mais sans altération du site d'initiation de transcription. L'insert possède aussi un fragment supplémentaire de 250 pb de séquence codante du gène *cp4 epsps*, en position 3' adjacente au terminateur NOS.

Cet insert est fonctionnel : il exprime CP4 EPSPS malgré son promoteur tronqué. Le fragment de 250 pb du gène *cp4 epsps* n'est pas exprimé car il n'est pas sous le contrôle d'un promoteur. Le fragment ne produit pas de protéine de fusion.

Le deuxième insert, de 72 pb, correspond à un fragment de la séquence codante du gène *cp4 epsps* (région grisée sur le premier insert de la figure 1). Ce fragment ne produit pas de protéine de fusion non plus.

- Séquençage des régions flanquantes

Les régions flanquantes des deux insertions ont été séquencées : 186 pb en amont et 534 pb en aval du premier insert, 532 pb en amont et 599 pb en aval du second insert. Ces régions sont constituées d'ADN génomique de soja réarrangé. Il n'est pas identifié de séquences codantes ou de régions régulatrices connues ou reconnaissables.

- Stabilité et héritabilité des transgènes et de leur phénotype dans le soja 40-3-2

Des études sur plusieurs dizaines de générations d'autofécondation de soja 40-3-2 ou de croisements à des variétés cultivées pour l'introgression[14] du caractère de résistance au glyphosate, réalisées dans différentes conditions environnementales, montrent que l'événement de transformation 40-3-2 est stable et ségrége comme un marqueur dominant en un locus unique. Ceci a été confirmé par Southern blot sur quatre générations successives.

- Analyses bioinformatiques des ORF[15] potentiels présents dans les insertions

L'analyse bioinformatique des 6 cadres de lecture des séquences des insertions et de leurs régions flanquantes ne permet pas de mettre en évidence de régions promotrices ou terminatrices ni d'ORF, de peptides allergènes, de toxines ou de protéines de fusion pouvant résulter de l'expression de ces séquences.

- Expression des transgènes dans le soja 40-3-2

Le promoteur *35S* du CaMV ayant la propriété d'induire une expression constitutive, la protéine CP4 EPSPS est *a priori* présente dans tous les tissus de la plante. On la retrouve notamment à un niveau de 0,3 à 0,8 et de 0,2 à 0,4 µg/mg de tissus frais dans les feuilles et les graines du soja 40-3-2, respectivement.

Des expériences de northern blot montrent que des ARN secondaires et minoritaires (dont un de 7,4 kb), contenant la séquence codante de la protéine CP4 EPSPS et les régions 3' de l'insert, sont aussi transcrites dans ce soja, mais à une abondance 75 fois plus faible que l'ARN messager de 1,5 kb correspondant à la protéine CP4 EPSPS. Il est vraisemblable que ces ARN soient le produit d'un fonctionnement partiel du terminateur NOS.

3. Evaluation des risques pour la santé humaine et animale

3.1 Evaluation de la toxicité et de l'allergénicité de la protéine CP4 EPSPS

L'innocuité de la protéine CP4 EPSPS a été établie compte tenu de l'historique de son usage, et notamment de :

- l'innocuité pour les mammifères de la bactérie donneuse du gène (souche CP4 d'*Agrobacterium*)
- la similarité de la protéine CP4 EPSPS exprimée par le soja 40-3-2 avec les protéines EPSPS ubiquistes présentes dans les algues, les plantes à usage alimentaire et les micro-organismes tels que les levures et les bactéries, dont la consommation n'a pas révélé de conséquences délétères pour la santé

[14] Introgression: introduction d'un caractère dans une variété par croisement.
[15] ORF (*Open Reading Frame*) : cadre ouvert de lecture, détecté par des programmes informatiques, correspondant à une séquence d'ADN qui peut coder, si elle est préalablement transcrite, une protéine ou un peptide (petite protéine). A la suite de la détection informatique d'un ORF, des analyses supplémentaires sont normalement réalisées pour tester s'il est effectivement transcrit en ARN et traduit en protéine ou en peptide.

- l'absence d'homologie structurale (analyse bioinformatique des séquences d'acides aminés) des protéines CP4 EPSPS avec des toxines connues ou des protéines possédant une activité pharmacologique, répertoriées dans les bases de données (Allpeptides, Toxin5)
- l'absence d'effets négatifs détectés dans le test de toxicité orale aiguë
- le poids de l'évidence en faveur d'une absence d'allergénicité.

La toxicité orale aiguë de CP4 EPSPS a été évaluée chez la souris en utilisant une protéine CP4 EPSPS microbienne exprimée par une souche d'*E. Coli*, dont l'équivalence avec la protéine CP4 EPSPS exprimée par le soja 40-3-2 a été démontrée sur la base des propriétés physicochimiques et fonctionnelles suivantes :

- Identité du poids moléculaire, les valeurs estimées en SDS-PAGE et d'après la séquence codante apparaissant concordantes (respectivement ≈ 44 kDa et 47,6 kDa)
- Immuno-réactivité équivalente (immublots / SDS PAGE)
- Homologie de séquence (spectrométrie de masse / Maldi-Tof)
- Identité de la séquence amino-terminale de la protéine CP4 EPSPS du soja 40-3-2 avec celle de la séquence codante du gène *cp4 epsps*
- Absence de glycosylation
- Activité phosphatasique équivalente (respectivement 5,7 U/mg et 4,8 U/mg pour les protéines CP4 EPSPS du soja 40-3-2 et d'*E. Coli*).

Dans cette étude BPL, des lots de 10 souris CD-1, mâles et femelles, ont été gavés de 49, 154 ou 572 mg/kg pc[16], de protéine CP4 EPSPS[17][18], ou de 363 mg de BSA /kg pc ou de tampon. Aucun cas de mortalité, ni d'effet sur la consommation de nourriture, le poids corporel, ni de lésions macroscopiques en lien avec le traitement n'ont été observés (Harrison et al., 1996; Naylor, 1993).

En conclusion, aucun effet néfaste de la protéine CP4 EPSPS n'a été observé à la plus forte dose testée (NOAEL[19] = 572 mg/kg pc) après administration orale unique chez la souris CD-1.

L'évaluation du potentiel allergisant a été menée selon une approche fondée sur le poids de l'évidence prenant en compte les résultats des différents éléments suivants :

- Aucun cas d'allergie connu à ce jour attribuable à l'organisme source (*Agrobacterium* st CP4) et aux protéines qu'il produit
- Faible teneur en protéine CP4 EPSPS dans le soja 40-3-2
- Absence d'homologie de séquence en acides aminés de la protéine CP4 EPSPS avec les allergènes, les toxines et les protéines pharmacologiquement actives répertoriées dans les bases de données, et absence de séquence commune d'au moins 8 acides aminés contigus de la protéine CP4 EPSPS avec les allergènes connus (McCoy and Silvanovich, 2003)
- Dégradation rapide de la protéine CP4 EPSPS en milieu simulant l'estomac confirmée par la disparition de l'activité enzymatique (Leach, 2002).

[16] kg pc: kilogramme de poids corporel
[17] CP4 EPSPS exprimée par lignée *E. coli* GBlOO, portant le plasmide pMON21104
[18] doses sélectionnées selon deux critères : (1) scénario du pire cas supposant que 100% de tous les denrées alimentaires (soja, pomme de terre, tomate de produits céréaliers) contiennent la protéine CP4 EPSPS (0,1 % de la teneur totale en protéines ; (2) un facteur sécurité de 1000
[19] NOAEL : *No observed adverse effect level*, la dose la plus élevée d'une substance pour laquelle aucun effet toxique n'est observé

3.2 Evaluation de la toxicité orale subaiguë et de l'allergénicité du soja 40-3-2

Quatre études de tolérance du soja 40-3-2 ont été menées, deux études de 4 semaines et une étude de 13 semaines chez le rat, et une étude de 15 semaines chez le rat et la souris.

Les études de tolérance menées sur 4 semaines chez des rats SD[20] (10 par sexe) consommant des régimes renfermant 5 ou 10 % de farine dans la première étude, ou 24,8 % de tourteaux de soja 40-3-2 dans la deuxième étude, n'ont pas mis en évidence d'effets cliniques, ni d'altérations de la consommation alimentaire, de la croissance pondérale ou du poids des organes (Hammond et al., 1996; Naylor, 1993).

L'étude de tolérance menée sur 13 semaines chez des rats SD (5 par sexe) consommant des régimes renfermant 30, 60 ou 90 % de soja 40-3-2 n'a pas mis en évidence d'effets cliniques, d'altérations de la consommation alimentaire, de la croissance pondérale du poids des organes, ni d'anomalies histologiques des principaux organes (Zhu et al., 2004).

L'étude de tolérance menée sur 15 semaines chez des lots de rats BN[21] et de souris BA10[22] (10 par sexe) consommant des régimes renfermant 30 % de soja 40-3-2 cuit[23] n'a pas mis en évidence d'effets cliniques, d'altérations de la consommation alimentaire, de la croissance pondérale, du poids du foie et de la rate, ni d'anomalies histologiques des principaux organes lymphoïdes, indiquant l'absence de potentiel allergène de ce soja (Teshima et al., 2000). Il est toutefois à noter que les méthodes statistiques utilisées dans cette étude ne sont pas décrites dans le dossier du pétitionnaire.

3.3 Etude d'alimentarité du soja 40-3-2

Quatre études d'alimentarité sur le soja 40-3-2 et un soja quasi-isogénique non transgénique ont été menées : une étude de 6 semaines chez le poulet, une étude de 4 semaines chez la vache laitière, une étude de 4 semaines chez le porc, et une étude de 10 semaines chez le poisson chat.

L'étude d'alimentarité menée sur 6 semaines sur 360 poulets (12 réplicats/sexe) consommant des régimes renfermant 27 – 32 % de soja 40-3-2 ou de soja témoin isogénique A5403 n'a pas mis en évidence d'effet sur la croissance pondérale des animaux, ni sur l'efficacité alimentaire (Hammond et al., 1996).

L'étude d'alimentarité menée sur 4 semaines sur 36 vaches laitières (2 réplicats) consommant des régimes renfermant 10 % de soja 40-3-2 ou de soja témoin A5403 n'a pas mis en évidence d'effet sur la consommation alimentaire, la digestibilité de la matière sèche et la balance azotée et la production de lait et sa composition (Hammond et al., 1996).

L'étude d'alimentarité menée sur 100 porcs (10 réplicats) consommant des régimes renfermant du soja Roundup Ready[24] ou du soja témoin quasi isogénique n'a pas mis en évidence d'effet sur la consommation alimentaire, le gain pondéral des animaux, les paramètres de carcasse et la composition de la viande et sa valeur gustative (Cromwell et al., 2002).

L'étude d'alimentarité menée sur 15 semaines sur le poisson chat (5 réplicats) consommant de la nourriture renfermant 45 – 47 % de tourteau de soja 40-3-2 ou de soja témoin A5403 n'a pas mis en évidence d'effet sur la croissance pondérale, ni sur l'efficacité alimentaire et la teneur en protéines et en graisses des filets (Hammond et al., 1996).

---

[20] lignée Sprague Dawley

[21] La lignée de rats BN (Brown Norway), particulièrement sensible aux réactions allergiques, est communément utilisée dans les études d'allergénicité.

[22] La lignée de souris BA10, sensible à l'ovalbumine et à divers antigènes, est communément utilisée dans les études d'immunotoxicité.

[23] Chauffage à 100 deg C pendant 30 minutes pour éliminer les facteurs antitrypsiques

[24] Cultivar H4994RR exprimant la protéine CP4 EPSPS et traité avec du glyphosate

4. Evaluation des risques pour l'environnement

Les risques pour l'environnement potentiellement associés à la mise sur le marché du soja 40-3-2 concerneraient un risque de dissémination des transgènes et ses conséquences.

L'importation en France peut se faire sous forme de graines (1Mt/an), et majoritairement de tourteaux (4Mt/an), qui arrivent par bateaux à destination d'acteurs de la trituration ou de l'alimentation animale. Les possibilités de dissémination peuvent résulter de fuites de matière durant des opérations de transport, de stockage ou de manutention. Ces possibilités sont limitées par la demande qui ne porte que sur l'import pour la trituration ou l'alimentation animale, ce qui réduit très fortement les risques de dissémination en milieu naturel.

Le risque de dissémination peut provenir des graines dont il faut examiner les capacités de survie, de germination, de résistance au froid, puis de capacité à croître, à fleurir et à disséminer du pollen vers des cibles fertiles.

Qualité germinative des graines :

La qualité germinative des graines est de longue date un point faible des légumineuses à graines d'une façon générale et du soja en particulier. En France, dans les années 80, les germinations de semences, pourtant certifiées, s'averraient souvent défectueuses au niveau du champ. La qualité germinative dépend des conditions de culture initiale, d'éventuelles piqûres d'insectes, comme les punaises, qui peuvent transmettre le virus de la mosaïque du soja qui affecte la germination, puis des conditions de conservation (humidité, variation de température). Lorsqu'il s'agit de graines issues de transport en bateau, de durée assez longue, les graines subissent des variations de température et d'hygrométrie défavorables. Ainsi, les conditions de maintien de la faculté germinative sont rarement remplies.

Pour germer, les graines de soja ont des exigences thermiques importantes. L'optimum de germination se situe aux alentours de 30°C (Planchon, 1986). Il n'y a pas de germination pour des températures inférieures à 10°C qui constitue une température minimale (Matthews and Hayes, 1982; Unander et al., 1983).

On notera l'absence de phénomène de dormance pour les graines de soja, qui germent dès que les conditions d'humidité et de température sont satisfaites.

Sensibilité au froid :

Le soja fait partie des espèces d'origine tropicale sensibles au froid. Le zéro de végétation, considéré le plus fréquemment par les agronomes pour décrire la croissance et le développement du soja sur une échelle thermique, est 6°C. Pour le modèle de croissance et de développement SOYGRO, des seuils thermiques de 5 à 7°C sont pris comme seuils minimaux (Brisson, 1989). Ces données générales cachent une variabilité génétique qui peut permettre de rechercher et sélectionner des génotypes plus résistants pour les groupes de précocité septentrionaux (0, 00 et 000). Cependant les possibilités restent limitées (Planchon, 1986). Les optima de croissance se situent bien au-dessus de ces températures. Le pétitionnaire cite à juste titre un intervalle de 25 à 35°C. Certains travaux montrent des dommages importants au niveau des protéines du système photosynthétique dès l'application de stress courts à moins de 7°C (Tambussi et al., 2004).

Des agronomes américains considèrent que le soja est plus sensible que le maïs aux coups de froid pouvant survenir en mai. Dès qu'il y a décoloration de l'hypocotyle après l'émergence, il y a ensuite mort de la plante (Source Purdue University Cooperative Extension Service USA). Le pétitionnaire cite la référence http://www.ag.ndsu.edu/disaster/winterstorm/frostsoybeans.html, très explicite sur ce point. Les conditions météorologiques du mois de mai 2010 aux Etats Unis ont bien illustré la grande sensibilité au froid du soja aux stades végétatifs. Dès des températures inférieures à 15°C, de nombreuses fonctions physiologiques sont affectées et se traduisent par des ralentissements importants de croissance et des accidents de nouaison (CETIOM 1986).

Nutrition azotée :

Les graines tombées au sol pourraient germer si les conditions de température et de sols sont optimales, mais en absence d'inoculum de la bactérie *Bradyrhizobium japonicum* (assurant la fixation de l'azote atmosphérique), les germinations seront souffreteuses. Ces germinations ne pourront pas s'installer car le soja demande des conditions de température optimales pour pousser (25-35°C) et ne supporte pas les froids hivernaux. De plus, ces repousses seront faciles à éliminer par divers moyens mécaniques.

Dissémination du pollen, et occurrence de pollinisation croisée :

La fleur de soja se caractérise par une fertilité du stigmate qui intervient avant l'ouverture de la fleur. Cette fertilité est assez courte, de 24h avant l'anthèse à 48h après. Le pollen est lui aussi viable sur des durées courtes de 2 à 4h. Ainsi, ces propriétés, et la cléistogamie de la fleur, qui ne s'ouvre qu'au moment de la fécondation, assurent un taux d'autogamie très élevé, proche des 100 %. Ces propriétés constituent d'ailleurs des difficultés importantes pour les sélectionneurs qui cherchent à croiser des ressources génétiques. Un technicien très expérimenté en conditions optimales en serre ne réussit que 5 à 20 % des croisements qu'il tente.

Le dossier du pétitionnaire reprend bien les données disponibles dans la littérature sur les niveaux de pollinisation croisée. L'ensemble des travaux mentionnés est extrêmement cohérent. Les taux d'allogamie sont extrêmement faibles. Ils varient de 0 à 2,4 % pour des distances à la source de pollen de moins d'un mètre, légèrement plus en présence d'insectes pollinisateurs spécifiquement rajoutés. Au-delà, les valeurs sont encore plus faibles. Les pétitionnaires citent bien l'une des évaluations les plus récentes sur ce sujet, revisitée entre 2001 et 2003 par l'USDA en utilisant des génotypes à fleurs blanches en récepteurs, et des génotypes à fleurs violettes comme sources de pollen, cette teinte étant un caractère dominant visible facilement à la génération suivante (Ray et al., 2003). Une étude brésilienne récente publiée en 2007 (Abud et al., 2007) non citée dans le dossier, réalisée au champ, confirme parfaitement les données précédentes avec un taux moyen d'allogamie sur le rang voisin de 0,52 %, 0,12 % sur le rang suivant et rien à 10 mètre de la source.

La probabilité de croisement avec des espèces voisines des genres *Glycine* et *Soja* peut se réaliser en Asie ou ces genres sont naturellement présents. Ce risque est inexistant en Europe en l'absence des espèces concernées. On notera que l'espèce appelée en langage commun « Glycine » est en fait un genre éloigné taxonomiquement : *Wisteria.*

Le soja (*Glycine max*) est cultivé en France actuellement sur une surface limitée d'environ 50,000 ha, situés à 80% dans le sud ouest. Dans les DOM TOM, il y a actuellement des expérimentations pour tenter d'introduire la culture du soja non génétiquement modifié en Guyane pour la production d'aliment du bétail. C'est une opération qui est menée par le CETIOM, en partenariat avec la chambre d'agriculture locale, et en collaboration avec l'EMBRAPA brésilien (centre de recherche agronomique Brésilien), ce dernier fournissant notamment du matériel végétal. Après une phase de tests de 2002 à 2008, l'expérience en est maintenant au stade du transfert des techniques et du matériel végétal auprès des exploitants. En Guyane, la présence de plantes sauvages apparentées et voisines du soja (glycine max) n'est pas signalée.

Avantage compétitif conféré par le caractère introduit :

Le caractère introduit ne confère aucun avantage compétitif, en l'absence de traitement aux herbicides à base de glyphosate, à des graines potentiellement issues d'une importation destinée à la trituration. Sa survie et son éventuel développement sont par ailleurs soumis à un très grand nombre d'aléas d'autres natures. Par ailleurs de nombreux autres moyens de destruction existent.

5. Coexistence des filières

Traçabilité et étiquetage :

Conformément au règlement (CE) 1829/2003, des méthodes de détection et de quantification du soja 40-3-2 ont été fournies par le pétitionnaire et validées par le CRL-GMFF (EURL-GMFF)[25]. Du matériel de référence certifié est disponible auprès de l'IRMM[26] et des revendeurs. L'identifiant unique communautaire MON-Ø4Ø32-6 a été attribué au soja 40-3-2.

Coexistence :

La biologie du soja implique qu'il ne devrait pas y avoir de problèmes de coexistence entre le soja 40-3-2 et des cultures de soja non transgéniques, si celles-ci se développaient en France métropolitaine. Un problème serait envisageable seulement si les cultures de soja et les ports d'importation étaient proches et s'il y avait synchronie de floraison et de pollinisation par des insectes. Ceci devrait être extrêmement rare et des éventuelles repousses seraient faciles à localiser et à détruire selon divers procédés mécaniques.

Dans certains DOM-TOM au climat propice aux repousses de soja, il serait bon de veiller, si la culture du soja se développait, à mettre en place des mesures permettant la coexistence entre des plantes de soja génétiquement modifié qui pourraient s'installer suite à des importations, et ces cultures conventionnelles.

6. Plan de surveillance post-commercialisation

En matière de surveillance post-commercialisation, la directive 2001/18/CE[27], complétée par les règlements (CE) 1829/2003 et 1830/2003[28], prévoit que soient mis en place :

- un plan de surveillance spécifique, pour tester d'éventuelles hypothèses sur des effets négatifs de la plante génétiquement modifiée dans le cadre de son utilisation et de l'évaluation du risque environnemental. Le plan de surveillance spécifique est destiné à mettre en évidence les changements prévisibles.
- un plan de surveillance générale, pour observer d'éventuels effets non intentionnels ou non anticipés sur la santé humaine et animale ainsi que sur l'environnement. Le plan de surveillance générale vise à mettre en évidence les changements non prévus par les plans de surveillance spécifique.

Plans de surveillance spécifique

Le pétitionnaire n'a pas identifié de problème particulier et ne prévoit donc pas de plan de surveillance spécifique. L'allergie possible à certains constituants du soja étant propre au soja et non au soja génétiquement modifié, aucun plan de surveillance des santés humaine et animale n'est prévu par le pétitionnaire, en dehors des réseaux de surveillance de santé mis en place par les Etats membres.

---

[25] Community Reference Laboratory for GM Food and Feed of the Joint Research Centre, Laboratoire de référence communautaire du Centre de recherche commun de la Commission Européenne, instauré par le règlement (CE) 1829/2003, appelé maintenant l'EURL-GMFF (European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed : http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-gmff.

[26] Institute for Reference Materials and Measurements : l'un des sept instituts du laboratoire de référence communautaire, http://irmm.jrc.ec.europa.eu/html/homepage.htm.

[27] La directive 2001/18/CE est une directive du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 qui fixe les règles communautaires relatives à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement. Elle abroge la directive 90/220/CEE du Conseil. http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:FR:HTML

[28] Le règlement (CE) 1830/2003 est un règlement du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant la traçabilité et l'étiquetage des organismes génétiquement modifiés et la traçabilité des produits destinés à l'alimentation humaine ou animale produits à partir d'organismes génétiquement modifiés, et modifiant la directive 2001/18/CE. http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1830:FR:HTML

Aucune surveillance environnementale n'apparaît nécessaire, hormis en terme de coexistence.

Plan de surveillance générale

La surveillance générale proposée par le pétitionnaire reprend les formulations classiques de surveillance à l'aide de questionnaires par (i) les opérateurs, en charge des importations et trituration des fèves avec éventuellement des cahiers des charges et bonnes pratiques particulières, (ii) les réseaux existants (sans que ceux-ci ne soient décrits) et (iii) la veille bibliographique. Il est demandé au pétitionnaire de centraliser les données recueillies dans une base centrale de données avec SIG[29], si possible connectée avec des bases de données du Centre Commun de Recherche de la Commission européenne.

Aucun plan de surveillance des santés humaine et animale n'est décrit dans le dossier. Le CS du HCB demande que le pétitionnaire se rapproche des autorités compétentes afin d'établir un plan de surveillance générale des santés humaine et animale.

Le CS du HCB demande que le pétitionnaire et les autorités compétentes se préoccupent d'une évaluation des risques sur l'environnement même si le taux de réponses aux questionnaires mentionnant des effets négatifs est inférieur à 5 %.

Le CS du HCB demande au pétitionnaire que le plan de surveillance générale s'étende au-delà de la durée d'autorisation.

Il est rappelé au pétitionnaire que les rapports aux autorités compétentes doivent utiliser le formulaire de la décision 2009/770 de la CE (EC, 2009).

Conclusions

- Le CS du HCB recommande que les autorités compétentes se préoccupent d'une évaluation des risques environnementaux même si le taux de réponses au questionnaire mentionnant des effets adverses liés à l'importation du soja est inférieur à 5 %.
- Le CS du HCB demande que l'analyse des données recueillies et des traitements statistiques du plan de surveillance générale se réfère aux nouvelles règles d'analyse statistique proposées par l'AESA (EFSA, 2010), qui recommandent la mise en œuvre de procédures statistiques adaptées.
- Le CS du HCB rappelle au pétitionnaire qu'il est de son devoir, au cours de la période couverte par la demande de renouvellement, si elle est accordée, d'apporter son concours pour la biosurveillance liée à l'utilisation des biotechnologies qu'il commercialise, quand celui-ci sera sollicité par le Comité de surveillance biologique du territoire (CSBT) (Décret n° 2008-1282 du 8 décembre 2008 relatif à la création du comité de surveillance biologique du territoire mentionné à l'article L. 251-1 du code rural).
- Au vu du manque de précision quant aux acteurs des réseaux de surveillance présentés succinctement par le pétitionnaire, il appartient au CSBT de proposer un réseau de biosurveillance du territoire effectif et de définir son champ d'action. Des recommandations générales concernant la biosurveillance sont portées en Annexe 3.
- Les résultats du plan de surveillance générale devraient être communiqués annuellement au CSBT et au HCB par un rapport écrit selon les recommandations de la décision 2009/770 de la CE.

[29] Système d'information géographique capable d'organiser et de présenter des données spatialement référencées.

7. Conclusions

Au terme de l'analyse de l'ensemble des données fournies par le pétitionnaire et de données supplémentaires disponibles dans la littérature scientifique, le CS du HCB note que :

- aucun effet particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été observé par le pétitionnaire dans les analyses expérimentales et bioinformatiques de la protéine CP4 EPSPS et du soja 40-3-2. Toutefois, il est à noter que l'un des tests fournis par le pétitionnaire manque de précision quant aux méthodes statistiques utilisées pour traiter les données. Ces informations seront exigées à l'avenir, conformément aux nouvelles lignes directrices sur l'analyse statistique de l'AESA (EFSA, 2010). Les études d'alimentarité n'ont pas détecté de différences entre le soja 40-3-2 et son équivalent quasi isogénique non transgénique.
- Aucun impact négatif sur l'environnement n'a été identifié.
- En termes de coexistence avec des cultures de soja non transgénique, le risque de mélange direct de graines est faible et la dissémination de gènes par pollinisation est peu probable. Des méthodes permettant de surveiller la coexistence du soja 40-3-2 avec les filières de soja non transgéniques ont été fournies.

8. Bibliographie

Abud, S., de Souza, P.I.M., Vianna, G.R., Leonardecz, E., Moreira, C.T., Faleiro, F.G., Junior, J.N., Monteiro, P., Rech, E.L., and Aragao, F.J.L. (2007). Gene flow from transgenic to nontransgenic soybean plants in the Cerrado region of Brazil. Gen Mol Res *6*, 445-452.

Brisson, N. (1989). Modèle de simulation de la culture du soja et de son fonctionnement hydrique. Estimation agrométéorologique des potentialités de production (Thèse INA Paris-Grignon).

Christou, P., McCabe, D.E., and Swain, W.F. (1988). Stable Transformation of Soybean Callus by DNA-Coated Gold Particles. Plant Physiol *87*, 671-674.

Cromwell, G.L., Lindemann, M.D., Randolph, J.H., Parker, G.R., Coffey, R.D., Laurent, K.M., Armstrong, C.L., Mikel, W.B., Stanisiewski, E.P., and Hartnell, G.F. (2002). Soybean meal from Roundup Ready or conventional soybeans in diets for growing-finishing swine. J Anim Sci *80*, 708-715.

Duke, S.O., and Powles, S.B. (2008). Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. Pest Manag Sci *64*, 319-325.

EC (2009). Commission decision No 2009/770/EC of 13 October 2009 establishing standard reporting formats for presenting the monitoring results of the deliberate release into the environment of genetically modified organisms, as or in products, for the purpose of placing on the market, pursuant to Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union *L275*, 9-27.

EFSA (2010). Scientific opinion on Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs, on request of EFSA, question n° EFSA-Q-2006-080. The EFSA Journal *8(1):1250*, pp. 59.

Funke, T., Han, H., Healy-Fried, M.L., Fischer, M., and Schonbrunn, E. (2006). Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. Proc Natl Acad Sci U S A *103*, 13010-13015.

Hammond, B.G., Vicini, J.L., Hartnell, G.F., Naylor, M.W., Knight, C.D., Robinson, E.H., Fuchs, R.L., and Padgette, S.R. (1996). The feeding value of soybeans fed to rats, chickens,

catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. J Nutr *126*, 717-727.

Harrison, L.A., Bailey, M.R., Naylor, M.W., Ream, J.E., Hammond, B.G., Nida, D.L., Burnette, B.L., Nickson, T.E., Mitsky, T.A., Taylor, M.L.*, et al.* (1996). The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolypyruvylshikimate-3-phosphate synthase from Agrobacterium sp strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. J Nutr *126*, 728-740.

Leach, J.N. (2002). Assessment of the in vitro digestibility of purified E-Coli-produced CP4 EPSPS protein in simulated gastric fluid. In Report MSL-17566.

Matthews, D.J., and Hayes, P. (1982). Effect of temperature on germination and emergence of six cultivars of soybean (Glycine max). Seed Science and Technology *10*, 547-555.

McCabe, D.E., Swain, W.F., Martinell, B.J., and Christou, P. (1988). Stable transformation of soybean (Glycine max) by particle acceleration. Bio-Technology *6*, 923-926.

McCoy, R.L., and Silvanovich, A. (2003). Bioinformatics analysis of the CP4 EPSPS protein utilizing the AD4, Toxin5 and ALLPEPTIDES databases. In Technical report MSL-18752.

Naylor, M.W. (1993). One month feeding study with processed glyphosate-tolerant soybean meal in Sprague Dawley rats. In Report MSL-12800.

Planchon, C. (1986). In Le soja : Physiologie de la plante et adaptation aux conditions françaises, CETIOM-INRA, ed.

Ray, J., Kilen, T.C., Abel, C.A., and Paris, R.L. (2003). Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. Environ Biosafety Res *2*, 133-138.

Tambussi, E.A., Bartoli, C.G., Guiamet, J.J., Beltrano, J., and Araus, J.L. (2004). Oxidative stress and photodamage at low temperatures in soybean (Glycine max L. Merr.) leaves. Plant Sci *167*, 19-26.

Teshima, R., Akiyama, H., Okunuki, H., Sakushima, J., Goda, Y., Onodera, H., Sawada, J., and Toyoda, M. (2000). Effect of GM and non-GM soybeans on the immune system of BN rats and B10A mice. J Food Hyg Soc Japan *41*, 188-193.

Unander, D.W., Lambert, J.W., and Orf, J.H. (1983). Cool temperature soybean germination: Genetic and environmental components. Amer Soc Agron Abstr (Madison, WI), 83-84.

Zhu, Y.Z., Li, D.F., Wang, F.L., Yin, J.D., and Jin, H. (2004). Nutritional assessment and fate of DNA of soybean meal from roundup ready or conventional soybeans using rats. Arch Anim Nutr *58*, 295-310.

Annexe 1 : Saisine

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'ALIMENTATION,
DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

Direction générale de l'alimentation

Service de la prévention des risques sanitaires de la production primaire

Sous direction de la qualité et de la protection des végétaux

Bureau de la biovigilance, des biotechnologies et de la qualité des végétaux

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Madame BRECHIGNAC
Présidente du Haut conseil des biotechnologies
à l'attention de Monsieur Hamid Ouahioune
3 place de Fontenoy
75007 PARIS

Paris, le - 7 JUIL. 2010

Objet : saisine du Haut conseil des biotechnologies sur un dossier de demande de mise sur le marché d'OGM

Références : 100510-saisine HCB- dossiers imports

Affaire suivie par : Anne Grevet
tél. : 01 49 55 58 25 fax : 01 49 55 59 49
courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

PJ :

Madame la Présidente,

Dans le cadre du règlement 1829/2003 relatif aux denrées alimentaires et aliments pour animaux génétiquement modifiés, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est confiée à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA). Pendant cette période d'évaluation, l'AESA consulte les États membres sur les dossiers. Lorsque l'AESA a rendu un avis, la Commission européenne propose au vote des États membres un projet de décision.

Les dossiers suivants sont susceptibles de faire prochainement l'objet d'un avis de l'AESA, qui sera suivi d'un vote des États membres sur un projet de décision :

- dossier **EFSA-GMO-RX-40-3-2**, concernant la mise sur le marché du soja génétiquement modifié **40-3-2** pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.
- dossier **EFSA-GMO-UK-2007-41** concernant la mise sur le marché du coton génétiquement modifié **MON88913** pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.
- dossier **EFSA-GMO-UK-2007-48**, concernant la mise sur le marché du maïs génétiquement modifié **MIR604xGA21** pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.
- dossier **EFSA-GMO-UK-2007-50**, concernant la mise sur le marché du maïs génétiquement modifié **Bt11xMIR604** pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.
- dossier **EFSA-GMO-UK-2008-56**, concernant la mise sur le marché du maïs génétiquement modifié **Bt11xMIR604xGA21** pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Dans cette perspective, j'ai l'honneur de vous demander, par la présente saisine, de bien vouloir procéder à une évaluation de ces dossiers afin de rendre un avis au plus tard **le 31 décembre 2010**. Cette échéance est susceptible d'évoluer en fonction du calendrier communautaire. Les dossiers **EFSA-GMO-UK-2007-48, EFSA-GMO-UK-2007-50 et EFSA-GMO-UK-2008-56** sont à traiter en priorité.

Je vous prie de croire, Madame la Présidente, à l'assurance de ma considération distinguée.

La Directrice Générale de l'Alimentation

Pascale BRIAND

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

L'avis a été élaboré par le CS du HCB, composé de :

Jean-Christophe Pagès, Président, Jean-Jacques Leguay, Vice-Président,

et par ordre alphabétique des noms de famille : Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Florence Coignard, François-Christophe Coléno, Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, Maryse Deguergue, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Anne Dubart-Kupperchmitt, Nicolas Ferry, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Mireille Jacquemond, André Jestin, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Jane Lecomte, Olivier Le Gall, Yvon Le Maho, Stéphane Lemarié, Didier Lereclus, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Bertrand Ney, Jacques Pagès, Daniel Parzy, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Virginie Tournay, Bernard Vaissière, Jean-Luc Vilotte.

Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec son analyse du dossier.

Un rapporteur extérieur, Xavier Pinochet, du CETIOM, a été sollicité pour compléter l'expertise du CS. M. Pinochet a signé un engagement de confidentialité, et a certifié son absence de conflits d'intérêts après avoir pris connaissance du dossier. Il a fourni une analyse du dossier dans son domaine d'expertise, et a été auditionné par le CS. Il n'a toutefois pas contribué directement à la rédaction de l'avis du CS.

Annexe 3 : Recommandations générales de bio-surveillance

Pour l'élaboration du plan de surveillance par le Comité de Surveillance Biologique du Territoire, le CS du HCB recommande l'élaboration de :

- plans de surveillance de durée plus longue que la seule durée d'autorisation en cas de survenue d'anomalies ;
- définition des mesures de surveillance des cultures de soja non génétiquement modifié à surveiller dans le cadre d'une bio-surveillance nationale ;
- base de données centralisée sur les plantes génétiquement modifiées, et veille bibliographique, le tout étant interconnecté et interfacé avec d'autres bases de données nationales et européennes sur les pratiques agricoles et importations avec SIG ;
- publication en ligne des résultats non confidentiels.