

HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 23 décembre 2010

AVIS

en réponse à la saisine¹ **100616-saisine HCB- dossier 2010-79**
concernant le dossier **EFSA-GMO-BE-2010-79**.

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 25 juin 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-BE-2010-79 portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON 87701 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-BE-2010-79**. La saisine du HCB correspondante est référencée **100616-saisine HCB- dossier 2010-79**.

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 « **100616-saisine HCB- dossier 2010-79** » 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'AVIS³

La saisine reçue par le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) porte sur l'évaluation du dossier EFSA-GMO-BE-2010-79. Ce dossier, déposé par la société Monsanto, correspond à une demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON 87701 pour l'importation, la transformation, et l'alimentation humaine et animale.

Description du produit

Le soja génétiquement modifié MON 87701⁴ exprime la toxine Cry1Ac dérivée de *Bacillus thuringiensis*, toxine active contre certains insectes lépidoptères ravageurs du soja. La cassette d'expression transgénique permettant l'expression du gène *cry1Ac* 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, ni ne crée de nouvelles régions promotrices ou terminatrices, d'ORF⁵ susceptibles de produire des peptides allergènes, des toxines ou des protéines fusions. Le phénotype induit par l'expression de la protéine Cry1Ac dans les tissus aériens est stable au cours des générations d'auto-fécondations et de croisements. Aucun autre transgène que *cry1Ac* n'est présent dans le soja MON 87701.

Impact sur la santé humaine et animale

L'innocuité de la protéine Cry1Ac 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 (*Bacillus thuringiensis* ssp *kurstaki*), (2) l'absence d'homologie de séquence de la protéine Cry1Ac avec des toxines connues ou des protéines possédant une activité pharmacologique néfaste pour la santé, répertoriées dans les bases de données, (3) l'absence de détection d'effets négatifs dans les tests de toxicité orale aiguë, (4) le poids de l'évidence en faveur d'une absence d'allergénicité.

Les études de tolérance du soja MON 87701, menées sur 90 jours chez des lots de rats, n'ont pas mis en évidence d'effet biologiquement significatif sur la consommation alimentaire, la croissance pondérale des animaux, ni de perturbations des constantes hématologiques et des paramètres chimiques sanguins et urinaires, ni d'anomalies macroscopiques et histopathologiques des organes.

L'étude d'alimentarité menée sur des lots de poulets consommant des régimes renfermant du soja MON 87701, du soja témoin quasi-isogénique ou six autres variétés commerciales, n'ont pas mis en évidence d'effet sur la croissance pondérale des animaux. Cependant, il convient de noter que les lots nourris avec le soja MON 87701 présentent un excès de mortalité qui n'a pas été expliqué de manière satisfaisante par le pétitionnaire. Le Comité scientifique (CS) du HCB ne peut donc se prononcer sur l'alimentarité du MON 87701.

L'évaluation du potentiel allergisant du soja MON 87701 menée selon une approche fondée sur le poids de l'évidence n'a identifié aucun élément permettant d'établir l'existence d'un potentiel allergénique.

Risques de dissémination et impact sur l'environnement

Le potentiel de dissémination du transgène au travers de croisements de soja MON 87701 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)

³ Ce résumé ne se substitue pas à l'analyse du dossier développée dans cet avis.

⁴ Le terme de soja MON 87701 désigne la lignée de soja MON 87701 d'origine ainsi que toute lignée contenant l'événement MON 87701 obtenue par autofécondation ou croisement avec la lignée MON 87701 d'origine.

⁵ 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.

- 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)
- 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 MON 87701, s'il est 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 MON 87701 sont en cours d'étude par l'EURL-GMFF⁶. Un identifiant unique communautaire, MON-877Ø1-2, a été attribué au soja MON 87701. Cependant, au 7 Juillet 2010, le matériel de référence certifié n'était pas disponible auprès du JRC-IRMM⁷ ou de revendeurs.

L'importation de graines de soja MON 87701 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 MON 87701 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

PSPC⁸ 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.

⁶ European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed, Laboratoire de référence communautaire du Centre de recherche commun de la Commission Européenne, instauré par le règlement (CE) 1829/2003, http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-gmff.

⁷ 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>.

⁸ Plan de surveillance post-commercialisation.

Le CS du HCB demande que :

- le pétitionnaire centralise les données recueillies dans une base centrale de données avec SIG⁹, 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,
- 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 MON 87701 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 Cry1Ac et du soja MON 87701. Les études d'alimentarité n'ont pas détecté de différences entre le soja MON 87701 et son équivalent quasi isogénique non transgénique. Toutefois, le CS du HCB ne pourra se prononcer définitivement sur l'alimentarité tant que l'excès de mortalité observé dans les études d'alimentarité restera inexpliqué.
- Il est à noter que certains tests statistiques fournis par le pétitionnaire ne sont pas conformes aux nouvelles lignes directrices sur l'analyse statistique de l'AESA (EFSA, 2010). Des tests conformes seront exigés par le HCB à l'avenir.
- 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. Les méthodes permettant de surveiller la coexistence du soja MON 87701 avec les filières de soja non transgéniques fournies devront être validées. Tant que la méthode de détection et de quantification n'aura pas été validée par l'EURL-GMFF et que le matériel de référence certifié ne sera pas disponible auprès du JRC-IRMM et de ses revendeurs, le CS du HCB ne pourra pas se prononcer sur la validité de la méthode de détection et de quantification.

En l'état du dossier fourni par le pétitionnaire, le HCB n'est donc pas en mesure de se prononcer sur le dossier EFSA-GMO-BE-2010-79 de demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON 87701 en raison d'une impossibilité de statuer sur les risques sanitaires.

⁹ Système d'information géographique capable d'organiser et de présenter des données spatialement référencées.

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	8
2.4 CARACTERISTIQUES DU SOJA MON 87701.....	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 CRY1Ac.....	9
3.2 EVALUATION DE LA TOXICITE ORALE SUBAIGUË DU SOJA MON 87701	10
3.3 ETUDE D'ALIMENTARITE DU SOJA MON 87701	11
4. EVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT	11
5. COEXISTENCE DES FILIERES	13
6. PLAN DE SURVEILLANCE POST-COMMERCIALISATION	14
7. CONCLUSIONS	15
8. BIBLIOGRAPHIE	16
ANNEXE 1 : SAISINE	18
ANNEXE 2 : ELABORATION DE L'AVIS.....	19
ANNEXE 3 : RECOMMANDATIONS GENERALES DE BIO-SURVEILLANCE	20

1. Introduction

Le dossier EFSA-GMO-BE-2010-79, soumis par la société Monsanto dans le cadre du règlement (CE) 1829/2003¹⁰ auprès de l'AESA¹¹, est une demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON 87701 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 MON 87701¹² exprime la toxine Cry1Ac dérivée de *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*, toxine active contre différents insectes lépidoptères dont des ravageurs du soja comme *Anticarsia gemmatilis* (velvetbean caterpillar), *Pseudoplusia includens* (soybean looper) et *Epinotia aporema* (soybean anvil borer).

La toxine Cry1Ac est l'une des nombreuses endotoxines insecticides produites par *B. thuringiensis*. Cry1Ac appartient à la famille des toxines Cry à trois domaines dont le mode d'action et la spécificité ont été très bien étudiés. L'ensemble des travaux permet de conclure que leur spectre d'activité est restreint à quelques espèces d'insectes et qu'il dépend de récepteurs spécifiques localisés à la surface des cellules épithéliales de l'intestin des insectes sensibles (de Maagd *et al.*, 2003; Soberon *et al.*, 2009). Il a notamment été démontré qu'une aminopeptidase N et une cadhérine présentes à la surface des cellules épithéliales des lépidoptères *Heliothis armigera* et *H. virescens* sont les récepteurs de la protéine Cry1Ac (Sivakumar *et al.*, 2007; Xie *et al.*, 2005). Ces propriétés suggèrent donc que la toxine Cry1Ac doit avoir un spectre d'activité spécifique, limité à certains insectes appartenant à l'Ordre des lépidoptères. De fait, il a été montré que Cry1Ac n'est toxique que pour certains lépidoptères et ne présente pas d'activité vis-à-vis d'insectes coléoptères ou diptères (MacIntosh *et al.*, 1990). Les connaissances acquises sur les toxines Cry et les données concernant le mode d'action de la toxine Cry1Ac suggèrent aussi que cette protéine est sans effet sur les animaux et notamment sur les mammifères. De plus, les spores et les cristaux de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* contenant plusieurs protéines Cry, dont Cry1Ac, sont le principe actif de biopesticides utilisés depuis quarante ans de par le monde, sans qu'aucun effet nocif notable résultant de leur utilisation n'ait jamais été signalé.

2.2 Caractéristiques de la construction génétique

La construction transgénique à l'origine de l'événement MON 87701 est portée par le plasmide PV-GMIR9. Ce plasmide binaire de 15505 pb¹³ contient deux cassettes d'expression, chacune dans un ADN-T – ou ADN de transfert – distinct, initialement destinées au transfert dans la plante. Il contient également des séquences lui permettant d'être propagé et sélectionné dans *Escherichia coli* et *Agrobacterium tumefaciens*, dont notamment deux

¹⁰ 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>

¹¹ Autorité européenne de sécurité des aliments, ou EFSA : European Food Safety Authority.

¹² Le terme de soja MON 87701 désigne la lignée de soja MON 87701 d'origine ainsi que toute lignée contenant l'événement MON 87701 obtenue par autofécondation ou croisement avec la lignée MON 87701 d'origine.

¹³ Paires de bases

origines de réplication procaryote et un gène procaryote de résistance aux antibiotiques streptomycine et spectinomycine.

La première cassette d'expression destinée au transfert dans la plante vise à conférer à la plante receveuse une résistance à certains insectes lépidoptères par l'expression de la toxine Cry1Ac de *B. thuringiensis* dans les chloroplastes des tissus aériens de la plante. L'ADN-T (ADN-T I) d'environ 6915 pb portant cette cassette est constitué :

- de la frontière droite de l'ADN-T d'*A. tumefaciens*,
- du promoteur complet (leader et région 5' non traduite $P_{7-RbcS4}$) du gène RbcS4 de la petite sous-unité de la Ribulose 1,5-diphosphate carboxylase (Rubisco) d'*Arabidopsis thaliana*. Ce promoteur confère essentiellement une expression dans les parties aériennes de la plante,
- de la séquence amino-terminale du peptide d'adressage au chloroplaste (TS-CTP1) de la séquence codante de la petite sous-unité de la Ribulose 1,5-diphosphate carboxylase d'*A. thaliana* (RbcS4),
- de la séquence codante de la protéine Cry1Ac de *B. thuringiensis*, modifiée pour assurer une meilleure traduction dans les plantes (CS-cry1Ac),
- des 35 derniers nucléotides et de la région de polyadénylation du gène Sphas1 du soja codant une B conglycinine, protéine de réserve de type 7S du soja (T-7S a),
- de la frontière gauche de l'ADN-T d'*A. tumefaciens*.

La deuxième cassette vise à conférer à la plante receveuse une tolérance à l'herbicide glyphosate par l'expression de l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) de la souche CP4 d'*A. tumefaciens* (CP4 EPSPS). L'ADN-T (ADNT II) d'environ 4000 pb portant cette cassette est constitué :

- de la frontière droite de l'ADN-T d'*A. tumefaciens*,
- du promoteur (P-FMV) de l'ARN 35S du virus de la mosaïque de la scrofulaire (Figwort Mosaic Virus caulimovirus à ADN, proche du CaMV, Cauliflower Mosaic virus, virus de la mosaïque du chou fleur), conférant une expression forte dans tous les tissus de la plante,
- de la région 5' non traduite du gène ShkG codant l'enzyme EPSPS d'*A. thaliana*, impliquée dans la régulation de l'expression,
- de la séquence amino-terminale du peptide d'adressage au chloroplaste (TS-CTP2) de la séquence codante du gène ShkG codant l'enzyme EPSPS d'*A. thaliana*,
- de la séquence codante modifiée pour une meilleure expression dans les cellules de plante de l'enzyme CP4 EPSPS de la souche CP4 d'*A. tumefaciens* conférant la tolérance à l'herbicide glyphosate,
- d'une région de polyadénylation (T-E9) du gène de la petite sous-unité RbcS2 de la Rubisco (Ribulose 1,5-diphosphate carboxylase) de pois,
- de la frontière gauche de l'ADN-T d'*A. tumefaciens*.

Les deux ADN-T, lors de la transformation, sont susceptibles de s'insérer dans deux régions distinctes du génome nucléaire de la cellule hôte pour la synthèse de la protéine insecticide Cry1Ac d'une part, et la tolérance au glyphosate d'autre part. Ce système à deux ADN-T permet de ségréger les cassettes d'expression dans la descendance des transformants, et produire à terme des plantes avec un caractère transgénique d'intérêt (ici la résistance aux insectes) débarrassées de tout marqueur de sélection (ici la tolérance au glyphosate).

2.3 Méthode de transformation

Le soja génétiquement modifié MON 87701 a été produit par transformation de la lignée de soja conventionnelle A5547. Des méristèmes d'embryons de soja en germination ont été co-cultivés en présence d'agrobactéries porteuses du plasmide PV-GMIR9. Ces méristèmes ont ensuite été sélectionnés par exposition au glyphosate. La culture sur carbenicilline et céfotaxime a permis d'éliminer les agrobactéries associées aux méristèmes.

Les méristèmes résistants ont été régénérés en plantes entières. Les plantules obtenues ont été transférées en serre et autofécondées. Parmi ces régénérats primaires, certains portaient les deux ADN-T insérés dans des régions génétiquement indépendantes du génome nucléaire. Les descendants des plantules ont été soumis à une aspersion sub-létale de glyphosate afin de sélectionner les plantes sensibles à l'herbicide, sans les tuer. Les plantes les plus résistantes ont été éliminées. Les plantes ne portant plus que l'ADN-T I (ADN-T exprimant Cry1Ac) ont été autofécondées et soumises à une série de tests moléculaires (PCR, Southern, expression du transgène...) et phénotypiques (résistance aux insectes). Le soja MON 87701 est issu de l'une de ces plantes n'exprimant que Cry1Ac.

2.4 Caractéristiques du soja MON 87701

- 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 MON 87701 porte l'ADN-T I du plasmide PV-GMIR9, entier et non remanié, en une seule insertion et une seule copie. Les analyses ont confirmé que l'ADN-T II, porteur du gène de résistance au glyphosate, présent dans le transformant d'origine et non lié génétiquement à l'ADN-T I, a été éliminé par ségrégation. Aucune autre région (ADN-T II, régions procaryotes du plasmide -origine de répllication etc...-), n'a été détectée dans le génome de ce soja.

- Structure des inserts

Les analyses moléculaires (hybridations moléculaires de type Southern blot, PCR, séquençage...) ont permis de révéler la structure de l'insertion de l'ADN-T I, unique dans le génome nucléaire du soja MON 87701, représentée schématiquement dans la Figure 1.

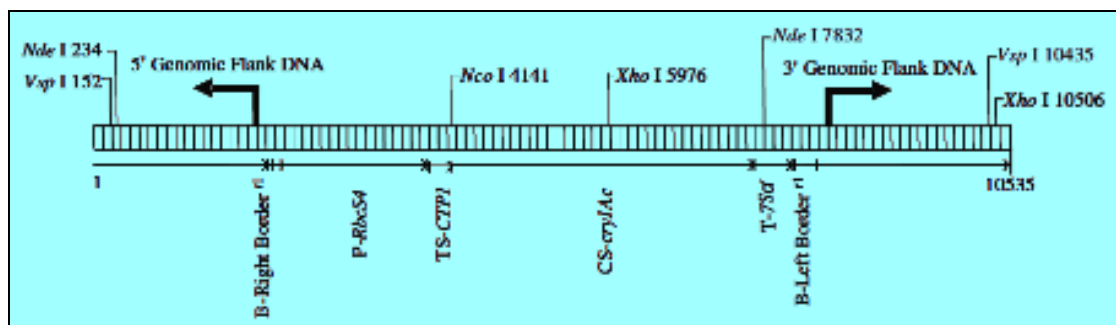


Figure 1. Représentation schématique de l'insert et des régions flanquantes du MON 87701.

L'ADN-T I est inséré dans son intégralité, de la frontière droite à la frontière gauche, sans modification de structure interne.

- Séquençage de l'insert et des régions flanquantes

L'insertion de l'ADN-T I dans le génome de MON 87701 a été séquencée : elle fait 6426 pb et est identique à la région comprise entre les bases 3908 et 10333 du plasmide PV-GMIR9. Les régions flanquantes de l'insert, 2000 pb en 5' et 2108 pb en 3', ont aussi été séquencées et correspondent à des séquences génomiques de soja. Ces deux séquences sont contiguës

dans la variété A5547. Lors de l'insertion de l'ADN-T I, 32 pb de la région ont été délétées et 14 pb d'ADN génomique de soja se sont insérées en 5' du transgène. Ce type de réarrangement mineur est souvent observé lors de la transformation par *A. tumefaciens*.

- Stabilité et héritabilité des transgènes et de leur phénotype dans le soja MON 87701

Des études sur neuf générations d'autofécondation à partir du soja transgénique MON 87701 R0 d'origine, réalisées dans différentes conditions environnementales, montrent que l'événement de transformation MON 87701 est stable. Le gène Cry1Ac ségrège comme un marqueur dominant en un locus unique.

- Analyses bioinformatiques des ORF¹⁴ potentiels présents dans l'insertion

L'analyse bioinformatique des 6 cadres de lecture des séquences de l'insertion et de ses régions flanquantes ne permet pas de mettre en évidence de régions promotrices ou terminatrices. Cette analyse ne détecte pas non plus d'ORFs qui coderaient des peptides allergènes, des toxines ou des protéines fusions, qui auraient pu résulter de l'insertion.

- Expression du transgène Cry1Ac dans le soja MON 87701

Le promoteur de la Rubisco confère une expression circonscrite aux tissus aériens de la plante. C'est dans les feuilles que la protéine de Cry1Ac est la plus abondante (220 à 340 µg/g de poids sec, 30 à 53 µg/g de poids frais). Elle est aussi présente dans le fourrage mais à un niveau beaucoup plus faible (29 µg/g de poids sec), de même dans le pollen et les graines mûres (≤ 5 µg/g). Si Cry1Ac est présente dans les racines, c'est à un niveau inférieur au seuil de détection de la méthode (<0,34 µg/g poids frais).

En se fondant sur la séquence nucléotidique du transgène, la comparaison des séquences peptidiques montre qu'à l'exception de la région amino-terminale CTP, la séquence de la protéine Cry1Ac produite par le soja MON 87701 présente plus de 99 % d'identité avec celle de la protéine Cry1Ac produite par la souche *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD73. Les modifications de la séquence peptidique ne devraient pas influencer sur le mode d'action et la spécificité insecticide de la protéine Cry. Une détermination de l'extrémité amino-terminale et une analyse en spectrométrie de masse (MALDI-TOF) ont été réalisées sur la protéine Cry1Ac produite par la plante. Les résultats indiquent que cette protéine est identique à la protéine Cry1Ac produite par une souche d'*Escherichia coli* exprimant le même gène que le transgène présent dans MON 87701.

3. Evaluation des risques pour la santé humaine et animale

3.1 Evaluation de la toxicité et de l'allergénicité de la protéine Cry1Ac

L'innocuité de la protéine Cry1Ac a été établie en considérant :

- l'historique de son usage
- l'innocuité pour les mammifères de la bactérie donneuse du gène (*Bacillus thuringiensis* var *kurstaki*), ubiquiste dans l'environnement et largement utilisée depuis plusieurs décennies à des fins insecticides. En l'absence de conséquences démontrables dans un grand nombre d'études toxicologiques, l'EPA¹⁵ a délivré des exemptions d'enregistrement

¹⁴ 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.

¹⁵ EPA : *United States Environmental Protection Agency*, l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis.

pour une grande variété de produits microbiens Bt naturels ou génétiquement modifiés ainsi que pour diverses protéines Cry.

- l'absence d'homologie structurale (analyse bioinformatique des séquences d'acides aminés) de la protéine Cry1Ac avec des toxines connues ou des protéines associées à des effets néfastes pour la santé, répertoriées dans les bases de données actualisées (Silvanovich, 2009).
- l'absence de toxicité orale aiguë de la protéine Cry1Ac : aucun effet néfaste de la protéine Cry1Ac n'a été observé à la plus forte dose testée (1290 mg/kg pc) après administration orale unique chez la souris CD-1 en conditions BPL (Smedley, 2009). Ce test a été effectué en utilisant une protéine Cry1Ac microbienne produite par une souche d'*E. coli*, dont l'équivalence à celle produite dans les grains de MON 87701 a été établie par les propriétés physicochimiques et fonctionnelles suivantes :
 - analyse de la séquence amino-terminale par dégradation d'Edman
 - immuno-réactivité par analyse densitométrique de Western blots
 - détermination du poids moléculaire (SDS-PAGE et spectrométrie de masse Maldi-Tof)
 - analyse de l'état de glycosylation (absente pour les deux sources de Cry1Ac)
 - mesure de l'activité insecticide sur le ver de l'épi de maïs (*Helicoverpa Zea*) après administration de six doses (0,00065 – 0,020 µg /ml d'aliment) de protéine Cry1Ac de chaque origine à 16 insectes / lot (essais en triplicate) : les résultats montrent des EC50 similaires (0,0039 µg/mL et 0,0036 µg/ml pour l'origine MON 87701 et *E. coli*, respectivement)
 - EC50 similaires (0,0039 µg/mL et 0,0036 µg/ml pour l'origine MON 87701 et *E. coli*, respectivement).
- l'absence de potentiel allergisant de la protéine Cry1Ac : l'allergénicité a été évaluée selon une approche fondée sur le poids de l'évidence prenant en compte les éléments suivants :
 - aucun cas d'allergie connu n'est à ce jour attribuable à l'organisme source (*Bacillus thuringiensis var kurstaki*) et aux protéines qu'il produit
 - la teneur en protéine Cry1Ac est très faible dans les grains de soja MON 87701 (0,0013 % des protéines totales)
 - les analyses informatiques indiquent une absence d'homologie de séquence en acides aminés de la protéine Cry1Ac avec des allergènes connus, des gliadines ou des glutéines
 - la protéine Cry1Ac se dégrade rapidement (dégradation entre 95 et 100 % selon les méthodes utilisées) dans les milieux simulant l'estomac et l'intestin (Goertz, 2008).

3.2 Evaluation de la toxicité orale subaiguë du soja MON 87701

L'étude de tolérance a été menée sur 90 jours chez des lots rats SD, 12-20 animaux par sexe, consommant des régimes renfermant 15 ou 30 % de tourteau de soja MON87701 ou de soja quasi isogénique A 5547 ou 30 % de variétés commerciales (Anand, UA4805, Ozark). Hormis les variations de paramètres couramment observées dans les élevages de laboratoire, qui sont donc non attribuables au soja MON 87701, cette étude BPL et conforme à l'OCDE (Guideline n° 408-1997), n'a pas mis en évidence d'effet biologiquement significatif sur la consommation alimentaire, la croissance pondérale des animaux, ni de perturbations des constantes hématologiques et des paramètres chimiques sanguins et urinaires, ni d'anomalies anatomopathologiques macroscopiques et microscopiques des organes (Kirkpatrick, 2009).

3.3 Etude d'alimentarité du soja MON 87701

L'étude d'équivalence nutritionnelle, BPL et conforme à l'EPA 40 CFR /160, menée sur 42 jours chez des lots de 20 poulets (5 réplicats) consommant des régimes renfermant 30 - 33% de soja MON 87701 ou de sojas témoins conventionnels A 5547 ou de six autres variétés commerciales, n'a pas mis en évidence d'effet sur la croissance pondérale des animaux, ni sur l'efficacité alimentaire.

Le pétitionnaire mentionne qu'aucun excès du taux moyen de mortalité n'a été observé selon les lots, ni au cours de la première semaine correspondant à la période de démarrage (2,6 % ; valeurs extrêmes : 0,8 - 5 %), ni au cours des cinq semaines suivantes correspondant à la période de croissance (1,3 % ; valeurs extrêmes 0 - 5 %). Il explique également l'excès initial de mortalité par la survenue d'infections bactériennes et de cas de déshydratation fréquents dans ce type d'élevage. Cependant, il convient de noter que les lots nourris avec le soja MON 87701 présentent une mortalité de 5 % au cours des deux périodes alors que celle des autres lots était de 0,83 - 4,17 % en période initiale et de 0 - 2 % en période de croissance de sorte que l'explication apportée par le pétitionnaire n'est pas satisfaisante.

En conclusion, bien qu'aucune différence d'alimentarité n'ait été détectée entre le soja MON 87701 et les variétés témoins (Davis, 2009), le CS ne peut se prononcer sur l'alimentarité en l'absence d'explication satisfaisante de la surmortalité observée dans les lots nourris avec le MON 87701.

4. Evaluation des risques pour l'environnement

Les risques pour l'environnement potentiellement associés à la mise sur le marché du soja MON 87701 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 où 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, de résistance à certains lépidoptères sensibles à la toxine Cry1Ac exprimée par le soja MON 87701, ne confère aucun avantage compétitif, en l'absence d'insectes ravageurs sensibles à la toxine Cry1Ac, 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 :

Un identifiant unique, MON-877Ø1-2, a été attribué au soja MON 87701. Une méthode de détection quantification a été fournie et est en cours d'étude par l'EURL-GMFF¹⁶. Au 7 Juillet 2010, le matériel de référence certifié n'est pas disponible auprès du JRC-IRMM¹⁷ ni de revendeurs. Le rapport de validation et le matériel de référence certifié n'étant pas disponibles, le CS du HCB ne peut se prononcer sur la capacité des opérateurs et des pouvoirs publics à tracer cet OGM.

Coexistence :

La biologie du soja implique qu'il ne devrait pas y avoir de problèmes de coexistence entre le soja MON 87701 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.

¹⁶ 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).

¹⁷ 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>.

6. Plan de surveillance post-commercialisation

En matière de surveillance post-commercialisation, la directive 2001/18/CE¹⁸, complétée par les règlements (CE) 1829/2003 et 1830/2003¹⁹, 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.

Aucune surveillance environnementale n'apparaît nécessaire, hormis en termes 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 SIG²⁰, 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).

¹⁸ 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>

¹⁹ 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>

²⁰ Système d'information géographique capable d'organiser et de présenter des données spatialement référencées.

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.

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 Cry1Ac et du soja MON 87701. Les études d'alimentarité n'ont pas détecté de différences entre le soja MON 87701 et son équivalent quasi-isogénique non transgénique. Toutefois, le CS du HCB ne pourra se prononcer définitivement sur l'alimentarité tant que l'excès de mortalité observé dans les études d'alimentarité restera inexplicé.
- Il est à noter que certains tests statistiques fournis par le pétitionnaire ne sont pas conformes aux nouvelles lignes directrices sur l'analyse statistique de l'AESA (EFSA, 2010). Des tests conformes seront exigés par le HCB à l'avenir.
- 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. Les méthodes permettant de surveiller la coexistence du soja MON 87701 avec les filières de soja non transgéniques fournies devront être validées. Tant que la méthode de détection et de quantification n'aura pas été validée par l'EURL-GMFF et que le matériel de référence certifié ne sera pas disponible auprès du JRC-IRMM et de ses revendeurs, le CS du HCB ne pourra pas se prononcer sur la validité de la méthode de détection et de quantification.

En l'état du dossier fourni par le pétitionnaire, le HCB n'est donc pas en mesure de se prononcer sur le dossier EFSA-GMO-BE-2010-79 de demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON 87701 en raison d'une impossibilité de statuer sur les risques sanitaires.

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).

Davis, S.W. (2009). Comparison of broiler performance and carcass parameters when fed diets containing soybean meal produced from MON 87701, control or reference soybean. In Confidential technical report MSL 0021800, pp. 129.

de Maagd, R.A., Bravo, A., Berry, C., Crickmore, N., and Schnepf, H.E. (2003). Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. *Annu Rev Genet* 37, 409-433.

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.

Goertz, B.E. (2008). Assessment of the in vitro digestibility of the Cry 1Ac protein in simulated gastric and simulated intestinal fluids. In Confidential Report MSL 0021376.

Kirkpatrick, J.B. (2009). A 90-day feeding study in rats with processed meal from insect protected soybean MON 87701. In Confidential report WIL-50352, pp. 2356.

MacIntosh, S.C., Stone, T.B., Sims, S.R., Hunst, P.L., Greenplate, J.T., Marrone, P.G., Perlak, F.J., Fischhoff, D.A., and Fuchs, R.L. (1990). Specificity and efficacy of purified *Bacillus thuringiensis* proteins against agronomically important insects. *J Invertebr Pathol* 56, 258-266.

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.

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.

Silvanovich, A. (2009). Updated bioinformatic evaluation of the DNA sequences flanking the insertion site in MON 87701 (BLASTn/x analyses) and of DNA sequences flanking the 5' and 3' junctions of the inserted DNA in MON 89788 (assessment of putative polypeptides utilizing PRT_09 database) (In response to EFSA's questions on Application EFSA-GMO-NL-2009-73). In Confidential report RAR 09-504.

Sivakumar, S., Rajagopal, R., Venkatesh, G.R., Srivastava, A., and Bhatnagar, R.K. (2007). Knockdown of aminopeptidase-N from *Helicoverpa armigera* larvae and in transfected Sf21 cells by RNA interference reveals its functional interaction with *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein Cry1Ac. *J Biol Chem* 282, 7312-7319.

Smedley, J.W. (2009). An acute oral toxicity study of Cry1Ac administered by the oral (gavage) route in mice. In Confidential report n° CRO-2007-325.

Soberon, M., Gill, S.S., and Bravo, A. (2009). Signaling versus punching hole: How do *Bacillus thuringiensis* toxins kill insect midgut cells? *Cell Mol Life Sci* 66, 1337-1349.

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.

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.

Xie, R., Zhuang, M., Ross, L.S., Gomez, I., Oltean, D.I., Bravo, A., Soberon, M., and Gill, S.S. (2005). Single amino acid mutations in the cadherin receptor from *Heliothis virescens* affect its toxin binding ability to Cry1A toxins. *J Biol Chem* 280, 8416-8425.

Annexe 1 : Saisine



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 Ouahione
3 place de Fontenoy
75007 PARIS

Paris, le **25 JUIN 2010**

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

Références : 100616-saisine HCB- dossier 2010-79

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

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). Lorsqu'un dossier est considéré comme valide par l'AESA, le dossier est mis à disposition des États membres qui disposent de 3 mois pour faire des commentaires.

Le dossier suivant a été déclaré valide par l'AESA et est soumis à consultation des États membres :

- dossier **EFSA-GMO-BE-2010-79**, concernant la mise sur le marché du soja génétiquement modifié **MON87701** pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Les États membres peuvent transmettre leurs commentaires à l'AESA jusqu'au 11 septembre 2010.

Dans cette perspective, j'ai l'honneur de vous demander, par la présente saisine, de bien vouloir procéder à une évaluation de ce dossier afin de rendre un avis au plus tard le **6 septembre 2010**.

J'appelle votre attention sur le fait que le dossier contient des informations que le pétitionnaire souhaite maintenir confidentielles.

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

*L'inspectrice en chef de la Santé Publique-Vétérinaire
Sous Directrice de la Qualité et de la Protection des Végétaux*

Emmanuelle SOUBEYRAN

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 Deguegue, 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.