

**Avis en réponse à la saisine HCB - dossier 2017-143.
Paris, le 15 mai 2018**

. Comité Scientifique Du Haut Conseil Des Biotechnologies, Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, et al.

► **To cite this version:**

. Comité Scientifique Du Haut Conseil Des Biotechnologies, Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, et al.. Avis en réponse à la saisine HCB - dossier 2017-143. Paris, le 15 mai 2018. [Autre] -. 2018. hal-02787191

HAL Id: hal-02787191

<https://hal.inrae.fr/hal-02787191>

Submitted on 5 Jun 2020

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

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



COMITÉ SCIENTIFIQUE

AVIS

en réponse à la saisine HCB – dossier 2017-143¹

Paris, le 15 mai 2018

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 27 février 2018 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier **EFSA-GMO-NL-2017-143** de demande d'autorisation de mise sur le marché du colza génétiquement modifié **MS11 x RF3** à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine et animale.

Ce dossier a été déposé par la société **Bayer CropScience LP** auprès des autorités compétentes néerlandaises sur le fondement du **règlement (CE) n° 1829/2003**. Dans le cadre de ce règlement, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est confiée à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). Les Etats membres disposent de trois mois pour envoyer leurs commentaires à l'EFSA en contribution à l'évaluation du dossier.

Dans ce contexte, le HCB est invité à proposer des commentaires à destination de l'EFSA au plus tard le 16 mai 2018.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a examiné le dossier en séance du 26 avril 2018 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Le présent avis a été adopté par voie électronique le 15 mai 2018, transmis aux autorités compétentes le 16 mai 2018 et publié le 23 mai 2018.

¹ La saisine HCB – dossier 2017-143 est reproduite dans l'Annexe 1.

² Les modalités de l'élaboration de l'avis et la composition du CS sont indiquées dans l'Annexe 2.

RESUME DE L'AVIS³

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003 d'une demande d'avis relative au dossier EFSA-GMO-NL-2017-143 dans le but de proposer des commentaires à destination de l'EFSA en contribution à l'évaluation européenne du dossier, et d'éclairer les autorités compétentes françaises dans une étape intermédiaire en amont du vote à la Commission européenne. Déposé par la société Bayer CropScience LP, ce dossier est une demande d'autorisation de mise sur le marché du colza génétiquement modifié MS11 x RF3 à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine et animale dans l'Union européenne.

Description du produit

Le colza (*Brassica napus*) MS11 x RF3 est le produit d'un croisement conventionnel entre les lignées de colza génétiquement modifiées MS11 et RF3. La lignée parentale MS11 porte une cassette d'expression contenant les gènes *barnase* et *barstar* de la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens*, et le gène *bar* de *Streptomyces hygroscopicus*. La lignée parentale RF3 porte une cassette d'expression contenant les gènes *barstar* et *bar*.

Le gène *barnase* code la ribonucléase Barnase ; le gène *barstar* code la protéine Barstar, un inhibiteur spécifique de la protéine Barnase. Respectivement exprimées dans les cellules du tapis des anthères de MS11 et RF3, Barnase confère une stérilité mâle au colza MS11, tandis que Barstar restaure la fertilité de MS11 après croisement avec RF3. Exprimée en plus dans toute la plante à faible niveau, Barstar aurait permis d'augmenter la fréquence de transformation génétique à l'origine des plantes MS11. Le gène *bar* code une phosphinothricine-N-acétyltransférase (PAT), qui confère aux deux lignées une tolérance aux herbicides à base de phosphinothricine (glufosinate d'ammonium).

Le colza MS11 x RF3 résultant du croisement des lignées MS11 et RF3 est un colza hybride tolérant aux herbicides à base de glufosinate d'ammonium. Le système de stérilité mâle de la lignée MS11 combinée à la restauration de fertilité apportée par la lignée RF3 facilite la production de colza hybride (la stérilité mâle empêche l'autopollinisation des plantes tandis que la restauration de fertilité assure la production de graines par l'hybride), l'objectif recherché étant d'obtenir un effet de vigueur associé aux hybrides – effet connu sous le nom d'hétérosis – par lequel l'hybride devrait présenter des performances supérieures à celles des parents.

Remarques générales à destination de l'EFSA

Le CS du HCB propose d'envoyer à l'EFSA les remarques listées dans cet avis concernant les points du dossier identifiés comme critiquables au sujet de l'évaluation des risques environnementaux, dont les principales sont résumées ci-dessous. Les commentaires concernant l'évaluation des risques sanitaires sont envoyés par l'Anses.

Remarques principales :

1. d'ordre général

Le CS du HCB comprend la logique du statut d'exception accordé au dossier MS11 x RF3, dont l'évaluation a été lancée en parallèle à l'évaluation du dossier MS11. Il en découle que certaines

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

questions du CS du HCB, pertinentes pour l'évaluation de cet empilage, concernent plus directement le dossier MS11.

Le CS du HCB regrette le peu d'actualisation des données de fond de ce dossier comparé au dossier EFSA-GMO-NL-2009-75, déjà basé à l'époque sur un rapport interne datant de 2003, et le manque de références bibliographiques tenant compte de travaux plus récents sur certains aspects pertinents de la biologie du colza (notamment les facteurs de reproduction et de dissémination).

Le pétitionnaire devrait apporter une information plus complète sur la culture de colza GM et non GM hors de l'Union européenne, avec des précisions sur les provenances des importations dans l'Union européenne. Le CS du HCB convient qu'il est impossible de préciser d'où proviendraient les importations de ce colza GM dans l'Union européenne, mais un minimum d'indications serait bienvenu.

2. concernant l'analyse génétique et moléculaire

Le CS du HCB demande au pétitionnaire de clarifier :

- la fonction du transgène *barstar* dans MS11,
- l'activité et la spécificité des promoteurs utilisés (*Pta29* et *Pnos*) contrôlant les expressions respectives des transgènes *barnase* et *barstar* dans MS11,
- la méthodologie de la quantification des protéines et l'interprétation des résultats.

3. concernant l'analyse comparative

Faute de trouver des données satisfaisantes dans les références incluses dans le dossier, le CS du HCB invite le pétitionnaire à rendre disponibles les données brutes de l'évaluation comparative du colza RF3, permettant de réaliser une analyse statistique (tests de différence et d'équivalence) des différentes caractéristiques de la lignée.

Le CS du HCB note que certains caractères pertinents pour évaluer les risques associés à une importation n'ont pas été mesurés. Les traits liés à la biologie de la reproduction et au risque de dissémination par flux de gènes devraient être analysés à cette fin.

4. concernant l'évaluation des risques pour l'environnement

S'agissant d'un dossier de demande d'autorisation d'importation de colza dans l'Union européenne, le CS du HCB souhaiterait :

- une meilleure considération des différentes plantes apparentées au colza présentes dans l'Union européenne, avec des précisions sur leurs différentes aptitudes à l'hybridation avec le colza,
- une meilleure considération des facteurs particuliers de dissémination du colza à partir d'une dispersion non intentionnelle hors champ,
- plus d'information sur l'adaptation (potentiel de survie, production de descendance...) aux conditions européennes de variétés de colza de type « printemps » en général et de ce colza en particulier,
- la prise en compte de la présence de plantes mâle-stériles dans la descendance des hybrides MS11 x RF3 et une analyse de ses conséquences en termes d'avantage sélectif : les descendances des variétés hybrides importées présenteront une fréquence non négligeable de plantes mâle-stériles, dont l'hybridation avec d'autres variétés de colza ou des espèces apparentées devrait être facilitée par rapport à des plantes de variétés totalement mâle-fertiles. Il est par ailleurs possible que les descendants hybrides bénéficient d'un avantage sélectif significatif en situations de contraintes du fait de l'effet de vigueur hybride attendu ;

- la définition explicite de conditions spécifiques de manipulation des graines importées pour contrôler le risque de dissémination non intentionnelle de ce colza.

Enfin, le CS du HCB souhaiterait signaler le retrait des autorisations de mise sur le marché en France des produits phytopharmaceutiques à base de glufosinate d'ammonium par décision de l'Anses en date du 24 octobre 2017, ce qui implique que le transgène *bar* ne procurerait aucun avantage sélectif aux plantes transgéniques qui le porteraient en France.

5. concernant les plans de surveillance post-commercialisation

Le CS du HCB demande au pétitionnaire de détailler (1) les mesures précises préconisées pour minimiser le risque avéré de dissémination fortuite de graines de colza GM entre les ports d'arrivée et les usines de trituration ou suite à un accident industriel et (2) les mesures de surveillance pour détecter les repousses du colza MS11 x RF3 et de ses dérivés de ségrégation, en complément des mesures déjà fournies pour les détruire si elles sont détectées.

Le CS du HCB recommande une étroite collaboration du pétitionnaire avec les autorités compétentes nationales, les gestionnaires des voies de transport empruntées et les opérateurs et acteurs locaux pour que ces mesures soient définies de manière circonstanciée, en prenant en compte les spécificités du pays d'importation.

Remarques supplémentaires :

- Le CS du HCB note que la norme de pureté variétale réglementaire au Canada est de 75 %, ce qui implique que potentiellement 25 % des semences F1 (vendues comme MS11 x RF3 aux producteurs canadiens) pourraient être hors-types, potentiellement le résultat du croisement de MS11 avec d'autres OGM, et dans tous les cas ne correspondant pas au matériel évalué dans ce dossier. Parmi ces hors-types, 50 % de plantes seront mâle-stériles, et 50 % produiront des graines F2, qui pourront être importées avec la descendance F2 du croisement MS11 x RF3.
- Certains membres du CS du HCB soulignent qu'une étude plus large serait souhaitable concernant les conséquences en Europe de la culture du colza hybride MS11 x RF3 dans des pays tiers exportateurs, non seulement en termes socioéconomiques, mais également en termes de biodiversité. Ils rappellent que, dans le cadre de la Convention pour la diversité biologique, les pays exportateurs ont des responsabilités internationales sur les espèces menacées. Ils suggèrent que le dossier fasse état des résultats d'une analyse d'impact de la culture sur la biodiversité des pays producteurs exportateurs. De plus, ils recommandent une étude supplémentaire pour évaluer l'influence de l'importation de certains produits sur le choix des cultures en Europe, et donc sur la biodiversité résultant de ces choix agrosystémiques.
- Enfin, certains membres du CS du HCB soulèvent la question éthique d'autoriser l'importation dans l'Union européenne d'un produit dont la production dans les pays exportateurs impliquera l'exposition des opérateurs à un produit phytopharmaceutique qui a été retiré du marché français pour des raisons sanitaires.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	6
1.1. CONTEXTE REGLEMENTAIRE DE LA SAISINE	6
1.2. HISTORIQUE DU DOSSIER	7
1.3. PRESENTATION DE LA PLANTE GENETIQUEMENT MODIFIEE.....	8
2. COMMENTAIRES A DESTINATION DE L'EFSA	9
2.1. REMARQUES GENERALES	9
2.2. COMMENTAIRES PAR SECTIONS DEFINIES PAR L'EFSA.....	11
3. BIBLIOGRAPHIE.....	24
ANNEXE 1 : SAISINE	28
ANNEXE 2 : ELABORATION DE L'AVIS.....	29
ANNEXE 3 : COMMENTAIRES TRADUITS EN ANGLAIS A DESTINATION DE L'EFSA	30
A3.1. GENERAL COMMENTS	30
A3.2. COMMENTS PER SECTION	32

1. Introduction

1.1. Contexte réglementaire de la saisine

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 27 février 2018 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-NL-2017-143, portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché du colza génétiquement modifié MS11 x RF3 à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine animale dans l'Union européenne. Le dossier EFSA-GMO-NL-2017-143 a été déposé par la société Bayer CropScience LP auprès des autorités compétentes néerlandaises sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003⁴ (EC, 2003).

Dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003, l'évaluation des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées est centralisée par l'EFSA⁵, qui dispose d'un délai de 6 mois, à compter de la date de validation du dossier, pour transmettre son avis à la Commission européenne. En pratique, le décompte de cette période de six mois est suspendu à chaque demande d'information supplémentaire adressée au pétitionnaire.

En parallèle, les Etats membres disposent d'un délai ferme de trois mois pour envoyer leurs commentaires à l'EFSA en contribution à l'évaluation sanitaire et environnementale du dossier. En France, les autorités compétentes saisissent d'une part l'Anses (l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), pour réaliser l'évaluation sanitaire du dossier, et d'autre part le HCB, pour réaliser l'évaluation environnementale associée à un risque de dissémination de l'OGM. En l'absence d'un tel risque (par exemple, dans le cas d'une mise sur le marché de produits dérivés d'OGM comme des tourteaux de soja), seule l'Anses est saisie. La France couvre ainsi les deux pans de l'évaluation réalisée par l'EFSA. Elle transmet en sus les remarques du Comité économique, éthique et social du HCB concernant les aspects socio-économiques du dossier.

Les commentaires des Etats membres, dès réception par l'EFSA, sont transmis d'une part aux experts de trois groupes de travail du panel OGM⁶ de l'EFSA (Analyse moléculaire, Alimentation humaine et animale, Environnement), et d'autre part à l'Etat membre auquel l'EFSA a délégué l'évaluation du risque environnemental. En l'occurrence, la culture étant exclue du champ de demande d'autorisation de ce dossier, l'EFSA a choisi de ne pas déléguer cette évaluation.

Les groupes de travail de l'EFSA examinent les commentaires des Etats membres, les intègrent dans leur analyse des dossiers, et, quand ils le jugent pertinent, les transmettent au pétitionnaire sous forme de questions pour clarification ou demande d'information supplémentaire. Si tous les commentaires ne sont pas nécessairement transmis au pétitionnaire, ils font tous l'objet d'une réponse spécifique par l'EFSA. Les commentaires de chaque Etat membre, ainsi que les réponses

⁴ Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. (Plus précisément, pour clarifier une confusion inhérente à la traduction française de ce titre, ce règlement concerne les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, ces denrées alimentaires ou aliments pour animaux pouvant consister en des OGM, contenir des OGM, ou être issus d'OGM.): <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:FR:HTML>.

⁵ EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments, traduction de *European Food Safety Authority*.

⁶ OGM : organisme génétiquement modifié.

correspondantes de l'EFSA, sont rendus publics, en annexe de l'avis scientifique de l'EFSA à destination de la Commission européenne.

La procédure de transmission des commentaires à l'EFSA est strictement cadrée. Les autorités compétentes des Etats membres sont invitées à poster des commentaires en ligne, en anglais, dans des formulaires distincts pour chaque section des dossiers. Les sections sont basées sur la structure des dossiers établie par le règlement (CE) n° 1829/2003, détaillée par le règlement d'exécution (UE) n° 503-2013⁷ (EU, 2013), et explicitée dans le document d'orientation de l'EFSA relatif à la soumission de dossiers de demande d'autorisation de plantes génétiquement modifiées à des fins alimentaires (EFSA, 2013). Ces commentaires doivent être ciblés sur des demandes spécifiques adressées à l'EFSA, soit pour une demande de clarification ou d'information supplémentaire de la part du pétitionnaire, soit pour la prise en compte de remarques spécifiques dans son évaluation des dossiers et l'élaboration de son avis scientifique.

C'est dans ce cadre que le HCB a été saisi. L'objectif de cet avis du HCB est donc de contribuer à l'évaluation environnementale du dossier par l'EFSA.

En fin d'évaluation, la Commission européenne soumettra au vote des Etats membres un projet de décision concernant l'autorisation de mise sur le marché du colza MS11 x RF3 dans l'Union européenne, élaboré sur la base de l'avis de l'EFSA. Le HCB pourra à nouveau être saisi par les autorités compétentes françaises pour qu'il puisse réviser son évaluation selon les informations supplémentaires versées au dossier depuis son évaluation initiale. A ce stade ultérieur, le HCB rédigera un avis fournissant un éclairage complet sur le dossier à destination du Gouvernement.

1.2. Historique du dossier

L'EFSA a reçu le dossier EFSA-GMO-NL-2017-143 des autorités compétentes néerlandaises le 17 mai 2017 et, après vérification de sa conformité réglementaire, l'a validé le 4 août 2017.

Ce dossier concerne une plante contenant un empilage d'événements de transformation génétique, c'est-à-dire la combinaison de plusieurs événements dans une même plante, obtenue par croisement classique de plantes génétiquement modifiées contenant un (ou plusieurs) événement(s) de transformation. Pour un tel dossier, selon le règlement d'exécution (UE) n° 503-2013, le pétitionnaire est tenu de fournir une évaluation des risques présentés par chaque événement de transformation simple ou faire référence aux demandes déjà effectuées.

Ainsi, la demande d'autorisation de mise sur le marché du colza MS11 x RF3 nécessite l'évaluation préalable des plantes de colza MS11 d'une part et RF3 d'autre part. Si l'événement RF3 a en principe déjà été évalué dans les demandes d'autorisation de mise sur le marché des plantes de colza « MS8, RF3 et MS8 x RF3 » (dossiers C/BE/96/01, EFSA-GMO-RX-MS8-RF3, EFSA-GMO-BE-2010-81) et MS8 x RF3 x GT73 (dossier EFSA-GMO-NL-2009-75), l'événement MS11 est toujours en cours d'évaluation dans le dossier EFSA-GMO-BE-2016-138.

Dans un premier temps, conformément au règlement d'exécution (UE) n° 503-2013, l'EFSA a suspendu l'évaluation du dossier EFSA-GMO-2017-143 le temps de finaliser l'évaluation du dossier EFSA-GMO-BE-2016-138 (Lettre du 9 août 2017 de l'EFSA au pétitionnaire).

Dans un second temps, considérant le caractère particulier de stérilité mâle conféré par l'événement MS11 et la difficulté de l'évaluer en l'absence de restaurateur de fertilité, apporté par l'événement RF3, l'EFSA a exceptionnellement accepté de lancer l'évaluation de l'empilage MS11 x RF3 en parallèle à l'évaluation de l'événement simple MS11. Aussi, la consultation des

⁷ Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 de la Commission du 3 avril 2013 relatif aux demandes d'autorisation de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux génétiquement modifiés introduites en application du règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements de la Commission (CE) n° 641/2004 et (CE) n° 1981/2006 : <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:157:0001:0048:FR:PDF>

Etats membres sur le dossier EFSA-GMO-NL-2017-143 a finalement été ouverte le 23 février 2018 pour une période réglementaire de trois mois, jusqu'au 23 mai 2018 (Lettre du 22 février 2018 de l'EFSA au pétitionnaire).

1.3. Présentation de la plante génétiquement modifiée

Le colza (*Brassica napus*) MS11 x RF3 est le produit d'un croisement conventionnel entre les lignées de colza génétiquement modifiées MS11 et RF3.

La lignée parentale MS11 porte une cassette d'expression contenant les gènes *barnase* et *barstar* de la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens*, et le gène *bar* de *Streptomyces hygroscopicus* :

- le gène *barnase* code la ribonucléase Barnase. Placé sous le contrôle du promoteur *Pta29* spécifique des cellules du tapis des anthères en développement dans les plantes MS11, il conduit à la mort de ces cellules. Privé de leur action nourricière indispensable, le pollen ne peut se développer normalement, ce qui confère une stérilité mâle sporophytique au colza MS11 ;
- le gène *barstar* code la protéine Barstar, un inhibiteur spécifique de la protéine Barnase. Placé sous le contrôle du promoteur *Pnos* du gène de la nopaline synthase d'*Agrobacterium tumefaciens* dans les plantes MS11, il s'exprime dans toute la plante à faible niveau. Selon les indications du dossier, *barstar* ainsi exprimé aurait permis d'augmenter la fréquence de transformation génétique à l'origine des plantes MS11. Cette action s'explique vraisemblablement par l'inhibition d'une expression non spécifique de *barnase* dans la plante. Cette expression serait toutefois suffisamment faible pour ne pas inhiber l'action stérilisante causée par l'expression de la Barnase dans les anthères de MS11 ;
- le gène *bar* code une phosphinothricine-N-acétyltransférase (PAT). Placé sous le contrôle du promoteur *PssuAt* d'*Arabidopsis thaliana*, il s'exprime dans tous les tissus verts de la plante, ce qui lui confère une tolérance aux herbicides à base de phosphinothricine, synonyme de glufosinate d'ammonium.

La lignée parentale RF3 porte une cassette d'expression contenant les gènes *barstar* et *bar* :

- le gène *barstar* est ici placé sous le contrôle du promoteur *Pta29*, comme le gène *barnase* de la lignée parentale MS11 ;
- le gène *bar* est placé sous le contrôle du même promoteur que dans la lignée MS11.

Le colza MS11 x RF3 résultant du croisement des lignées MS11 et RF3 est un colza hybride tolérant aux herbicides à base de glufosinate d'ammonium. Le système de stérilité mâle de la lignée MS11 combinée à la restauration de fertilité apportée par la lignée RF3 facilite la production de colza hybride (la stérilité mâle empêche l'autopollinisation des plantes tandis que la restauration de fertilité assure la production de graines par l'hybride), l'objectif recherché étant d'obtenir un effet de vigueur associé aux hybrides – effet connu sous le nom d'hétérosis – par lequel l'hybride devrait présenter des performances supérieures à celles des parents.

Les semences de colza hybride MS11 x RF3 seraient destinées à la mise en culture au Canada, aux Etats-Unis d'Amérique et en Australie.

Le pétitionnaire présente dans ce dossier l'évaluation des risques environnementaux et sanitaires potentiellement associés à l'importation, la transformation et l'utilisation dans l'alimentation humaine et animale du colza hybride MS11 x RF3 dans l'Union européenne. S'agissant d'un empilage, l'évaluation des risques associés devrait se référer à l'évaluation préalable des événements simples et se concentrer sur l'examen de l'intégrité et de la stabilité des événements simples dans l'empilage, et des effets potentiels (synergies ou antagonismes) résultant de la

combinaison des deux événements de transformation au sein d'une même plante, en termes de risques pour l'environnement et la santé, gestion des risques et surveillance.

Le CS du HCB propose d'envoyer les remarques suivantes à l'EFSA concernant les points du dossier identifiés comme critiquables au sujet de l'évaluation des risques environnementaux. Les commentaires concernant l'évaluation des risques sanitaires sont envoyés par l'Anses.

2. Commentaires à destination de l'EFSA

2.1. Remarques générales

Commentaire préliminaire :

Deux instances d'évaluation ont été saisies pour l'examen de ce dossier en France : le Haut Conseil des biotechnologies (HCB), saisi par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation (MAA), et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), saisie par le ministère de l'Economie et des Finances (MEF). De manière complémentaire, les commentaires concernant l'évaluation environnementale du dossier sont envoyés par le HCB via le MAA et les commentaires concernant l'évaluation sanitaire du dossier sont envoyés par l'Anses via le MEF.

Remarques principales :

1. d'ordre général

Le CS du HCB comprend la logique du statut d'exception accordé au dossier MS11 x RF3, dont l'évaluation a été lancée en parallèle à l'évaluation du dossier MS11. Il en découle que certaines questions du CS du HCB, pertinentes pour l'évaluation de cet empilage, concernent plus directement le dossier MS11.

Le CS du HCB regrette le peu d'actualisation des données de fond de ce dossier comparé au dossier EFSA-GMO-NL-2009-75, déjà basé à l'époque sur un rapport interne datant de 2003, et le manque de références bibliographiques tenant compte de travaux plus récents sur certains aspects pertinents de la biologie du colza (notamment les facteurs de reproduction et de dissémination).

Le pétitionnaire devrait apporter une information plus complète sur la culture de colza GM et non GM hors de l'Union européenne, avec des précisions sur les provenances des importations dans l'Union européenne. Le CS du HCB convient qu'il est impossible de préciser d'où proviendraient les importations de ce colza GM dans l'Union européenne, mais un minimum d'indications serait bienvenu.

2. concernant l'analyse génétique et moléculaire

Le CS du HCB demande au pétitionnaire de clarifier :

- la fonction du transgène *barstar* dans MS11,
- l'activité et la spécificité des promoteurs utilisés (*Pta29* et *Pnos*) contrôlant les expressions respectives des transgènes *barnase* et *barstar* dans MS11,
- la méthodologie de la quantification des protéines et l'interprétation des résultats.

3. concernant l'analyse comparative

Faute de trouver des données satisfaisantes dans les références incluses dans le dossier, le CS du HCB invite le pétitionnaire à rendre disponibles les données brutes de l'évaluation comparative

du colza RF3, permettant de réaliser une analyse statistique (tests de différence et d'équivalence) des différentes caractéristiques de la lignée.

Le CS du HCB note que certains caractères pertinents pour évaluer les risques associés à une importation n'ont pas été mesurés. Les traits liés à la biologie de la reproduction et au risque de dissémination par flux de gènes devraient être analysés à cette fin.

4. concernant l'évaluation des risques pour l'environnement

S'agissant d'un dossier de demande d'autorisation d'importation de colza dans l'Union européenne, le CS du HCB souhaiterait :

- une meilleure considération des différentes plantes apparentées au colza présentes dans l'Union européenne, avec des précisions sur leurs différentes aptitudes à l'hybridation avec le colza,
- une meilleure considération des facteurs particuliers de dissémination du colza à partir d'une dispersion non intentionnelle hors champ,
- plus d'information sur l'adaptation (potentiel de survie, production de descendance...) aux conditions européennes de variétés de colza de type « printemps » en général et de ce colza en particulier,
- la prise en compte de la présence de plantes mâle-stériles dans la descendance des hybrides MS11 x RF3 et une analyse de ses conséquences en termes d'avantage sélectif : les descendances des variétés hybrides importées présenteront une fréquence non négligeable de plantes mâle-stériles, dont l'hybridation avec d'autres variétés de colza ou des espèces apparentées devrait être facilitée par rapport à des plantes de variétés totalement mâle-fertiles. Il est par ailleurs possible que les descendants hybrides bénéficient d'un avantage sélectif significatif en situations de contraintes du fait de l'effet de vigueur hybride attendu ;
- la définition explicite de conditions spécifiques de manipulation des graines importées pour contrôler le risque de dissémination non intentionnelle de ce colza.

Enfin, le CS du HCB souhaiterait signaler le retrait des autorisations de mise sur le marché en France des produits phytopharmaceutiques à base de glufosinate d'ammonium par décision de l'Anses en date du 24 octobre 2017, ce qui implique que le transgène *bar* ne procurerait aucun avantage sélectif aux plantes transgéniques qui le porteraient en France.

5. concernant les plans de surveillance post-commercialisation

Le CS du HCB demande au pétitionnaire de détailler (1) les mesures précises préconisées pour minimiser le risque avéré de dissémination fortuite de graines de colza GM entre les ports d'arrivée et les usines de trituration ou suite à un accident industriel et (2) les mesures de surveillance pour détecter les repousses du colza MS11 x RF3 et de ses dérivés de ségrégation, en complément des mesures fournies pour les détruire si elles sont détectées.

Le CS du HCB recommande une étroite collaboration du pétitionnaire avec les autorités compétentes nationales, les gestionnaires des voies de transport empruntées et les opérateurs et acteurs locaux pour que ces mesures soient définies de manière circonstanciée, en prenant en compte les spécificités du pays d'importation.

Remarques supplémentaires :

- Le CS du HCB note que la norme de pureté variétale réglementaire au Canada est de 75 %, ce qui implique que potentiellement 25 % des semences F1 (vendues comme MS11 x RF3 aux producteurs canadiens) pourraient être hors-types, potentiellement le résultat du croisement de MS11 avec d'autres OGM, et dans tous les cas ne correspondant pas au

matériel évalué dans ce dossier. Parmi ces hors-types, 50 % de plantes seront mâle-stériles, et 50 % produiront des graines F2, qui pourront être importées avec la descendance F2 du croisement MS11 x RF3.

- Certains membres du CS du HCB soulignent qu'une étude plus large serait souhaitable concernant les conséquences en Europe de la culture du colza hybride MS11 x RF3 dans des pays tiers exportateurs, non seulement en termes socioéconomiques, mais également en termes de biodiversité. Ils rappellent que, dans le cadre de la Convention pour la diversité biologique, les pays exportateurs ont des responsabilités internationales sur les espèces menacées. Ils suggèrent que le dossier fasse état des résultats d'une analyse d'impact de la culture sur la biodiversité des pays producteurs exportateurs. De plus, ils recommandent une étude supplémentaire pour évaluer l'influence de l'importation de certains produits sur le choix des cultures en Europe, et donc sur la biodiversité résultant de ces choix agrosystémiques.
- Enfin, certains membres du CS du HCB soulèvent la question éthique d'autoriser l'importation dans l'Union européenne d'un produit dont la production dans les pays exportateurs impliquera l'exposition des opérateurs à un produit phytopharmaceutique qui a été retiré du marché français pour des raisons sanitaires.

2.2. Commentaires par sections définies par l'EFSA

N.B. : Les titres soulignés correspondent aux sections réglementaires du dossier et aux différents formulaires mis à disposition par l'EFSA pour la collecte de commentaires en ligne. Seules les sections pour lesquelles le HCB transmet des commentaires sont indiquées ici. Chaque commentaire est écrit de manière indépendante. La somme des commentaires n'est pas destinée à constituer un texte en soi.

1. Hazard identification and characterization

1.1 Information relating to the recipient or (where appropriate) parental plants

a) Complete name

Part II Scientific information, Main text, p. 15 :

“(i) family name Cruciferae (Brassicaceae)”

Brassicaceae est le nom de famille officiel actuel, contrairement à *Cruciferae* qui était utilisé antérieurement ; donc formellement formuler *Brassicaceae (Cruciferae)*.

b) Geographical distribution and cultivation of the plant within the Union

Ce titre devrait être corrigé en "*Geographical distribution and cultivation of the plant, including its distribution within the Union*" conformément aux exigences scientifiques énoncées dans l'annexe II du règlement d'exécution (UE) n° 503-2013, et l'information de culture hors Union européenne devrait être apportée. Cette information est d'autant plus pertinente qu'il s'agit d'un dossier de demande d'autorisation d'importation dans l'Union européenne.

Part II Scientific information, Main text, p. 15 :

"Today varieties of three species of Brassica (B. napus, B. rapa and B. juncea) are commercialized with double low characteristics (low erucic acid content in the oil and very low glucosinolate content in the meal), characteristics desirable for high-quality vegetable oil and high-quality animal feed."

Il faudrait noter que des variétés à haute teneur en acide érucique sont cultivées, au moins en France et en Allemagne, pour des utilisations non alimentaires (en particulier pour la fabrication d'érucamide (additif de matières plastiques ou tensioactif dans des formulations améliorant la récupération assistée du pétrole brut, et dans des formulations cosmétiques grasses), d'acide brassilique et d'acide pélargonique (production de plastifiants, de nylon, parfums), ainsi que des variétés à haute teneur en acide oléique et à faible teneur en acide linoléique principalement pour l'utilisation en friture de l'huile de colza.

Il est également notable qu'en Inde (*B. juncea*) et en Chine (*B. napus*), des variétés à haute teneur en acide érucique sont encore commercialisées pour l'alimentation humaine.

Part II Scientific information, Main text, p. 15 :

"B. napus can be subdivided into winter and spring forms."

Même si l'on a coutume de distinguer les variétés de colza en ces deux cultigrupes « hiver » et « printemps », la distribution des types variétaux en fonction de la précocité, des besoins en vernalisation, de la réponse à la photopériode apparaît de plus en plus continue du fait d'un contrôle polygénique. En conséquence, il aurait été utile de nuancer le propos et de donner des références récentes dans ce domaine (Nelson et al., 2014; Schiessl et al., 2015; Xu et al., 2016).

Part II Scientific information, Main text, p. 15 :

"The main oilseed rape producers in the EU are Germany, France, Poland, UK and Romania. In 2013, the cultivated surface was of 5 784 300 ha, 4 370 075 ha, 2 677 665 ha, 2 128 000 ha and 666 097 ha, respectively (see Table 1.1.1)."

La Tchéquie devrait également être citée (1.443.210 tonnes de colza produit en 2013), ainsi que, du fait d'importations importantes vers l'Union européenne, le développement spectaculaire, ces dernières années, des productions de colza en Europe de l'Est (Ukraine, Biélorussie et Russie). Par ailleurs, les chiffres cités sont des tonnes de production et non des surfaces cultivées (Source : FAOSTAT, consultée le 18 avril 2018). Enfin, il semblerait pertinent et conforme à la réglementation d'indiquer de façon plus ciblée les volumes d'importation provenant de pays hors UE, pour l'ensemble de l'Europe et pour chacun des pays européens (du fait d'échanges importants au sein même de l'Union européenne), et plus précisément des importations à partir du Canada, d'Australie et des Etats-Unis, pays *a priori* les plus susceptibles d'exporter des graines de colza GM.

c) Information on the recipient or parental plants relevant to their safety, including any known toxicity or allergenicity

Part II Scientific information, Main text, p. 17 :

"In the oil processing of oilseed rape heat is applied to inactivate myrosinase, thereby preventing GSL hydrolysis (Underhill, 1980^{M-251508-01-1}; Macrae et al., 1993^{M-251509-01-1})."

C'est en effet généralement le cas, cependant certaines unités de trituration en Europe commencent à utiliser des techniques d'extraction de l'huile à basses températures afin de ne

pas dégrader la qualité des protéines du tourteau, sachant que le tourteau gras issu de ces procédés est très bien valorisé en alimentation animale.

Part II Scientific information, Main text, p. 18 :

"In Canada and the USA, the standard for glucosinolate content in dried canola meal is set at a maximum of 30 mmol/kg dry matter. In the EU, certified seed of double low varieties should have a maximum glucosinolate concentration of 25 mmol/kg at a moisture content of 9% (EFSA, 2008)."

Il pourrait toutefois être souligné que les variétés de colza de printemps d'origine nord-américaine ont globalement des teneurs en glucosinolates très inférieures à celles des variétés de colza d'hiver européennes.

Part II Scientific information, Main text, p. 18 :

"In the European Union, the threshold is maximum 2% erucic acid in total fatty acids (EC, 2014)."

Le seuil actuellement appliqué dans l'Union européenne est en fait de 5 % (50 g/kg), conformément au règlement (incorrectement) cité par le pétitionnaire (EU, 2014). Il est possible que ce seuil passe à 2 % prochainement suite à l'avis de l'EFSA sur l'acide érucique (EFSA, 2016).

d) Data on the past and present use of the recipient plant

i) the history of safe use for consumption as food and/or feed

Part II Scientific information, Main text, p. 18 :

"Unprocessed oilseed rape has no food or feed use (OECD, 2011)."

La graine entière de colza peut être utilisée après broyage à la ferme en alimentation animale. Le volume concerné reste toutefois faible.

Part II Scientific information, Main text, p. 18 :

"Oilseed rape oil suitable for human consumption must have low erucic acid content."

Si c'est effectivement le cas des productions en Europe, en Amérique du Nord et en Australie, des variétés à haute teneur en acide érucique sont encore commercialisées pour l'alimentation humaine en Inde (*B. juncea*) et en Chine (*B. napus*).

iii) whether special processing is required to make the plant safe to eat

Part II Scientific information, Main text, p. 22 :

"Canola meal has, as yet, not found wide acceptance in human nutrition despite the high quality of its protein due to the presence of the anti-nutritional factors like phytate and glucosinolates."

C'est en effet encore le cas en Europe. Cela dit, il semble qu'une société canadienne ait fortement progressé dans l'extraction de protéines de colza et commercialise depuis peu en Amérique du Nord ces protéines pour l'alimentation humaine. Des programmes de recherche sont conduits en Europe avec cet objectif (RaPEQ en Allemagne; SeedProt en France). On peut

donc s'attendre à ce que les protéines de colza soient utilisées en alimentation humaine dans le futur.

e) Additional information relating to the recipient or parental plants required for the environmental safety aspects

(i) information concerning reproduction

Part II Scientific information, Main text, p. 24 :

"It is believed that the majority of pollen does not remain airborne for significant periods of time (MacDonald, 2003)."

Il serait intéressant de préciser ce que signifie "*for significant periods of time*" car ceci n'est pas précisé dans le rapport cité.

(ii) sexual compatibility with other cultivated or wild plant species

Part II Scientific information, Main text, p. 27 :

*"The possibility of gene flow from oilseed rape (*B. napus*) to wild relatives under natural conditions has been reported, mostly under optimal conditions, on four species: *Brassica rapa* (synonym *Brassica campestris*), *Brassica juncea*, *Hirschfeldia incana*, *Raphanus raphanistrum*."*

En plus de ces quatre espèces susceptibles de s'hybrider avec *Brassica napus* en conditions naturelles, il faut ajouter la moutarde noire (*B. nigra*), présente dans les champs de colza dans le Sud de la France, laquelle n'est pas mentionnée dans le texte. Son hybridation avec le colza est possible, même si difficile (Jahier et al., 1989).

Par ailleurs, il aurait été utile de préciser dès cette partie les spécificités pour chacun des croisements (croisements plus faciles pour certaines espèces) au lieu de généraliser. Ainsi dans le cas de la navette (*B. rapa*), même si les hybrides sont moins fertiles que du colza, la recombinaison permet aisément l'introggression de gènes du colza (Leflon et al., 2007; Leflon et al., 2010). La roquette bâtarde (*Hirschfeldia incana*) peut être trouvée dans les champs de colza ; cependant si cette espèce peut effectivement s'hybrider avec le colza, le génome de colza semble éliminé dans sa descendance (Chèvre et al., 1996; Darmency and Fleury, 2000). La ravenelle (*Raphanus raphanistrum*) et la moutarde des champs (*Sinapis arvensis*) sont les deux principales adventices du colza (Chèvre et al., 2004). Pour la ravenelle, l'hybridation est extrêmement rare bien que démontrée au Canada (Warwick et al., 2003), en Australie (Rieger et al., 2001) et en France (Chèvre et al., 2000), à des fréquences similaires de 10^{-5} à 10^{-7} . Bien que les hybrides de première génération soient peu fertiles, les plantes retrouvent une fertilité au fil des générations de pollinisation par la ravenelle (Chèvre et al., 1997). Par ailleurs, des travaux récents (Adamczyk-Chauvat et al., 2017) indiquent que des gènes portés par le colza peuvent être intégrés de façon stable dans le génome de la ravenelle mais que ces échanges entre génomes dépendent fortement de la position initiale des gènes sur les chromosomes du colza. Concernant la moutarde des champs, l'hybridation avec le colza est effectivement rare et les descendances des hybrides n'ont pu être étudiées (Chèvre et al., 1996; Warwick et al., 2003).

(iii) Survivability (ability to form structures for survival or dormancy, specific factors, if any, affecting survivability)

Ability to form structures for survival or dormancy

Part II Scientific information, Main text, p. 27 :

"Oilseed rape is an annual plant that survives through seed formation. If seeds are buried due to e.g. cultivation, they may persist for periods of up to ten years under ideal conditions (MacDonald, 2003)."

Il faudrait préciser ce que « conditions idéales » signifie. Des études ont mis en évidence que les graines persistent dans les sols perturbés au moins 5 ans et jusqu'à 10 ans et plus dans les sols non perturbés (Chadoeuf et al., 1998; Madsen, 1962; Pekrun et al., 1997; Vaughan et al., 1976).

Specific factors affecting survivability, if any.

Part II Scientific information, Main text, p. 27 :

"As most of the oilseed rape seeds that fall on the ground after harvesting will still germinate before the winter season, these seedlings will be destroyed by winter conditions."

Le dossier ne fait référence ici qu'aux conditions de culture en plein champ. Dans les conditions climatiques océaniques des ports d'importation, les repousses de colza de printemps ne sont pas systématiquement détruites pendant l'hiver.

Dans cette partie du document, il serait souhaitable de trouver des données concernant la survie des graines et la production de descendances dans des situations hors champ, en lien en particulier avec la dissémination de graines lors du transport de celles-ci du port à l'organisme stockeur puis à l'usine de trituration. Il faut noter que les graines issues de pertes accidentelles le long des champs, des routes et des aires de stockage pourraient germer à différentes périodes de l'année et donner des plantes capables de survivre aux conditions hivernales, même si ces graines proviennent de variétés de printemps. Le colza importé sera de type printemps, donc pourra fleurir avant (mars), pendant ou après le colza d'hiver (juin), selon la date de germination de la graine.

Concernant les facteurs influençant la survie des graines, il serait souhaitable de préciser que la persistance des graines dépend de la dormance des graines dans la banque de graines et de leur distribution verticale dans le sol, les graines survivant mieux en profondeur (Pekrun et al., 1998; Simard et al., 2002). Par ailleurs, il a été montré que d'anciennes variétés pouvaient persister hors des champs jusqu'à 9 ans (Gulden et al., 2003; Pessel et al., 2001; Simard et al., 2002).

(iv) Dissemination

ways and extent of dissemination (for example an estimation of how viable pollen and/or seeds declines with distance)

Aucune référence, en dehors du rapport interne (McDonald, 2003), ne vient étayer ce paragraphe consacré à la dissémination et notamment concernant la pollinisation à longue distance alors que des travaux scientifiques plus récents concernant les modes de vecteur du pollen à longue distance responsables de cette dispersion et l'évaluation des risques qui en découlent sont nombreux (exemple de publications à prendre en compte : (Chifflet et al., 2011; Cresswell, 2005; Devaux et al., 2007; Devaux et al., 2005; Hayter and Cresswell, 2006; Hoyle et al., 2007). Le transfert de pollen fécondant sur des distances supérieures au km via les insectes a clairement été mis en évidence (par exemple, Chifflet et al., 2011).

special factors affecting dissemination, if any

Concernant la dissémination du pollen, il n'est question que d'abeilles domestiques ou de bourdons comme vecteur de pollinisation alors qu'une grande diversité d'hyménoptères et de

mouches transportent du pollen fécondant entre différentes plantes de colza et ce, sur des distances qui excèdent le kilomètre (Chifflet et al., 2011).

La dissémination des graines suite à des pertes accidentelles le long des voies de transport n'est pas mentionnée non plus. Dans le cas d'une importation, il pourrait *a priori* s'agir des pertes par les camions de transport (von der Lippe and Kowarik, 2007), par les camions et les trains lors de l'arrivée des graines dans les ports et leur transport vers les sites de trituration (Aono et al., 2006; Kawata et al., 2009; Nishizawa et al., 2009; Saji et al., 2005).

La dispersion de ces graines accidentellement tombées le long des voies de transport peut être accentuée par un entraînement secondaire dû au souffle de vent induit par les véhicules, qui peut donner lieu à des descendants viables jusqu'à plus de 20 m du lieu initial de dissémination (Garnier et al., 2008).

D'autre part, il n'est pas fait référence au fait que la descendance F2 des graines de variétés hybrides comme MS11 x RF3 présentera environ 3/32 de plantes mâle-stériles, lesquelles faciliteront l'hybridation intra et interspécifique par rapport à l'hybride mâle-fertile.

(v) geographical distribution within the Union of the sexually compatible species

Part II Scientific information, Main text, p. 28 :

"The main oilseed rape producers in the EU are Germany, France, Poland, UK and Romania. In 2013, they harvested 5 784 300 ha, 4 370 075 ha, 2 677 665 ha, 2 128 000 ha and 666 097 ha, respectively (see Table 1.1.1)."

Ces chiffres représentent des tonnes et non des hectares (Source : FAOSTAT, consultée le 18 avril 2018).

Part II Scientific information, Main text, p. 28 :

"The main four compatible species of B. napus (Brassica rapa, Brassica juncea, Hirschfeldia incana, Raphanus raphanistrum) are found throughout Europe, with Hirschfeldia incana primarily found in Southern Europe. However, the frequency of gene flow from oilseed rape to these wild relatives under natural conditions is considered very low and the fitness of the interspecific hybrids is generally reduced compared to the parents. Therefore, stable introgression of a new trait in the weed species genome is confirmed to be extremely difficult (MacDonald, 2003)."

La moutarde noire devrait également être mentionnée parmi les espèces susceptibles de s'hybrider avec le colza en Europe. Cette espèce n'existe certes pas en Amérique du Nord, mais le dossier devrait être adapté aux conditions européennes.

(vii) Other potential interactions

Part II Scientific information, Main text, p. 29 :

"The scope of this application does not include cultivation of MS11 B. napus seeds in the EU."

Le document fait certainement référence à MS11 x RF3 et non MS11.

1.2 Molecular Characterisation

1.2.1. Information relating to the genetic modification

1.2.1.3 Source of donor nucleic acid(s) used for the transformation, size and intended function of each constituent fragment of the region intended for insertion

Commentaires sur la lignée parentale MS11 (dossier EFSA-GMO-BE-2016-138 en cours d'évaluation) concernant une information nécessaire à l'évaluation de l'empilage MS11 x RF3 (présent dossier) :

Dossier EFSA-GMO-BE-2016-138, *Part II Scientific information*, Main text, p. 29 :

"The barnase gene in MS11 Brassica napus is driven by the Pta29 promoter that restricts gene expression to the tapetum cells during anther development."

L'activité et la spécificité du promoteur *Pta29* contrôlant l'expression du gène *barnase* dans la lignée MS11 mériteraient d'être mieux caractérisées au vu (1) de l'intérêt rapporté d'exprimer la protéine Barstar sous le contrôle du promoteur *Pnos* dans la plante (voir ci-dessous) et (2) de la détection de la protéine Barnase dans les racines de la lignée MS11 x RF3 (présent dossier EFSA-GMO-NL-2017-143, 1.2.2.3).

Dossier EFSA-GMO-BE-2016-138, *Part II Scientific information*, Main text, p. 39 :

"This prophylactic barstar gene in MS11 B. napus, driven by the Pnos promoter, was included to enhance transformation frequency."

Présent dossier (Dossier EFSA-GMO-NL-2017-143), *Part II Scientific information*, Main text, p. 33 :

"This prophylactic barstar gene, driven by the Pnos promoter, is included to enhance transformation frequency. In this regard, this invention is based on the observation that, under some circumstances, a chimeric gene such as the barstar gene, introduced together with a male-sterility gene such as a gene comprising barnase DNA can decrease the between-transformant variability in expression of the male-sterility gene, and of its resulting phenotype, and can increase the frequency of transformants having good agronomical performance (i.e. a higher percentage of good male-sterile plants)."

Le CS du HCB souhaiterait que la fonction de Barstar dans MS11 soit mieux explicitée. L'explication citée ci-dessus, répétée de multiples fois à l'identique dans le dossier EFSA-GMO-BE-2016-138 et légèrement développée dans le dossier EFSA-GMO-NL-2017-143, mériterait d'être approfondie. La notion de "*good male-sterile plants*" devrait être développée. L'activité et la spécificité du promoteur *Pnos* chez le colza mériteraient également d'être mieux caractérisées, en plus de celles déjà mentionnées du promoteur *Pta29* contrôlant l'expression du gène *barnase*.

Sur ce point, le CS du HCB estime que le pétitionnaire pourrait fournir des données comparatives entre MS11 et MS8 pour mieux documenter l'intérêt d'exprimer *barstar* sous le contrôle de *Pnos* en plus de *barnase* sous le contrôle de *Pta29* dans MS11.

1.2.2 Information relating to the genetically modified plant

1.2.2.1 General description of the trait(s) and characteristics which have been introduced or modified

Le CS du HCB souhaiterait que la fonction de Barstar dans MS11 soit mieux explicitée.

1.2.2.2 Information on the sequences actually inserted/deleted

Commentaire sur la lignée parentale MS11 (dossier EFSA-GMO-BE-2016-138 en cours d'évaluation) : le CS du HCB s'interroge sur la différence de taille observée entre l'ADN-T destiné à l'insertion dans la plante et l'insertion effective dans la lignée parentale MS11. Il semblerait que 87 pb aient été perdues lors de la transformation génétique ; un commentaire du pétitionnaire localisant cette délétion et relativisant son impact sur la fonctionnalité de l'ADN-T serait attendu.

(Dans l'empilage, le CS du HCB note que les insertions provenant des lignées MS11 et RF3 sont retrouvées dans leur intégralité.)

1.2.2.3 Information on the expression of the insert(s)

Part II Scientific information, Main text, p. 50 :

“Based on the observed overlapping ranges of measured analyte concentrations, it appears that Barnase, Barstar and PAT/bar are similarly expressed when comparing MS11 x RF3 B. napus to MS11 and RF3 B. napus (see Table 1.2.4, Table 1.2.5 and Table 1.2.6 for data in grain and report M-542702-01-1. Therefore, it can be concluded that there are no indications for interactions between the single events in MS11 x RF3 B. napus.”

Les conclusions du pétitionnaire concernant les interactions entre les événements à partir de l'expression des transgènes sur un mode descriptif global sont insuffisantes. Aucune explication n'est apportée sur le raisonnement suivi pour conclure qu'il n'y a pas d'indications d'interactions entre les événements simples au sein de l'empilage. Cet empilage est précisément un cas particulier où des protéines apportées par différentes lignées parentales (Barnase et Barstar) sont destinées à interagir de façon spécifique au sein de l'empilage. Cette interaction se traduit-elle (devrait-elle se traduire ?) au niveau de la synthèse, ou plus précisément de la détection et de la quantification de ces protéines ? Le pétitionnaire devrait être plus clair dans ses conclusions. Par ailleurs, en termes d'interactions au niveau des acides nucléiques, quelle serait la marque d'une interaction – ou d'une absence d'interaction – entre les différentes copies de *bar* ou de *barstar*, ou entre les différentes copies des promoteurs *Pta29*, *Pnos* et *PssuAt* apportées par les deux lignées parentales, autre qu'un effet de silençage significatif ? Comment concevoir et analyser une expérience de manière satisfaisante si ce que l'on cherche à identifier n'a pas été clairement défini ?

Le CS du HCB souhaiterait des clarifications et précisions sur la méthodologie suivie pour la quantification des protéines et sur l'analyse et l'interprétation des résultats :

- justification du nombre relativement faible d'échantillons analysés,
- justification du regroupement des données provenant d'échantillons non disponibles et des données sous la limite de détection, ou, à défaut, séparation claire de ces données,
- prise en compte de la fonction cytotoxique de Barnase et ses conséquences sur la détection de la protéine,
- prise en compte de la formation du complexe entre les protéines de Barnase et Barstar et ses conséquences sur la détection de chaque protéine dans MS11 et dans l'empilage,
- considération des différents promoteurs contrôlant l'expression de chaque protéine,
- indications sur l'analyse comparative effectuée entre les expressions observées dans les lignées parentales et celles observées dans l'empilage.

Certains résultats devraient appeler des commentaires spécifiques du pétitionnaire, comme la détection de Barnase dans des échantillons racinaires de MS11 x RF3, ou la grande variabilité des concentrations rapportées pour PAT pour certains lots d'échantillons.

1.3 Comparative assessment

1.3.1 Choice of the conventional counterpart and additional comparators

Le CS du HCB remarque que contrairement aux plantes MS11, les plantes RF3 ne sont pas testées dans les essais au champ du présent dossier d'évaluation de l'empilage MS11 x RF3. Bien que non réglementairement requise, l'inclusion de chaque lignée parentale aux côtés de l'empilage permet de tester, via une comparaison directe, l'existence d'interactions entre les événements de transformation au sein de l'empilage qui résulteraient en des différences agronomiques, phénotypiques ou compositionnelles avec les lignées parentales.

1.3.2 Experimental design and statistical analysis of data from field trials for comparative analysis

1.3.2.1 Description of the protocols for the experimental design

Le CS du HCB note que, si la localisation des sites choisis pour les essais au champ est appropriée pour couvrir les conditions nord-américaines attendues pour la culture des lignées parentales et de l'empilage MS11 x RF3 et la production de graines en résultant, elle ne permet pas de tester les conditions européennes dans lesquelles une fuite accidentelle de graines importées pourrait éventuellement conduire à l'établissement de repousses.

S'agissant de variétés de type « printemps » adaptées au climat nord-américain mais peu représentées en Europe, il aurait été d'autant plus intéressant d'évaluer l'adaptation au climat européen, et l'impact du climat sur la capacité de dispersion et de persistance : résistance au froid et effet de la vernalisation sur la biologie de la reproduction, par exemple.

1.3.3 Selection of material and compounds for analysis

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

1.3.4 Comparative analysis of composition

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

1.3.5 Comparative analysis of agronomic and phenotypic characteristics

Le CS du HCB note que, si la lignée parentale MS11 est incluse dans les essais au champ destinés à l'analyse comparative de l'empilage MS11 x RF3, ce n'est pas le cas de RF3. Bien que non réglementairement requise, l'inclusion de chaque lignée parentale aux côtés de l'empilage permet de documenter, via une comparaison directe, l'existence d'interactions entre les événements de transformation au sein de l'empilage qui résulteraient en des différences agronomiques, phénotypiques ou compositionnelles avec les lignées parentales. Par ailleurs, les informations complètes concernant les événements simples sont nécessaires pour couvrir l'évaluation de la descendance ségrégant de l'empilage.

Selon le règlement d'exécution (UE) n° 503-2013, le pétitionnaire est tenu de fournir une évaluation des risques présentés par chaque événement de transformation simple ou faire

référence à la ou aux demandes déjà introduites⁸. Le CS du HCB a donc recherché des informations dans de précédents dossiers concernant la lignée RF3. Les seules informations agronomiques trouvées pour la variété RF3 figurent dans l'annexe « Weston, 1998.pdf » du dossier RX-MS8-RF3, dans le fond génétique Drakkar. Les résultats y sont présentés sous la forme de tableaux de valeurs moyennes des traits. Ces données ne permettent pas de tester par des analyses statistiques pour chacun des traits de RF3 la différence avec un comparateur non transgénique ni l'équivalence avec un panel de variétés de référence. Le pétitionnaire est invité à envoyer de nouvelles données ou localiser de manière précise dans des dossiers précédents des données pré-existantes sur la lignée RF3.

Les données agronomiques disponibles concernant les événements simples MS11 et RF3 et l'empilage MS11 x RF3 montrent des différences avec le comparateur non transgénique uniquement en condition de traitement au glufosinate d'ammonium. Les différences sont concordantes : on observe toujours une plus grande tardiveté et/ou une moindre vigueur et/ou un moindre rendement des plantes transgéniques traitées avec un herbicide contenant du glufosinate d'ammonium par rapport au comparateur non transgénique traité avec un régime conventionnel d'herbicide. Bien que cette hypothèse ne soit pas avancée par le pétitionnaire, ces phénotypes pourraient éventuellement résulter d'une certaine phytotoxicité du glufosinate d'ammonium malgré la présence du gène *bar*.

Le CS du HCB note que lorsque l'équivalence de l'empilage avec un panel de variétés peut être testée, elle est toujours vérifiée. Les différences observées restent donc dans la gamme de variation des variétés de référence de colza testées, variétés commerciales représentatives des variétés cultivées au Canada et aux Etats-Unis.

Concernant les caractères testés, le CS du HCB aurait souhaité que certains caractères pertinents pour l'évaluation des risques associés à une importation soient mesurés. Il s'agit notamment de la viabilité et de la dormance des graines produites par l'empilage MS11 x RF3, dont l'analyse est spécifiée dans les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2015). De même, plusieurs traits phénologiques liés à la biologie de la reproduction et au risque de dissémination par flux de gènes n'ont pas été mesurés, tels que le taux d'autofécondation, la production et la viabilité du pollen ou l'attractivité pour les insectes pollinisateurs.

1.3.6. Effects of processing

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

1.4. Toxicology

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

⁸ Extrait du règlement d'exécution (UE) n° 503-2013, Annexe II : « Pour l'évaluation des risques présentés par des denrées alimentaires ou aliments pour animaux génétiquement modifiés contenant des événements de transformation empilés obtenus par croisement classique de plantes génétiquement modifiées contenant un ou plusieurs événements de transformation, le demandeur doit fournir une évaluation des risques présentés par chaque événement de transformation simple ou, conformément à l'article 3, paragraphe 6, du présent règlement, faire référence à la ou aux demandes déjà introduites. »

1.5. Allergenicity

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

1.6. Nutritional assessment

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

2. Exposure assessment – anticipated intake or extent of use

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

3. Risk characterisation

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

4. Post-market monitoring on the genetically modified food or feed

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le ministère de l'Economie et des Finances.

5. Environmental assessment

5.3 Specific areas of risks

5.3.1 Persistence and invasiveness including plant-to-plant gene flow

Si l'analyse du CS du HCB conclut à une probabilité limitée de dissémination, persistance et envahissement de ce colza GM et de sa descendance, ce n'est qu'à la condition du respect de procédures spécifiques de gestion et de surveillance destinées à encadrer les conditions de manipulation des graines importées. Le raisonnement suivi par le pétitionnaire dans cette partie lui semble confus et lacunaire.

L'exposition à l'environnement de ce colza et de ses dérivés de ségrégation résulterait initialement d'une fuite non intentionnelle de graines lors des opérations de déchargement des bateaux et de transport jusqu'aux usines de trituration.

Occurrence de fuites non intentionnelles de graines de colza GM et établissement de populations férales :

Si ces fuites sont rares, comme le souligne le pétitionnaire dans le dossier, l'expérience montre qu'elles ne sont pas négligeables. Des populations férales de colza issues de fuite de graines lors de l'importation de colza transgénique ont été mises en évidence au Japon (Aono et al., 2006; Katsuta et al., 2015; Kawata et al., 2009; Nishizawa et al., 2009; Saji et al., 2005). Ces populations s'installent dans des zones dégagées où la végétation a déjà été éliminée par l'adjonction d'herbicides. De plus, l'existence de flux de transgènes entre plantes de ces populations férales a été suggérée par la détection, au Japon, de plantes férales de colza contenant une combinaison de deux transgènes provenant de différents colza GM non autorisés à la culture (Aono et al., 2006). Le CS du HCB note que le suivi pluriannuel de ces populations férales dans différents ports

d'importation a mis en évidence le caractère non invasif des colzas résistants à certains herbicides dans les conditions japonaises (Katsuta et al., 2015).

Des populations férales de colza peuvent persister et se maintenir plusieurs années (Pessel et al., 2001; Schafer et al., 2011). Les graines des populations férales persistent dans le sol formant une banque de graines, et si une population n'émerge pas une année donnée, elle peut réapparaître plus tard et être dispersée dans le paysage par les engins agricoles ou les véhicules (Garnier et al., 2008).

L'évaluation par le pétitionnaire des avantages sélectifs de MS11 x RF3 et de son éventuelle descendance sous forme de repousses ou populations férales, et la capacité de ces dernières à s'hybrider avec d'autres variétés de colza ou des espèces apparentées est incomplète :

- si l'analyse agronomique et phénotypique effectuée par le pétitionnaire n'a pas mis en évidence de caractéristiques susceptibles d'accroître la dissémination du colza GM par rapport au colza non GM, le CS du HCB note que :
 1. les traits liés à la biologie de la reproduction et au risque de dissémination par flux de gènes n'ont pas été évalués (viabilité et dormance des graines, taux d'autofécondation, production et viabilité du pollen, attractivité pour les insectes pollinisateurs),
 2. les conditions européennes dans lesquelles des repousses seraient susceptibles de s'établir suite à une dissémination non intentionnelle de graines n'ont pas été correctement considérées (le CS du HCB note ici que les départements et régions d'outre-mer français ne sont pas concernés aujourd'hui par des importations de graines de colza GM et ne nécessitent donc pas d'évaluation de conditions supplémentaires),
 3. par ailleurs, dans les conditions réelles de production commerciale de l'hybride MS11 x RF3 à partir de lignées parentales de fonds génétiques différents (et non d'un fond génétique commun, utilisé dans ce dossier aux fins de l'évaluation), il est important de souligner qu'un effet résiduel d'hétérosis est attendu dans la descendance de l'hybride ;
- le gène *bar* présent dans les deux lignées parentales, dans l'hybride ainsi que dans une proportion majoritaire de sa descendance, apporte un avantage sélectif aux plantes transgéniques en présence d'herbicide à base de glufosinate d'ammonium. Le CS du HCB note qu'en France, les autorisations de mise sur le marché des herbicides à base de glufosinate ont fait l'objet d'une procédure de retrait⁹ qui conduira à l'interdiction de leur utilisation en France à partir du 24 octobre 2018¹⁰. Suite à cette interdiction, le transgène ne devrait donc pas conférer d'avantage sélectif aux plantes qui le portent en France ;
- le système de technologie hybride basé sur l'expression des gènes *barnase* et *barstar* dans les cellules du tapis des anthères des lignées respectives MS11 et RF3 conduit à la présence de 3/32^{ème} de mâle-stériles (MSMS/-- ; MS/--) dans la descendance par autofécondation de MS11 x RF3. La capacité d'hybridation des mâle-stériles avec d'autres variétés de colza ou des espèces apparentées est bien supérieure à celle des mâle-fertiles (contrairement à ce que le pétitionnaire indique à plusieurs reprises dans cette section, il existe plusieurs espèces apparentées susceptibles de se croiser avec du colza dans l'Union européenne (voir les commentaires du CS du HCB sur la section 1.1.e)). Pour le CS du HCB, la possibilité que les descendances des mâle-stériles présentent un avantage sélectif en situation de contraintes

⁹ <https://www.anses.fr/fr/content/l%E2%80%99anses-proc%C3%A8de-au-retrait-de-l%E2%80%99autorisation-de-mise-sur-le-march%C3%A9-du-basta-f1-un-produit>.

¹⁰ Les conclusions de l'évaluation de l'Anses concernant le BASTA F1 (seul produit phytopharmaceutique à base de glufosinate autorisé aujourd'hui en France) sont disponibles à ce lien : https://www.anses.fr/fr/system/files/BASTAF1_PREX_2009-1546_Ans.pdf, et la décision de retrait à celui-là : https://www.anses.fr/fr/system/files/BASTAF1_PREX_2009-1546_D.pdf.

du fait de l'effet d'hétérosis attendu, ainsi que la dynamique de transfert de la stérilité mâle dans une population sauvage, souvent fortement allogame, mériteraient d'être discutées.

Ces points peuvent être relativisés suite à l'analyse de l'ampleur de l'exposition attendue :

En pratique, il est difficile d'estimer l'ampleur du potentiel de dissémination et de persistance de ce colza sans avoir précisément localisé les zones potentielles de dissémination le long des voies d'importation, c'est-à-dire sans avoir localisé les éventuels centres de stockage et les usines de trituration des graines par rapport à leurs points d'entrée sur le territoire, et sans connaître les conditions de transport et les routes précises qu'emprunteront les graines de colza GM. Le pétitionnaire devrait donc, autant que possible, se procurer ces données pour évaluer les risques de dissémination de manière plus circonstancielle. Certaines données sont apportées dans la partie confidentielle du dossier. Il serait judicieux de mettre à jour le texte principal en tenant compte de ces données, ce qui peut être fait dans une certaine mesure sans divulguer d'informations confidentielles.

Concernant la France, le CS du HCB a obtenu des éléments d'information à partir du croisement des données de flux d'importation de graines de colza du Bureau des Douanes, des données de production de colza GM de l'ISAAA¹¹, des informations présentes dans la partie confidentielle du dossier ainsi que des informations obtenues auprès d'un opérateur actif sur le territoire français.

Troisième producteur mondial de colza, la France est majoritairement exportatrice au sein de l'Union européenne. Elle peut toutefois être amenée à importer du colza les années pour lesquelles les rendements sont relativement faibles, et en fonction de la qualité relative de ses récoltes ou de la spécificité des produits recherchés. Dans les années récentes, trois sites portuaires français ont vraisemblablement réceptionné des graines de colza GM, majoritairement produites au Canada et en moindre mesure en Australie. Ces graines ont été directement triturées dans une usine située sur le site de chacun de ses ports. Les conditions de déchargement des bateaux, transport et stockage jusqu'à la trituration des graines devraient en principe respecter des procédures spécifiques aux OGM destinées à limiter la dissémination des graines. Des procédures de nettoyage d'éventuelles graines perdues lors des manipulations, et de contrôle, manuel ou chimique, d'éventuelles repousses devraient y être associées.

Ces procédures devraient être définies dans le cadre du plan de surveillance post-commercialisation (PSPC) requis pour l'autorisation de la mise sur le marché de colza GM. En accord avec FEDIOL¹², EuropaBio¹³ et la Commission européenne, le risque de repousses à partir de fuites accidentelles de graines est explicitement couvert par ce plan depuis décembre 2013. Si les procédures sont mentionnées dans le PSPC du présent dossier, le CS du HCB regrette qu'elles ne soient pas clairement détaillées.

En tout état de cause :

- les risques identifiés de dissémination de colza GM par des fuites de graines accidentelles lors du déchargement des bateaux et du transport seront d'autant plus limités que ces procédures seront fiables et respectées, et que les distances de transport seront limitées (ex : déchargement par aspiration, circulation sur tapis roulant en circuit fermé, localisation de l'usine de trituration sur le site portuaire...);
- le risque identifié d'établissement de repousses et de populations férales suite à une fuite non intentionnelle de graines (ou suite à un accident industriel d'une autre nature) sera d'autant plus limité que les procédures de contrôle seront appliquées efficacement

¹¹ The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (<http://www.isaaa.org>), organisation internationale à but non lucratif qui diffuse de l'information sur les cultures de plantes génétiquement modifiées dans le monde.

¹² FEDIOL : Fédération d'industriels produisant les huiles et les tourteaux protéiques à usage alimentaire en Europe.

¹³ EuropaBio : Association européenne qui représente les intérêts des industries des biotechnologies.

(désherbage manuel ou chimique) et que les sites seront urbanisés voire totalement bétonnés ;

- les risques identifiés de croisement d'éventuelles repousses ou populations férales de colza GM avec d'autres variétés de colza ou des apparentées sauvages seront d'autant plus limités que les sites seront éloignés des bassins de culture de colza, pour la production de graines et de semences, et de plantes apparentées.

Il ressort de cette analyse que les risques, pour le colza MS11 x RF3 et sa descendance, de persistance, envahissement et hybridation avec d'autres variétés de colza ou des plantes apparentées, qui pourraient résulter en des plantes dotées d'un avantage sélectif en situations contraignantes du fait de la vigueur hybride attendue, devraient être contrôlés par des conditions et des mesures de gestion spécifiques (contrairement à ce qu'indique le pétitionnaire au paragraphe 5.3.1.5, qui conclut qu'aucune stratégie de gestion n'est nécessaire). Ces mesures de gestion et les modalités de surveillance associées devraient être détaillées dans le dossier. Leur mise en œuvre effective, leur suivi et leurs résultats devraient être décrits dans le rapport annuel de surveillance.

5.3.4 Interactions of the GM plant with non-target organisms (NTOs)

Dans les conditions définies dans les commentaires du CS du HCB sur la section 5.3.1 où la dissémination serait contrôlée, le CS du HCB convient qu'il n'est pas attendu d'exposition significative d'organismes non-cibles à la descendance du colza MS11 x RF3.

6. Environmental monitoring plan

Bien que le CS du HCB s'accorde sur le fait que le plan de surveillance post-commercialisation respecte toutes les exigences réglementaires, il estime que les méthodologies de surveillance pourraient être plus détaillées.

Le CS du HCB demande au pétitionnaire de détailler (1) les mesures précises préconisées pour minimiser le risque avéré de dissémination fortuite de graines de colza GM entre les ports d'arrivée et les usines de trituration ou suite à un accident industriel, et (2) les mesures de surveillance pour détecter les repousses du colza MS11 x RF3 et de ses dérivés de ségrégation, en complément des mesures déjà fournies pour les détruire si elles sont détectées.

Le CS du HCB recommande une étroite collaboration du pétitionnaire avec les autorités compétentes nationales, les gestionnaires des voies de transport empruntées et les opérateurs et acteurs locaux pour que ces mesures soient définies de manière circonstanciée, en prenant en compte les spécificités du pays d'importation.

3. Bibliographie

Adamczyk-Chauvat, K., Delaunay, S., Vannier, A., Francois, C., Thomas, G., Eber, F., Lode, M., Gilet, M., Huteau, V., Morice, J., *et al.* (2017). Gene introgression in weeds depends on initial gene location in the crop: *Brassica napus-Raphanus raphanistrum* model. *Genetics* 206, 1361-1372.

Aono, M., Seiji, W., Masato, N., Nobuyoshi, N., Masanori, T., Akihiro, K., and Hikaru, S. (2006). Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan. *Environ Biosafety Res* 5, 77-87.

- Chadoeuf, R., Darmency, H., Maillet, J., and Renard, M. (1998). Survival of buried seeds of interspecific hybrids between oilseed rape, hoary mustard and wild radish. *Field Crops Res* **58**, 197-204.
- Chèvre, A.M., Ammitzbøll, H.A., Breckling, B., Dietz-Pfeilstetter, A., Eber, F., Fargue, A., Gomez-Campo, C., Jenczewski, E., Jorgensen, R., Lavigne, C., *et al.* (2004). A review on interspecific gene flow from oilseed rape to wild relatives. In *Introgression from Genetically Modified Plants into Wild Relatives*, H.C.M. den Nijs, D. Bartsch, and J. Sweet, eds. (Cambridge, CABI Publishing), pp. 235-251.
- Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A., Kerlan, M.C., Barret, P., Vallée, P., and Renard, M. (1996). Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic Brassicas. Ninth Crucifer genetic workshop. *ISHS. Acta Horticulturae* **407**, 167-179.
- Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A., and Renard, M. (1997). Gene flow from transgenic crops. *Nature* **389**, 924-924.
- Chèvre, A.M., Eber, F., Darmency, H., Fleury, A., Picault, H., Letanneur, J.C., and Renard, M. (2000). Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theor Appl Genet* **100**, 1233-1239.
- Chifflet, R., Klein, E.K., Lavigne, C., Le Féon, V., Ricroch, A.E., J., L., and Vaissière, B.E. (2011). Spatial scale of insect-mediated pollen dispersal in oilseed rape in an open agricultural landscape. *J Appl Ecol* **48**, 689-696.
- Cresswell, J.E. (2005). Accurate theoretical prediction of pollinator-mediated gene dispersal. *Ecology* **86**, 574-578.
- Darmency, H., and Fleury, A. (2000). Mating system in *Hirschfeldia incana* and hybridization to oilseed rape. *Weed Res* **40**, 231-238.
- Devaux, C., Lavigne, C., Austerlitz, F., and Klein, E.K. (2007). Modelling and estimating pollen movement in oilseed rape (*Brassica napus*) at the landscape scale using genetic markers. *Mol Ecol* **16**, 487-499.
- Devaux, C., Lavigne, C., Falentin-Guyomarc'h, H., Vautrin, S., Lecomte, J., and Klein, E.K. (2005). High diversity of oilseed rape pollen clouds over an agro-ecosystem indicates long-distance dispersal. *Mol Ecol* **14**, 2269-2280.
- EC (2003). Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed. *Official Journal of the European Union* **L268**, 1-23.
- EFSA (2013). EFSA guidance on the submission of applications for authorisation of genetically modified plants under Regulation (EC) No 1829/2003. *EFSA Journal* **11(12):3491**, 21 pp.
- EFSA (2015). Guidance on the agronomic and phenotypic characterisation of genetically modified plants. *EFSA Journal* **13(6):4128**, 44 pp.
- EFSA (2016). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion on erucic acid in feed and food. Amended version readopted on 5 April 2017. First adopted on 21 September 2016. *EFSA Journal* **14(11)**.
- EU (2013). Commission Implementing Regulation (EU) No 503/2013 of 3 April 2013 on applications for authorisation of genetically modified food and feed in accordance with Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council and amending Commission Regulations (EC) No 641/2004 and (EC) No 1981/2006. *Official Journal of the European Union* **L157**, 1-48.

EU (2014). Commission Regulation (EU) No 696/2014 of 24 June 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of erucic acid in vegetable oils and fats and foods containing vegetable oils and fats. Official Journal of the European Union *L184*, 1-2.

Garnier, A., Pivard, S., and Lecomte, J. (2008). Measuring and modelling anthropogenic secondary seed dispersal along roadverges for feral oilseed rape. *Basic Appl Ecol* *9*, 533-541.

Gulden, R.H., Shirtliffe, S.J., and Thomas, A.G. (2003). Secondary seed dormancy prolongs persistence of volunteer canola in western Canada. *Weed Sci* *51*, 904-913.

Hayter, K.E., and Cresswell, J.E. (2006). The influence of pollinator abundance on the dynamics and efficiency of pollination in agricultural *Brassica napus*: implications for landscape-scale gene dispersal. *J Appl Ecol* *43*, 1196-1202.

Hoyle, M., Hayter, K., and Cresswell, J.E. (2007). Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecol Appl* *17*, 2123-2135.

Jahier, J., Chèvre, A.M., Tanguy, A.M., and Eber, F. (1989). Extraction of disomic addition lines *Brassica napus* - *B.nigra*. *Genome* *32*, 408-413.

Katsuta, K., Matsuo, K., Yoshimura, Y., and Ohsawa, R. (2015). Long-term monitoring of feral genetically modified herbicide-tolerant *Brassica napus* populations around unloading Japanese ports. *Breed Sci* *65*, 265-275.

Kawata, M., Murakami, K., and Ishikawa, T. (2009). Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors. *Environ Sci Pollut Res* *16*, 120-126.

Leflon, M., Brun, H., Eber, F., Delourme, R., Lucas, M.O., Vallee, P., Ermel, M., Balesdent, M.H., and Chèvre, A.M. (2007). Detection, introgression and localization of genes conferring specific resistance to *Leptosphaeria maculans* from *Brassica rapa* into *B. napus*. *Theor Appl Genet* *115*, 897-906.

Leflon, M., Grandont, L., Eber, F., Huteau, V., Coriton, O., Chelysheva, L., Jenczewski, E., and Chèvre, A.M. (2010). Crossovers get a boost in *Brassica* allotriploid and allotetraploid hybrids. *Plant Cell* *22*, 2253-2264.

Madsen, S.B. (1962). Germination of buried and dry stored seeds. III. Proceedings of the International Seed Testing Association *27*, 920-928.

Nelson, M.N., Rajasekaran, R., Smith, A., Chen, S., Beeck, C.P., Siddique, K.H.M., and Cowling, W.A. (2014). Quantitative trait loci for thermal time to flowering and photoperiod responsiveness discovered in summer annual-type *Brassica napus* L. *PLoS One* *9*, 11.

Nishizawa, T., Nobuyoshi, N., Mitsuko, A., Masanori, T., Akihiro, K., and Hikaru, S. (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ Biosafety Res* *8*, 33-44.

Pekrun, C., Hewitt, J.D.J., and Lutman, P.J.W. (1998). Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *J Agric Sci* *130*, 155-163.

Pekrun, C., Potter, T.C., and Lutman, P.J.W. (1997). Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. In Volume 1. Proceedings of the 1997 Brighton Crop Protection Conference - Weeds, Brighton, UK, 243-248.

Pessel, F.D., Lecomte, J., Emeriau, V., Krouti, M., Messean, A., and Gouyon, P.H. (2001). Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theor Appl Genet* *102*, 841-846.

- Rieger, M.A., Potter, T.D., Preston, C., and Powles, S.B. (2001). Hybridisation between *Brassica napus* L. and *Raphanus raphanistrum* L. under agronomic field conditions. *Theor Appl Genet* 103, 555-560.
- Saji, H., Nobuyoshi, N., Mitsuko, A., Masanori, T., Akihiro, K., Seiji, W., Yoriko, H., and Masato, N. (2005). Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environ Biosafety Res* 4, 217-222.
- Schafer, M.G., Ross, A.A., Londo, J.P., Burdick, C.A., Lee, E.H., Travers, S.E., Van de Water, P.K., and Sagers, C.L. (2011). The establishment of genetically engineered canola populations in the US. *PLoS One* 6, 4.
- Schiessl, S., Iniguez-Luy, F., Qian, W., and Snowdon, R.J. (2015). Diverse regulatory factors associate with flowering time and yield responses in winter-type *Brassica napus*. *BMC Genomics* 16, 20.
- Simard, M.J., Legere, A., Pageau, D., Lajeunesse, J., and Warwick, S. (2002). The frequency and persistence of volunteer canola (*Brassica napus*) in Quebec cropping systems. *Weed Technol* 16, 433-439.
- Vaughan, J.G., Phelan, J.R., and Denford, K.E. (1976). Seed studies in the Cruciferae. In *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, J.G. Vaughan, A.J. Macleod, and B.M.G. Jones, eds. (New-York, Academic Press), pp. 119-144.
- von der Lippe, M., and Kowarik, I. (2007). Crop seed spillage along roads: a factor of uncertainty in the containment of GMO. *Ecography* 30, 483-490.
- Warwick, S.I., Simard, M.J., Legere, A., Beckie, H.J., Braun, L., Zhu, B., Mason, P., Seguin-Swartz, G., and Stewart, C.N. (2003). Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz. *Theor Appl Genet* 107, 528-539.
- Xu, L.P., Hu, K.N., Zhang, Z.Q., Guan, C.Y., Chen, S., Hua, W., Li, J.N., Wen, J., Yi, B., Shen, J.X., et al. (2016). Genome-wide association study reveals the genetic architecture of flowering time in rapeseed (*Brassica napus* L.). *DNA Res* 23, 43-52.

Annexe 1 : Saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Direction générale de
l'alimentation

Service des actions
sanitaires en production
primaire

Sous direction de la
qualité, de la santé et de
la protection des
végétaux

Bureau des semences et
de la protection intégrée
des cultures

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Monsieur Jean-Christophe PAGES
Président du Haut conseil des
biotechnologies par intérim
à l'attention de Madame Joëlle BUSUTIL
244, boulevard Saint-Germain
75007 PARIS

Paris, le **27 FEV. 2018**

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

Références : saisine HCB – dossier 2017-143

Affaire suivie par : Anne Grevet

tél. : 01 49 55 58 25 fax : 01 49 55 59 49
courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

Monsieur le Président,

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 (EFSA). Lorsqu'un dossier est considéré comme valide par l'EFSA, 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'EFSA et est soumis à consultation des États membres :

- dossier EFSA-GMO-NL-2017-143, concernant la mise sur le marché du colza Ms11 x Rf3 pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Les États membres peuvent transmettre leurs commentaires à l'EFSA jusqu'au 23 mai 2018.

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 proposer des commentaires à transmettre à l'EFSA au plus tard le **16 mai 2018**.

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

Je vous prie de croire, Monsieur le Président, à l'assurance de ma considération distinguée.

La sous-directrice de la qualité, de la santé
et de la protection des végétaux

Anne-Cécile COTILLON

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

Cet avis a été élaboré par le CS du HCB à partir de la discussion de rapports d'expertise et d'un projet d'avis en séance du 26 avril 2018¹⁴ sous la présidence du Dr Jean-Christophe Pagès et la vice-présidence du Dr Claudine Franche.

Le CS du HCB est un comité pluridisciplinaire composé de personnalités scientifiques nommées par décret au titre de leur spécialité en relation avec les missions du HCB. Par ordre alphabétique des noms de famille, le CS du HCB est composé de :

Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, Elie Dassa, Barbara Demeinex, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjowski, Marc Lavielle, Valérie Le Corre, François Lefèvre, Olivier Lemaire, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Nadia Naffakh, Didier Nègre, Jean-Louis Noyer, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Xavier Raynaud, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Tristan Renault, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Bernard Vaissière, Hubert de Verneuil, Jean-Luc Vilotte¹⁵.

Le dossier a été examiné par huit experts rapporteurs du CS du HCB sélectionnés pour leurs compétences dans les disciplines requises pour l'analyse du dossier.

Les membres du CS du HCB remplissent annuellement une déclaration publique d'intérêts. Ils sont également interrogés sur l'existence d'éventuels conflits d'intérêts avant l'examen de chaque dossier. Ayant participé à l'élaboration de l'avis de l'EFSA en tant que membre du panel OGM de l'EFSA, Philippe Guerche n'a contribué ni à l'analyse de ce dossier, ni à l'élaboration de cet avis. Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec l'élaboration de cet avis.

¹⁴ Membres du CS présents et représentés lors de la discussion du projet d'avis en séance du 26 avril 2018 : Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Bruno Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, Elie Dassa, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjowski, Valérie Le Corre, Olivier Lemaire, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Didier Nègre, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Tristan Renault, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Bernard Vaissière, Hubert de Verneuil, Jean-Luc Vilotte.

¹⁵ Composition du CS en vigueur suite au décret de nomination des membres du HCB du 30 décembre 2014, à la loi du 2 décembre 2015, et à l'arrêté du 10 avril 2017 portant nomination des membres du HCB.

Annexe 3 : Commentaires traduits en anglais à destination de l'EFSA

Cette annexe est une compilation des commentaires du HCB sur le dossier EFSA-GMO-2017-143 traduits en anglais à destination de l'EFSA, prêts à être postés en ligne de manière indépendante par section dans les formulaires du site de l'EFSA.

A3.1. General comments

Preliminary remark

Two assessment bodies were asked to study this application in France: the High Council for Biotechnology (HCB), receiving a referral from the Ministry for Agriculture and Food (MAA), and the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (Anses), receiving a referral from the Ministry for the Economy and Finance (MEF). Comments on the application's environmental risk assessment are sent by HCB through MAA, and comments on its health risk assessment are sent by Anses through MEF.

Main comments

1. General

The HCB Scientific Committee understands the reasons for the special status of the MS11 x RF3 application, assessment of which began concurrently with assessment of the MS11 application. It follows that some of the HCB Scientific Committee's questions concerning assessment of this stack relate more directly to the MS11 application.

The HCB Scientific Committee regrets that there has been little updating of the background data for this application in relation to EFSA-GMO-NL-2009-75, which was already based on an in-house report dating from 2003, and the lack of citations taking account of more recent publications on certain relevant aspects of oilseed rape biology (particularly reproduction and dispersal factors).

The applicant ought to provide fuller information on cultivation of GM and non-GM oilseed rape outside the European Union, with details of sources of imports into the European Union. The HCB Scientific Committee acknowledges that it is impossible to specify where imports of this GM oilseed rape come from in the European Union, but a modicum of information would be welcome.

2. Regarding the genetic and molecular analysis

The HCB Scientific Committee requests the applicant to clarify:

- the function of the *barstar* transgene in MS11,
- the activity and specificity of the *Pta29* and *Pnos* promoters driving expression of the *barnase* and *barstar* transgenes in MS11 respectively,
- the methodology used for protein quantification and interpretation of results.

3. Regarding the comparative assessment

Having failed to find satisfactory data in the references included in the application, the HCB Scientific Committee invites the applicant to provide the raw data for the comparative assessment of oilseed rape RF3, permitting statistical analysis (equivalence and difference tests) of the line's various characteristics.

The HCB Scientific Committee notes that some traits relevant to import risk assessment have not been measured. Traits relating to reproductive biology and risk of dispersal through gene flow ought to be considered to this end.

4. Regarding environmental risk assessment

In the case of an application for import of oilseed rape into the European Union, the HCB Scientific Committee would like to see:

- Greater consideration of the various plants related to oilseed rape that are present in the European Union, with detailed information on their various abilities to hybridise with oilseed rape;
- Greater consideration of specific factors affecting oilseed rape dispersal through accidental non-field release;
- More information on adjustment to European conditions (survival potential, production of offspring, etc.) by spring varieties of oilseed rape in general and this oilseed rape in particular;
- Allowance for presence of male-sterile plants in MS11 x RF3 hybrid progeny and appraisal of its consequences in terms of selective advantage: progeny of the imported hybrid varieties will have a significant frequency of male-sterile plants, which should hybridise more easily than plant varieties that are completely male-fertile. It is also possible that hybrid progeny may have an appreciable selective advantage in stress situations because of the expected hybrid vigour effect;
- Explicit definition of the specific conditions for handling imported seed to control the risk of accidental release of this oilseed rape.

Lastly, the HCB Scientific Committee would like to point out that, following a decision by Anses dated 24 October 2017, marketing authorisation for plant protection products containing glufosinate-ammonium is being withdrawn in France, which means that the *bar* transgene would not confer any selective advantage on transgenic plants carrying it in France.

5. Regarding post-market monitoring plans

The HCB Scientific Committee requests the applicant to detail (1) the specific measures recommended to mitigate the known risk of accidental release of oilseed rape seed between ports of entry and crushing plants or following an industrial accident, and (2) monitoring measures to detect volunteers of oilseed rape MS11 x RF3 and its segregating progeny. The measures to destroy them if detected have already been provided.

The HCB Scientific Committee recommends that the applicant collaborate closely with national competent authorities, local operators and stakeholders and the management authorities for the transport routes used, to ensure that these measures are defined in detail, taking into account the specific features of the importing country.

Additional comments

- The HCB Scientific Committee notes that the regulatory varietal purity standard in Canada is 75%, which means that potentially 25% of F1 seed (sold as MS11 x RF3 to Canadian growers) could be off-type, possibly the result of MS11 crossing with other GMOs and in any case not corresponding to the material assessed in this application. Of these off-type plants, 50% will be male-sterile and 50% will produce F2 seed, which could be imported with the F2 offspring of the MS11 x RF3 hybrid.

- Some members of the HCB Scientific Committee have emphasised that a broader study of the consequences for Europe of cultivation of the oilseed rape MS11 x RF3 hybrid in exporting third-countries would be desirable, not only in socio-economic terms but also with regard to biodiversity. They point out that under the Convention on Biological Diversity exporting countries have international responsibilities with regard to threatened species. They suggest that the application should mention the results of an assessment of the crop's biodiversity impact in producing and exporting countries. In addition, they recommend a further study to assess how import of certain products influences selection of crops in Europe and therefore the biodiversity resulting from these agrosystem choices.
- Lastly, some members of the HCB Scientific Committee have raised the ethical issue of authorising import into the European Union of a commodity whose production in the exporting countries will entail operators' exposure to a plant protection product that has been withdrawn from the French market on health grounds.

A3.2. Comments per section

1. Hazard identification and characterization

1.1 Information relating to the recipient or (where appropriate) parental plants

f) Complete name

Part II Scientific information, Main text, p. 15:

'(i) Family name Cruciferae (Brassicaceae)'

Brassicaceae is now the official family name, rather than *Cruciferae*, which was used previously; therefore this should officially be *Brassicaceae (Cruciferae)*.

g) Geographical distribution and cultivation of the plant within the Union

This title should be amended to *'Geographical distribution and cultivation of the plant, including its distribution within the Union'*, in keeping with the scientific requirements set out in Annex II of Implementing Regulation (EU) No 503/2013, and information on cultivation outside the European Union should be supplied. This information is all the more relevant as this is an application for import into the European Union.

Part II Scientific information, Main text, p. 15:

'Today varieties of three species of Brassica (B. napus, B. rapa and B. juncea) are commercialized with double low characteristics (low erucic acid content in the oil and very low glucosinolate content in the meal), characteristics desirable for high-quality vegetable oil and high-quality animal feed.'

It should be noted that varieties with high erucic acid content are grown, in France and Germany at least, for non-food use (particularly for manufacture of erucamide (plastic additive and surfactant in preparations to increase enhanced oil recovery and in oily cosmetic preparations), brassylic acid and pelargonic acid (manufacture of plasticisers, nylon and perfumes), together with varieties with high oleic acid content and low linolenic acid content mainly for use in rapeseed oil for frying.

It is also worth noting that in India and China varieties with high levels of erucic acid (*B. juncea* and *B. napus* respectively) are still sold for food use.

Part II Scientific information, Main text, p. 15:

'B. napus can be subdivided into winter and spring forms.'

Even though it is customary to divide oilseed rape varieties into these two 'spring' and 'winter' groups, the distribution of varietal types in terms of early maturity, vernalisation requirements and photoperiod response seems to be more and more continuous because of polygenic control. It would therefore have been useful to qualify this statement and provide recent citations in this field (Nelson et al., 2014; Schiessl et al., 2015; Xu et al., 2016).

Part II Scientific information, Main text, p. 15:

'The main oilseed rape producers in the EU are Germany, France, Poland, UK and Romania. In 2013, the cultivated surface was of 5 784 300 ha, 4 370 075 ha, 2 677 665 ha, 2 128 000 ha and 666 097 ha, respectively (see Table 1.1.1).'

The Czech Republic should also have been cited (1 443 210 tonnes of oilseed rape grown in 2013), as well as the dramatic expansion of oilseed rape crops in Eastern Europe (Ukraine, Belarus and Russia) in recent years on account of significant exports to the European Union. Moreover, the figures given are actually for tonnes grown rather than crop area (source: FAOSTAT, accessed 18 April 2018). Lastly, it would seem relevant and consistent with the regulations to identify the volume of imports from non-EU countries to the EU as a whole and to each EU country individually (since there is significant trade within the European Union itself), and more specifically the imports from Canada, Australia and the United States, the countries seemingly most likely to export GM oilseed rape seed.

Nelson, M.N., Rajasekaran, R., Smith, A., Chen, S., Beeck, C.P., Siddique, K.H.M., and Cowling, W.A. (2014). Quantitative trait loci for thermal time to flowering and photoperiod responsiveness discovered in summer annual-type *Brassica napus* L. PLoS One 9, 11.

Schiessl, S., Iniguez-Luy, F., Qian, W., and Snowdon, R.J. (2015). Diverse regulatory factors associate with flowering time and yield responses in winter-type *Brassica napus*. BMC Genomics 16, 20.

Xu, L.P., Hu, K.N., Zhang, Z.Q., Guan, C.Y., Chen, S., Hua, W., Li, J.N., Wen, J., Yi, B., Shen, J.X., et al. (2016). Genome-wide association study reveals the genetic architecture of flowering time in rapeseed (*Brassica napus* L.). DNA Res 23, 43-52.

h) Information on the recipient or parental plants relevant to their safety, including any known toxicity or allergenicity

Part II Scientific information, Main text, p. 17:

'In the oil processing of oilseed rape heat is applied to inactivate myrosinase, thereby preventing GSL hydrolysis (Underhill, 1980^{M-251508-01-1}; Macrae et al., 1993^{M-251509-01-1}).'

Although this is indeed generally the case, some crushing plants in Europe are starting to use low-temperature oil extraction techniques in order not to impair the quality of meal proteins, since the resultant oil cake is highly valued in animal feed.

Part II Scientific information, Main text, p. 18:

'In Canada and the USA, the standard for glucosinolate content in dried canola meal is set at a maximum of 30 mmol/kg dry matter. In the EU, certified seed of double low varieties should have a maximum glucosinolate concentration of 25 mmol/kg at a moisture content of 9% (EFSA, 2008).'

It might nevertheless be noted that North American spring varieties of oilseed rape generally have a much lower glucosinolate content than European winter varieties.

Part II Scientific information, Main text, p. 18:

'In the European Union, the threshold is maximum 2% erucic acid in total fatty acids (EC, 2014).'

The threshold currently applying in the European Union is actually 5% (50 g/kg) according to the regulation (inaccurately) cited by the applicant (EU, 2014). It is possible that this threshold may shortly be lowered to 2% following the EFSA opinion on erucic acid (EFSA, 2016).

EU (2014). Commission Regulation (EU) No 696/2014 of 24 June 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of erucic acid in vegetable oils and fats and foods containing vegetable oils and fats. Official Journal of the European Union *L184*, 1-2.

EFSA (2016). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion on erucic acid in feed and food. Amended version readopted on 5 April 2017. First adopted on 21 September 2016. EFSA Journal *14(11)*.

i) Data on the past and present use of the recipient plant

i) The history of safe use for consumption as food and/or feed

Part II Scientific information, Main text, p. 18:

'Unprocessed oilseed rape has no food or feed use (OECD, 2011).'

The whole seed of oilseed rape can be used for animal feed on the farm after crushing. However, the volume concerned is small.

Part II Scientific information, Main text, p. 18:

'Oilseed rape oil suitable for human consumption must have low erucic acid content.'

While this is in fact the case for crops in Europe, North America and Australia, varieties with high levels of erucic acid are still sold for food use in India (*B. juncea*) and China (*B. napus*).

iii) Whether special processing is required to make the plant safe to eat

Part II Scientific information, Main text, p. 22:

'Canola meal has, as yet, not found wide acceptance in human nutrition despite the high quality of its protein due to the presence of the anti-nutritional factors like phytate and glucosinolates.'

This is indeed still the case in Europe. However, it seems that a Canadian company has made significant progress in extracting oilseed rape proteins and has recently been selling them in North America for food use. Research programmes are being pursued for this purpose in Europe

(RaPEQ in Germany; SeedProt in France). We may thus expect to see oilseed rape proteins being used for food in the future.

j) Additional information relating to the recipient or parental plants required for the environmental safety aspects

(i) Information concerning reproduction

Part II Scientific information, Main text, p. 24:

'It is believed that the majority of pollen does not remain airborne for significant periods of time (MacDonald, 2003).'

It would be worth explaining what is meant by 'for significant periods of time', since this is not specified in the report cited.

(ii) Sexual compatibility with other cultivated or wild plant species

Part II Scientific information, Main text, p. 27:

*'The possibility of gene flow from oilseed rape (*B. napus*) to wild relatives under natural conditions has been reported, mostly under optimal conditions, on four species: *Brassica rapa* (synonym *Brassica campestris*), *Brassica juncea*, *Hirschfeldia incana*, *Raphanus raphanistrum*.'*

In addition to these four species likely to cross with *Brassica napus* in natural conditions, there is black mustard (*B. nigra*), found in oilseed rape fields in southern France, which is not mentioned in the text. It is possible, although difficult, for it to hybridise with oilseed rape (Jahier et al., 1989).

Moreover, it would have been useful to specify the distinguishing features of each cross at this stage (easier hybridisation for some species) instead of generalising. Thus in the case of wild turnip (*B. rapa*), even if the hybrids are less fertile than oilseed rape, recombination easily permits introgression of oilseed rape genes (Leflon et al., 2007; Leflon et al., 2010). Hoary mustard (*Hirschfeldia incana*) is found in oilseed rape fields; however, while this species can actually hybridise with oilseed rape, the oilseed rape genome seems to be eliminated in the progeny (Chèvre et al., 1996; Darmency and Fleury, 2000). Wild radish (*Raphanus raphanistrum*) and charlock (*Sinapis arvensis*) are the two main oilseed rape weeds (Chèvre et al., 2004). For wild radish, hybridisation is extremely rare, although it has been demonstrated in Canada (Warwick et al., 2003), Australia (Rieger et al., 2001) and France (Chèvre et al., 2000), at similar frequencies of 10^{-5} to 10^{-7} . While first-generation hybrids have limited fertility, over several generations of pollination by wild radish the plants become fertile again (Chèvre et al., 1997). Moreover, recent work (Adamczyk-Chauvat et al., 2017) suggests that some genes carried by oilseed rape can be stably introgressed into the wild radish genome but that these exchanges between genomes depend a great deal on initial gene location on oilseed rape chromosomes. As far as charlock is concerned, hybridisation with oilseed rape is actually rare, and it has not been possible to study the hybrid progeny (Chèvre et al., 1996; Warwick et al., 2003).

Adamczyk-Chauvat, K., Delaunay, S., Vannier, A., Francois, C., Thomas, G., Eber, F., Lode, M., Gilet, M., Huteau, V., Morice, J., et al. (2017). Gene introgression in weeds depends on initial gene location in the crop: *Brassica napus-Raphanus raphanistrum* model. *Genetics* 206, 1361-1372.

Chèvre, A.M., Ammitzbøll, H.A., Breckling, B., Dietz-Pfeilstetter, A., Eber, F., Fargue, A., Gomez-Campo, C., Jenczewski, E., Jorgensen, R., Lavigne, C., et al. (2004). A review on interspecific gene

flow from oilseed rape to wild relatives. In *Introgression from Genetically Modified Plants into Wild Relatives*, H.C.M. den Nijs, D. Bartsch, and J. Sweet, eds. (Cambridge, CABI Publishing), pp. 235-251.

Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A., Kerlan, M.C., Barret, P., Vallée, P., and Renard, M. (1996). Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic Brassicas. Ninth Crucifer genetic workshop. ISHS. *Acta Horticulturae* 407, 167-179.

Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A., and Renard, M. (1997). Gene flow from transgenic crops. *Nature* 389, 924-924.

Chèvre, A.M., Eber, F., Darmency, H., Fleury, A., Picault, H., Letanneur, J.C., and Renard, M. (2000). Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theor Appl Genet* 100, 1233-1239.

Darmency, H., and Fleury, A. (2000). Mating system in *Hirschfeldia incana* and hybridization to oilseed rape. *Weed Res* 40, 231-238.

Jahier, J., Chèvre, A.M., Tanguy, A.M., and Eber, F. (1989). Extraction of disomic addition lines *Brassica napus* - *B. nigra*. *Genome* 32, 408-413.

Leflon, M., Brun, H., Eber, F., Delourme, R., Lucas, M.O., Vallee, P., Ermel, M., Balesdent, M.H., and Chèvre, A.M. (2007). Detection, introgression and localization of genes conferring specific resistance to *Leptosphaeria maculans* from *Brassica rapa* into *B. napus*. *Theor Appl Genet* 115, 897-906.

Leflon, M., Grandont, L., Eber, F., Huteau, V., Coriton, O., Chelysheva, L., Jenczewski, E., and Chèvre, A.M. (2010). Crossovers get a boost in *Brassica* allotriploid and allotetraploid hybrids. *Plant Cell* 22, 2253-2264.

Rieger, M.A., Potter, T.D., Preston, C., and Powles, S.B. (2001). Hybridisation between *Brassica napus* L. and *Raphanus raphanistrum* L. under agronomic field conditions. *Theor Appl Genet* 103, 555-560.

Warwick, S.I., Simard, M.J., Legere, A., Beckie, H.J., Braun, L., Zhu, B., Mason, P., Seguin-Swartz, G., and Stewart, C.N. (2003). Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz. *Theor Appl Genet* 107, 528-539.

(iii) Survivability (ability to form structures for survival or dormancy, specific factors, if any, affecting survivability)

Ability to form structures for survival or dormancy

Part II Scientific information, Main text, p. 27:

‘Oilseed rape is an annual plant that survives through seed formation. If seeds are buried due to e.g. cultivation, they may persist for periods of up to ten years under ideal conditions (MacDonald, 2003).’

The term ‘ideal conditions’ ought to be explained. Studies have shown that seeds persist in disturbed soils for at least 5 years, and up to 10 years or more in undisturbed soils (Chadoeuf et al., 1998; Madsen, 1962; Pekrun et al., 1997; Vaughan et al., 1976).

Specific factors affecting survivability, if any

Part II Scientific information, Main text, p. 27:

'As most of the oilseed rape seeds that fall on the ground after harvesting will still germinate before the winter season, these seedlings will be destroyed by winter conditions.'

The application here refers only to open field growing conditions. In the maritime climate conditions of the ports of entry, spring variety oilseed rape volunteers are not automatically destroyed during the winter.

This part of the document might have been expected to contain data on seed survival and progeny in non-field situations, particularly in connection with dispersal of seed during transport from the port to the storage agency and then to the crushing plant. It should be noted that the seed from spillage along fields, roads and storage sites could germinate at different times of year and result in plants able to survive winter conditions, even if the seed comes from spring varieties. The imported oilseed rape will be a spring variety and may therefore flower before winter oilseed rape (in March), at the same time, or after it (in June), depending on date when the seed germinates.

With regard to factors affecting survivability, it should have been explained that seed persistence depends on dormancy in the seed bank and vertical distribution in the soil, since seeds survive better deeper down (Pekrun et al., 1998; Simard et al., 2002). Moreover, it has been shown that former varieties could persist outside of fields for up to 9 years (Gulden et al., 2003; Pessel et al., 2001; Simard et al., 2002).

Chadoeuf, R., Darmency, H., Maillet, J., and Renard, M. (1998). Survival of buried seeds of interspecific hybrids between oilseed rape, hoary mustard and wild radish. *Field Crops Res* 58, 197-204.

Gulden, R.H., Shirliffe, S.J., and Thomas, A.G. (2003). Secondary seed dormancy prolongs persistence of volunteer canola in western Canada. *Weed Sci* 51, 904-913.

Madsen, S.B. (1962). Germination of buried and dry stored seeds. III. Proceedings of the International Seed Testing Association 27, 920-928.

Pekrun, C., Hewitt, J.D.J., and Lutman, P.J.W. (1998). Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *J Agric Sci* 130, 155-163.

Pekrun, C., Potter, T.C., and Lutman, P.J.W. (1997). Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. In Volume 1. Proceedings of the 1997 Brighton Crop Protection Conference - Weeds. Brighton, UK, 243-248.

Pessel, F.D., Lecomte, J., Emeriau, V., Krouti, M., Messean, A., and Gouyon, P.H. (2001). Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theor Appl Genet* 102, 841-846.

Simard, M.J., Legere, A., Pageau, D., Lajeunesse, J., and Warwick, S. (2002). The frequency and persistence of volunteer canola (*Brassica napus*) in Quebec cropping systems. *Weed Technol* 16, 433-439.

Vaughan, J.G., Phelan, J.R., and Denford, K.E. (1976). Seed studies in the Cruciferae. In *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, J.G. Vaughan, A.J. Macleod, and B.M.G. Jones, eds. (New York, Academic Press), pp. 119-144.

(iv) Dissemination

Ways and extent of dissemination (for example an estimation of how viable pollen and/or seeds declines with distance)

This section on dissemination has no supporting citations other than an in-house report (McDonald, 2003), especially with regard to long-distance pollination, although there are numerous more recent scientific publications on the long-distance pollen vectors responsible for this dispersal and on assessment of the ensuing risks (relevant papers: (Chifflet et al., 2011; Cresswell, 2005; Devaux et al., 2007; Devaux et al., 2005; Hayter and Cresswell, 2006; Hoyle et al., 2007). Insect-mediated transfer of viable pollen over distances above one kilometre has been clearly demonstrated (for example, by Chifflet et al., 2011).

Special factors affecting dissemination, if any

As regards pollen dissemination, only honeybees and bumblebees are mentioned as vectors of pollination, whereas a wide range of Hymenoptera and flies carry viable pollen between different oilseed rape plants over distances of more than a kilometre (Chifflet et al., 2011).

Seed dispersal through spillage along roads and railway lines is not mentioned either. In the case of import, this would presumably be from lorries during transport (von der Lippe and Kowarik, 2007) or from lorries and trains when the seed arrives at ports and is being transported to crushing plants (Aono et al., 2006; Kawata et al., 2009; Nishizawa et al., 2009; Saji et al., 2005). Seed accidentally shed along transport routes may be dispersed further by secondary entrainment from the wind turbulence produced by vehicles, which can result in viable progeny up to 20 m or more from the initial dispersal site (Garnier et al., 2008).

Furthermore, there is no reference to the fact that, of F2 progeny from the seed of hybrid varieties such as MS11 x RF3, approximately 3/32 plants will be male-sterile, which will facilitate intra- and interspecific hybridisation compared with the male-fertile hybrid.

Aono, M., Seiji, W., Masato, N., Nobuyoshi, N., Masanori, T., Akihiro, K., and Hikaru, S. (2006). Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan. *Environ Biosafety Res* 5, 77-87.

Chifflet, R., Klein, E.K., Lavigne, C., Le Féon, V., Ricroch, A.E., J., L., and Vaissière, B.E. (2011). Spatial scale of insect-mediated pollen dispersal in oilseed rape in an open agricultural landscape. *J Appl Ecol* 48, 689-696.

Cresswell, J.E. (2005). Accurate theoretical prediction of pollinator-mediated gene dispersal. *Ecology* 86, 574-578.

Devaux, C., Lavigne, C., Austerlitz, F., and Klein, E.K. (2007). Modelling and estimating pollen movement in oilseed rape (*Brassica napus*) at the landscape scale using genetic markers. *Mol Ecol* 16, 487-499.

Devaux, C., Lavigne, C., Falentin-Guyomarc'h, H., Vautrin, S., Lecomte, J., and Klein, E.K. (2005). High diversity of oilseed rape pollen clouds over an agro-ecosystem indicates long-distance dispersal. *Mol Ecol* 14, 2269-2280.

Garnier, A., Pivard, S., and Lecomte, J. (2008). Measuring and modelling anthropogenic secondary seed dispersal along roadverges for feral oilseed rape. *Basic Appl Ecol* 9, 533-541.

Hayter, K.E., and Cresswell, J.E. (2006). The influence of pollinator abundance on the dynamics and efficiency of pollination in agricultural *Brassica napus*: implications for landscape-scale gene dispersal. *J Appl Ecol* 43, 1196-1202.

Hoyle, M., Hayter, K., and Cresswell, J.E. (2007). Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecol Appl* 17, 2123-2135.

Kawata, M., Murakami, K., and Ishikawa, T. (2009). Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors. *Environ Sci Pollut Res* 16, 120-126.

Nishizawa, T., Nobuyoshi, N., Mitsuko, A., Masanori, T., Akihiro, K., and Hikaru, S. (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ Biosafety Res* 8, 33-44.

Saji, H., Nobuyoshi, N., Mitsuko, A., Masanori, T., Akihiro, K., Seiji, W., Yoriko, H., and Masato, N. (2005). Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environ Biosafety Res* 4, 217-222.

von der Lippe, M., and Kowarik, I. (2007). Crop seed spillage along roads: a factor of uncertainty in the containment of GMO. *Ecography* 30, 483-490.

(v) Geographical distribution within the Union of the sexually compatible species

Part II Scientific information, Main text, p. 28:

'The main oilseed rape producers in the EU are Germany, France, Poland, UK and Romania. In 2013, they harvested 5 784 300 ha, 4 370 075 ha, 2 677 665 ha, 2 128 000 ha and 666 097 ha, respectively (see Table 1.1.1).'

These figures are for tonnes rather than hectares (source: FAOSTAT, accessed 18 April 2018).

Part II Scientific information, Main text, p. 28:

'The main four compatible species of B. napus (Brassica rapa, Brassica juncea, Hirschfeldia incana, Raphanus raphanistrum) are found throughout Europe, with Hirschfeldia incana primarily found in Southern Europe. However, the frequency of gene flow from oilseed rape to these wild relatives under natural conditions is considered very low and the fitness of the interspecific hybrids is generally reduced compared to the parents. Therefore, stable introgression of a new trait in the weed species genome is confirmed to be extremely difficult (MacDonald, 2003).'

Black mustard should also be mentioned among the species likely to hybridise with oilseed rape in Europe. Admittedly, this species is not found in North America, but the application ought to be adapted to European conditions.

(vii) Other potential interactions

Part II Scientific information, Main text, p. 29:

'The scope of this application does not include cultivation of MS11 B. napus seeds in the EU.'

The document doubtless means MS11 x RF3 rather than MS11.

1.2 Molecular Characterisation

1.2.1. Information relating to the genetic modification

1.2.1.3 Source of donor nucleic acid(s) used for the transformation, size and intended function of each constituent fragment of the region intended for insertion

Comments on the MS11 parental line (EFSA-GMO-BE-2016-138 currently being assessed) relating to information needed for assessment of the MS11 x RF3 stack (current application):

EFSA-GMO-BE-2016-138, *Part II Scientific information*, Main text, p. 29:

'The barnase gene in MS11 Brassica napus is driven by the Pta29 promoter that restricts gene expression to the tapetum cells during anther development.'

The activity and specificity of the *Pta29* promoter driving expression of the *barnase* gene in the MS11 line would warrant more detailed characterisation given (1) the reported benefit of expressing the Barstar protein driven by the *Pnos* promoter in the plant (see below) and (2) detection of the Barnase protein in the roots of the MS11 x RF3 line (current application, EFSA-GMO-NL-2017-143, 1.2.2.3).

EFSA-GMO-BE-2016-138, *Part II Scientific information*, Main text, p. 39:

'This prophylactic barstar gene in MS11 B. napus, driven by the Pnos promoter, was included to enhance transformation frequency.'

Present application (EFSA-GMO-NL-2017-143), *Part II Scientific information*, Main text, p. 33:

'This prophylactic barstar gene, driven by the Pnos promoter, is included to enhance transformation frequency. In this regard, this invention is based on the observation that, under some circumstances, a chimeric gene such as the barstar gene, introduced together with a male-sterility gene such as a gene comprising barnase DNA can decrease the between-transformant variability in expression of the male-sterility gene, and of its resulting phenotype, and can increase the frequency of transformants having good agronomical performance (i.e. a higher percentage of good male-sterile plants).'

The HCB Scientific Committee would like further clarification of the function of Barstar in MS11. The explanation quoted above, repeated more than once in identical terms in EFSA-GMO-BE-2016-138 and elaborated slightly in EFSA-GMO-NL-2017-143, would be worth fleshing out. The concept of 'good male-sterile plants' calls for elaboration. The activity and specificity of the *Pnos* promoter in oilseed rape would also warrant more detailed characterisation in addition to that, already mentioned, of the *Pta29* promoter driving expression of the *barnase* gene.

On this point, the HCB Scientific Committee considers that the applicant could provide comparative data for MS11 and MS8 to substantiate the benefit of expressing *barstar* driven by *Pnos* in addition to *barnase* driven by *Pta29* in MS11.

1.2.2 Information relating to the genetically modified plant

1.2.2.1 General description of the trait(s) and characteristics which have been introduced or modified

The HCB Scientific Committee would like further clarification of the function of Barstar in MS11.

1.2.2.2 Information on the sequences actually inserted/deleted

Comment on the MS11 parental line (EFSA-GMO-BE-2016-138 currently being assessed): The HCB Scientific Committee has a query regarding the recorded difference in size between the fragment of T-DNA intended for insertion into the plant and the fragment actually inserted into the MS11 parent line. It would seem that 87 bp has been lost during transformation; a comment from the applicant locating this deletion and putting its impact on T-DNA functionality in context is expected.

(The HCB Scientific Committee notes that insertions from the MS11 and RF3 lines are found in their entirety in the stack.)

1.2.2.3 Information on the expression of the insert(s)

Part II Scientific information, Main text, p. 50:

‘Based on the observed overlapping ranges of measured analyte concentrations, it appears that Barnase, Barstar and PAT/bar are similarly expressed when comparing MS11 x RF3 B. napus to MS11 and RF3 B. napus (see Table 1.2.4, Table 1.2.5 and Table 1.2.6 for data in grain and report M-542702-01-1. Therefore, it can be concluded that there are no indications for interactions between the single events in MS11 x RF3 B. napus.’

The applicant’s conclusions regarding interaction between events on the basis of transgene expression in the form of a general description are unsatisfactory. No explanation is given of the reasoning behind the conclusion that there are no indications of interactions between the single events in the stack. As it happens, this stack is a special case where (Barnase and Barstar) proteins provided by different parental lines are intended to interact specifically in the stack. Is this interaction reflected (should it be reflected) in the synthesis or, more specifically, the detection and quantification of these proteins? The applicant ought to be clearer in these conclusions. Moreover, in terms of nucleic acid interaction, what would betoken an interaction – or lack of interaction – between different copies of *bar* or *barstar*, or between different copies of the *Pta29*, *Pnos* and *PssuAt* promoters provided by the two parental lines, other than a significant silencing effect? How can an experiment be satisfactorily designed and analysed if what is to be identified has not been clearly defined?

The HCB Scientific Committee would like clarification and further details of the methodology used for protein quantification as well as the analysis and interpretation of results:

- Explanation of the relatively small number of samples analysed,
- Explanation of the grouping of data from samples not available for analysis with data below the detection limit, or, failing this, clear separation of these data,
- Recognition of the cytotoxic function of the Barnase protein and its consequences for protein detection,
- Recognition of formation of a complex by the Barnase and Barstar proteins and its consequences for detection of each protein in MS11 and in the stack,
- Consideration of the different promoters driving expression of each protein,
- Information on the comparative assessment of expression recorded in the parental lines and expression recorded in the stack.

Certain results call for specific comments by the applicant, such as detection of Barnase in MS11 x RF3 root samples or the considerable range of PAT concentrations recorded in some sets of samples.

1.3 Comparative assessment

1.3.1 Choice of the conventional counterpart and additional comparators

The HCB Scientific Committee observes that, unlike MS11 plants, RF3 plants have not been tested in the field trials for this assessment dossier for the MS11 x RF3 stack. Although not a regulatory requirement, inclusion of each parental line in addition to the stack makes it possible, through direct comparison, to test the existence of interaction between transformation events in the

stack that would result in agronomic, phenotypic or compositional differences from the parent lines.

1.3.2 Experimental design and statistical analysis of data from field trials for comparative analysis

1.3.2.1 Description of the protocols for the experimental design

The HCB Scientific Committee notes that while the locations of the field trial sites were appropriate for expected North American growing conditions for the parental lines and the MS11 x RF3 stack and for the resulting seed production, they could not be used to test European conditions in which accidental escape of imported seed might possibly lead to volunteers becoming established.

As for spring varieties adapted to the North American climate but largely absent in Europe, it would have been particularly useful to assess adjustment to the European climate and the impact of climate on dispersal ability and persistence: resistance to cold and the effect of vernalisation on reproductive biology, for example.

1.3.3 Selection of material and compounds for analysis

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

1.3.4 Comparative analysis of composition

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

1.3.5 Comparative analysis of agronomic and phenotypic characteristics

The HCB Scientific Committee notes that while the MS11 parental line has been included in the field tests for comparative assessment of the MS11 x RF3 stack, this is not the case for RF3. Although not a regulatory requirement, inclusion of each parental line in addition to the stack makes it possible, through direct comparison, to document the existence of interaction between transformation events in the stack that would result in agronomic, phenotypic or compositional differences from the parent lines. Moreover, full information on the single events is needed to cover assessment of the stack's segregating progeny.

Under Implementing Regulation (EU) No 503/2013, the applicant is required to provide a risk assessment for each single transformation event or refer to an application or applications already submitted.¹ The HCB Scientific Committee has therefore sought information from earlier applications concerning the RF3 line. The only agronomic information found for the RF3 variety appears in the 'Weston, 1998.pdf' appendix to Dossier RX-MS8-RF3, in the Drakkar genetic background. The results are there presented in the form of tables of mean values for traits. These data cannot be used, through statistical analysis for each RF3 trait, to test difference with a non-transgenic comparator or equivalence with a sample group of reference varieties. The applicant is invited to send new data or specify where exactly pre-existing data can be found in previous applications concerning the RF3 line.

Available agronomic data on the MS11 and RF3 single events and the MS11 x RF3 stack show differences from the non-transgenic comparator only for treatment with glufosinate-ammonium. The differences are consistent: greater lateness and/or less vigour and/or less yield is always recorded for transgenic plants treated with herbicide containing glufosinate-ammonium by

comparison with the non-transgenic comparator treated using conventional herbicide management. Although the applicant has not put forward this hypothesis, these phenotypes might possibly arise from some phytotoxicity of the glufosinate-ammonium despite the presence of the *bar* gene.

The HCB Scientific Committee notes that where stack equivalence with a sample group of varieties can be tested it is always confirmed. The differences recorded are therefore within the variation range of the reference varieties of oilseed rape tested – commercial varieties representative of the varieties grown in Canada and the United States.

As for the traits tested, the HCB Scientific Committee would have wished certain traits relevant to import risk assessment to be measured. These include viability and dormancy of seed produced by the MS11 x RF3 stack, analysis of which is specified in EFSA recommendations (EFSA, 2015). Similarly, a number of phenological traits relating to reproductive biology and the risk of dispersal through gene flow have not been measured, for example the self-pollination rate, pollen production and viability, and attractiveness to insect pollinators.

¹ Extract from Implementing Regulation (EU) No 503/2013, Annex II: 'For the risk assessment of genetically modified food and feed containing stacked transformation events obtained by conventional crossing of genetically modified plants containing one or several transformation event(s), the applicant shall provide a risk assessment of each single transformation event or, in accordance with Article 3(6) of this Regulation, refer to already submitted application(s).'

EFSA (2015). Guidance on the agronomic and phenotypic characterisation of genetically modified plants. EFSA Journal 13(6):4128, 44 pp.

1.3.6. Effects of processing

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

1.4. Toxicology

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

1.5. Allergenicity

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

1.6. Nutritional assessment

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

2. Exposure assessment – anticipated intake or extent of use

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

3. Risk characterisation

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

4. Post-market monitoring on the genetically modified food or feed

See comments from Anses forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy and Finance.

5. Environmental assessment

5.3 Specific areas of risks

5.3.1 Persistence and invasiveness including plant-to-plant gene flow

While the HCB Scientific Committee's appraisal has concluded that there is a limited likelihood of dissemination, persistence or invasiveness of this GM oilseed rape and its progeny, this is conditioned on compliance with specific management and monitoring procedures to regulate handling conditions for imported seed. The applicant's reasoning in this section seems confused and incomplete.

This oilseed rape and its segregating progeny would be exposed to the environment first and foremost through accidental escape during unloading from vessels and transport to crushing plants.

Accidental escape of GM oilseed rape seed and establishment of feral populations:

While such escape is uncommon, as the applicant emphasises in the application, experience shows that it is not insignificant. Feral populations of oilseed rape from seed escape connected with import of transgenic oilseed rape have been detected in Japan (Aono et al., 2006; Katsuta et al., 2015; Kawata et al., 2009; Nishizawa et al., 2009; Saji et al., 2005). These populations have become established in cleared areas where the vegetation has already been removed by addition of herbicides. Furthermore, the existence of a flow of transgenes between plants in these feral populations has been suggested by the detection, in Japan, of feral oilseed rape plants containing a combination of two transgenes from different GM oilseed rape varieties not authorised for cultivation (Aono et al., 2006). The HCB Scientific Committee notes that long-term monitoring of these feral populations in different ports of import has shown the non-invasiveness of herbicide-tolerant oilseed rapes in Japanese conditions (Katsuta et al., 2015)

Feral populations of oilseed rape can endure for several years (Pessel et al., 2001; Schafer et al., 2011). Seed from feral populations persists in the soil forming a seed bank, and if a population does not emerge in a given year it may reappear later and be dispersed in the landscape by farm machinery and vehicles (Garnier et al., 2008).

The applicant's assessment of the selective advantages of MS11 x RF3 and any progeny in the form of volunteers or feral populations, and the ability of the latter to hybridise with other oilseed rape varieties or related species is incomplete:

- While the applicant's agronomic and phenotypic assessment has not shown any characteristics likely to increase dispersal of GM oilseed rape in comparison with non-GM oilseed rape, the HCB Scientific Committee notes that:
 4. The traits relating to reproductive biology and the risk of dispersal through gene flow have not been assessed (seed viability and dormancy, self-pollination rate, pollen production and viability, and attractiveness to insect pollinators),
 5. The European conditions in which volunteers would be likely to become established following unintended release of seed have not been properly considered (the HCB Scientific Committee here notes that French overseas departments and regions are not currently concerned by import of GM oilseed rape seed and therefore do not call for assessment of additional conditions),

6. Moreover, it is important to stress that in the actual conditions of commercial production of the MS11 x RF3 hybrid from parental lines from different genetic backgrounds (and not from the common genetic background used for assessment purposes in this application) a residual heterosis effect in the hybrid progeny is expected;
- The *bar* gene present in both parental lines, the stack and the majority of offspring provides a selective advantage for transgenic plants in the presence of a herbicide containing glufosinate-ammonium. The HCB Scientific Committee notes that in France marketing authorisation for herbicides containing glufosinate-ammonium is being withdrawn,¹ resulting in prohibition of their use in France from 24 October 2018.² Because of this ban, the transgene should not therefore confer a selective advantage on plants carrying it in France;
 - The hybrid technology system based on expression of the *barnase* and *barstar* genes in the tapetum cells of the anthers of the MS11 and RF3 lines results in the presence of 3/32 male-sterile plants (MSMS/-- ; MS/--) in self-pollinated MS11 x RF3 progeny. The ability of male-sterile plants to hybridise with other oilseed rape varieties or related species is much higher than that of male-fertile plants (despite what the applicant states on more than one occasion in this section, there are several related species that could be expected to cross with oilseed rape in the European Union (see the HCB Scientific Committee's comments on Section 1.1.e)). In the HCB Scientific Committee's view, the possibility that progeny of male-sterile plants may have a selective advantage in stress situations owing to the expected heterosis effect, together with the dynamics of transfer of male sterility in wild populations, which are often highly allogamous, would be worth discussing.

These points can be put in perspective after analysis of the expected scale of exposure:

In practice, it is hard to estimate the scale of potential dispersal and persistence for this oilseed rape without having pinpointed potential dispersal areas along import routes, i.e. without having located possible storage centres and seed crushing plants in relation to the seed's point of entry into the territory and without knowing the conditions of transport and the specific routes to be taken by the GM oilseed rape seed. The applicant should therefore procure these data as far as possible in order to assess the risk of dispersal in greater detail. Some of these data are provided in the confidential part of the application. It would be sensible to update the main text in the light of these data, which would to some extent be possible without disclosing confidential information.

As for France, the HCB Scientific Committee has obtained a certain amount of information by collating customs office data on oilseed rape seed import flows, ISAAA³ data on GM oilseed rape production, information from the confidential part of the application and information from an operator working in French territory.

As the world's third largest producer of oilseed rape, France exports mainly within the European Union. It may, however, be driven to import oilseed rape in years when the yield is relatively low and depending on the relative quality of the harvest or the specific nature of the products sought. In recent years, three French port sites seem to have taken delivery of GM oilseed rape seed, produced mainly in Canada and to a lesser extent in Australia. The seed has been crushed directly in on-site plants at each of these ports. The conditions relating to unloading of vessels, transport and storage until seed crushing should normally comply with specific GMO procedures for limiting seed dispersal. They should be combined with cleaning procedures for any spillage during handling as well as manual or chemical control of any volunteers.

These procedures should be laid down in the post-market environmental monitoring plan (PMEM plan) required for marketing authorisation of GM oilseed rape. In agreement with FEDIOL,⁴ EuropaBio⁵ and the European Commission, the risk of volunteers from accidental escape of seed has been expressly covered by the PMEM plan since December 2013. While these procedures are

mentioned in the PMEM plan for this application, the HCB Scientific Committee regrets that they have not been clearly set out in detail.

In any case:

- The identified risks of GM oilseed rape dispersal through accidental seed spillage during unloading of vessels and during transport will be all the smaller if these procedures are reliable and observed and if transport is limited in distance (e.g. suction unloading, closed-circuit conveyor belt, crushing plant located at port, etc.);
- The identified risk of volunteers and feral populations becoming established after accidental spillage of seed (or an industrial accident of some other nature) will be all the smaller if control procedures are applied effectively (manual or chemical weed control) and sites are urbanised or even fully concreted;
- The identified risks of any volunteers or feral populations of GM oilseed rape crossing with other oilseed rape varieties or related (wild) species will be all the smaller if sites are remote from areas in which oilseed rape is grown for seed production and from areas of related plants.

It follows from the above that the risks of persistence, invasiveness and hybridisation with other oilseed rape varieties or related plants by oilseed rape MS11 x RF3 and its progeny, which might result in plants with a selective advantage in stress situations owing to the expected hybrid vigour, should be controlled through specific management measures and conditions (despite what is stated by the applicant in Section 5.3.1.5, which concludes that risk management strategies are unnecessary). These management measures and the associated monitoring methods ought to be set out in detail in the application. Their actual implementation, their monitoring and their results ought to be described in the annual monitoring report.

¹ <https://www.anses.fr/fr/content/%E2%80%99anses-proc%C3%A8de-au-retrait-de-%E2%80%99autorisation-de-mise-sur-le-march%C3%A9-du-basta-f1-un-produit> (in French).

² The findings of the Anses assessment of BASTA F1 (the only plant protection product containing glufosinate currently authorised in France) are available here (in French): https://www.anses.fr/fr/system/files/BASTAF1_PREX_2009-1546_Ans.pdf, and the withdrawal decision is to be found here (in French): https://www.anses.fr/fr/system/files/BASTAF1_PREX_2009-1546_D.pdf.

³ The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (<http://www.isaaa.org>), a not-for-profit international organisation that shares information on genetically modified crops worldwide.

⁴ FEDIOL: EU vegetable oil and protein meal industry association.

⁵ EuropaBio: European association representing the interests of the biotechnology industry.

Aono, M., Seiji, W., Masato, N., Nobuyoshi, N., Masanori, T., Akihiro, K., and Hikaru, S. (2006). Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan. *Environ Biosafety Res* 5, 77-87.

Garnier, A., Pivard, S., and Lecomte, J. (2008). Measuring and modelling anthropogenic secondary seed dispersal along roadverges for feral oilseed rape. *Basic Appl Ecol* 9, 533-541.

Katsuta K., Kazuhito Matsuo K., Yasuyuki Yoshimura Y., and Ryo Ohsawa R. (2015). Long-term monitoring of feral genetically modified herbicide-tolerant *Brassica napus* populations around unloading Japanese ports. *Breeding Science* 65 : 265-275.

Kawata, M., Murakami, K., and Ishikawa, T. (2009). Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors. *Environ Sci Pollut Res* 16, 120-126.

Nishizawa, T., Nobuyoshi, N., Mitsuko, A., Masanori, T., Akihiro, K., and Hikaru, S. (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ Biosafety Res* 8, 33-44.

Pessel, F.D., Lecomte, J., Emeriau, V., Krouti, M., Messean, A., and Gouyon, P.H. (2001). Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theor Appl Genet* 102, 841-846.

Saji, H., Nobuyoshi, N., Mitsuko, A., Masanori, T., Akihiro, K., Seiji, W., Yoriko, H., and Masato, N. (2005). Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environ Biosafety Res* 4, 217-222.

Schafer, M.G., Ross, A.A., Londo, J.P., Burdick, C.A., Lee, E.H., Travers, S.E., Van de Water, P.K., and Sagers, C.L. (2011). The establishment of genetically engineered canola populations in the US. *PLoS One* 6, 4.

5.3.4 Interactions of the GM plant with non-target organisms (NTOs)

In the conditions described in the HCB Scientific Committee's comments on Section 5.3.1, where dispersal would be controlled, the HCB Scientific Committee acknowledges that no significant exposure of non-target organisms to oilseed rape MS11 x RF3 progeny is expected.

6. Environmental monitoring plan

Although the HCB Scientific Committee agrees that the post-market environmental monitoring plan meets all the regulatory requirements, it believes that monitoring methodologies might be described in greater detail.

The HCB Scientific Committee requests the applicant to detail (1) the specific measures recommended to mitigate the known risk of accidental release of oilseed rape seed between ports of entry and crushing plants or following an industrial accident, and (2) monitoring measures to detect volunteers of oilseed rape MS11 x RF3 and its segregating progeny. The measures to destroy them if detected have already been provided.

The HCB Scientific Committee recommends that the applicant collaborate closely with national competent authorities, local stakeholders and operators and the management authorities of the transport routes used, to ensure that these measures are defined in detail, taking into account the specific features of the importing country.