



HAL
open science

**AVIS en réponse à la saisine 130905- saisine HCB -
dossier 2009-681 concernant le dossier
EFSA-GMO-NL-2009-68**

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

► **To cite this version:**

Pagès Jean-Christophe, Leguay Jean-Jacques, Yves Bertheau, Boireau Pascal, Bourguet Denis, et al..
AVIS en réponse à la saisine 130905- saisine HCB - dossier 2009-681 concernant le dossier EFSA-
GMO-NL-2009-68. [0] Haut Conseil des Biotechnologies. 2013. hal-02915573

HAL Id: hal-02915573

<https://hal.inrae.fr/hal-02915573>

Submitted on 14 Aug 2020

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

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



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

HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 2 décembre 2013

AVIS

en réponse à la saisine **130905- saisine HCB - dossier 2009-68**¹
concernant le dossier **EFSA-GMO-NL-2009-68**.

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 23 septembre 2013 par les Autorités compétentes françaises (le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-NL-2009-68 portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché du cotonnier génétiquement modifié 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 à des fins d'importation, de transformation, et d'alimentation humaine et animale.

Ce dossier a été déposé par Agrigenetics, Inc. *d/b/a* Mycogen Seeds auprès de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003.

Conformément à ce règlement, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est centralisée par l'EFSA. Les Etats membres disposent de trois mois pour envoyer leurs commentaires à l'EFSA en contribution à l'évaluation de ce dossier. Dans ce cadre, le HCB est invité à proposer des commentaires à transmettre à l'EFSA d'ici le 2 décembre 2013.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a procédé à l'examen de ce dossier le 5 novembre 2013 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès.

¹ La saisine « **130905- saisine HCB - dossier 2009-68** » est reproduite dans l'Annexe 1.

² La composition du CS ainsi que le rapporteur externe ayant contribué à l'élaboration de l'avis sont précisés dans l'Annexe 2.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION.....	3
1.1. CONTEXTE ET ENJEU DE LA SAISINE	3
1.2. PRÉSENTATION DU DOSSIER.....	4
2. COMMENTAIRES À DESTINATION DE L'EFSA.....	4
2.1. REMARQUES GÉNÉRALES.....	4
2.2. COMMENTAIRES PAR SECTIONS DÉFINIES PAR L'EFSA	5
3. BIBLIOGRAPHIE.....	10
ANNEXE 1 : SAISINE	12
ANNEXE 2 : ELABORATION DES COMMENTAIRES.....	13
ANNEXE 3 : COMMENTAIRES TRADUITS EN ANGLAIS À DESTINATION DE L'EFSA ...	14
A3.1. GENERAL COMMENTS	14
A3.2. COMMENTS PER SECTION.....	15

1. Introduction

1.1. Contexte et enjeu de la saisine

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 23 septembre 2013 par les Autorités compétentes françaises (le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-NL-2009-68, portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché du cotonnier génétiquement modifié 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine et animale. Le dossier EFSA-GMO-NL-2009-68 a été déposé par Agrigenetics, Inc. d/b/a Mycogen Seeds dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003³ (EC, 2003) auprès de l'EFSA⁴.

Dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées est centralisée par l'EFSA, qui doit transmettre son opinion à la Commission européenne dans un délai de six mois à compter de la date de validation du dossier – en pratique, cette période de six mois peut être allongée au cas où une demande d'information supplémentaire est adressée au pétitionnaire. Les Etats membres disposent d'un délai ferme de trois mois pour envoyer leurs commentaires à l'EFSA en contribution à l'évaluation du dossier. C'est dans ce cadre que le HCB a été saisi ; l'avis du HCB prend donc la forme de commentaires à destination de l'EFSA.

L'enjeu de cet avis du HCB est donc de contribuer à l'évaluation du dossier par l'EFSA. Les commentaires des Etats membres, dès réception par l'EFSA, sont transmis d'une part aux experts de trois groupes de travail du panel OGM⁵ 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 correspondantes de l'EFSA, sont rendus publics, en annexe de l'opinion 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 recommandée 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, 2011a). 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 opinion scientifique.

Par cet avis, le Comité scientifique (CS) du HCB transmet aux Autorités compétentes françaises des commentaires destinés à l'EFSA en français, avec une traduction en anglais présentée en annexe.

³ 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 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>.

⁴ EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments, traduction de *European Food Safety Authority*.

⁵ OGM : organismes génétiquement modifiés.

1.2. **Présentation du dossier**

Le cotonnier génétiquement modifié 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 est un cotonnier rendu tolérant à deux types d'herbicides — les herbicides à base de glufosinate, et les herbicides à base de glyphosate —, et résistant à certains lépidoptères ravageurs du cotonnier, notamment *Heliothis virescens* (*tobacco budworm*) et *Pectinophora gossypiella* (Sanders) (*Pink bollworm*).

Il a été obtenu par croisements successifs de trois lignées de cotonnier portant chacune un événement de transformation différent : (1) l'événement 281-24-236 porte deux cassettes d'expression, l'une incluant le gène *cry1F*(synpro) conférant une résistance à des lépidoptères, et l'autre le gène *pat* conférant une tolérance aux herbicides à base de glufosinate ; (2) l'événement 3006-210-23 porte deux cassettes d'expression, l'une incluant le gène *cry1Ac*(synpro) conférant une résistance à des lépidoptères et l'autre le gène *pat* ; (3) l'événement MON 88913 porte deux cassettes d'expression portant toutes deux le gène *cp4 epsps* conférant la tolérance aux herbicides à base de glyphosate.

Les gènes *cry1F*(synpro) et *cry1Ac*(synpro) sont des versions synthétiques, optimisées pour l'expression dans les plantes, des gènes *cry1F* de *Bacillus subtilis* var. *aizawai*, et *cry1Ac* de *Bacillus subtilis* var. *kurstaki*, dont l'expression conjointe confère une résistance aux lépidoptères *Heliothis virescens* et *Pectinophora gossypiella* (Sanders).

Le gène *pat* est une version synthétique du gène *pat* de *Streptomyces viridochromogenes* codant la phosphinothricine acétyl transférase, qui détoxifie le glufosinate ammonium.

Le gène *cp4 epsps*, de la souche CP4 d'*Agrobacterium* sp., exprime la forme CP4 EPSPS de l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, qui est insensible à l'inhibition par le glyphosate, contrairement à l'enzyme EPSPS endogène du cotonnier (la toxicité du glyphosate chez les plantes s'explique par l'inhibition de l'enzyme EPSPS, dont la fonction est essentielle à la production des acides aminés et autres composés aromatiques).

Les transgènes des trois événements initiaux ont été transférés par *Agrobacterium tumefaciens* dans les variétés de cotonnier GC510 (281-24-236 x 3006-210-23) et Coker312 (MON 88913). Ils sont chacun présents en un locus d'insertion et en une copie. Les trois insertions des lignées parentales se retrouvent inchangées dans l'empilage 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913, à part pour l'événement 281-24-236 dans lequel il existe une copie additionnelle d'un promoteur et une copie tronquée d'un gène *pat*, pour lequel aucun produit protéique n'est détecté dans la plante. Les caractères induits par l'expression de ces transgènes sont stables dans les différentes lignées et dans l'empilage. Aucun autre transgène que ceux portés par les trois ADN de transfert n'est présent dans chacun des cotonniers parentaux et donc dans le cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913.

Le pétitionnaire présente dans ce dossier l'évaluation des risques environnementaux et sanitaires de l'importation, la transformation, et l'alimentation humaine et animale du cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 dans l'Union européenne. 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 (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail).

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, de l'agroalimentaire et de la forêt, et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), saisi par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur. Les commentaires concernant la toxicité, l'allergénicité et l'alimentarité sont

envoyés par l'Anses via le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur, en complément aux commentaires du HCB sur les autres aspects du dossier.

Remarques principales :

1. Globalement, le dossier ne se réfère qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré. Or, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales propices à la persistance du cotonnier et où la dissémination par flux de gènes est théoriquement possible, même si peu probable. C'est le cas pour certains des DROM-COM (Départements et Régions d'Outre Mer - Collectivités d'Outre Mer) du territoire français, comme par exemple la Guadeloupe, la Martinique et Saint-Martin dans les Antilles françaises. Le CS du HCB souhaite que les caractéristiques environnementales particulières de ces régions soient considérées dans l'évaluation des risques et les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées dans l'Union européenne.
2. Concernant les analyses comparatives présentées dans le dossier, le CS du HCB relève de nombreuses faiblesses méthodologiques, dont notamment une absence de tests statistiques d'équivalence, une absence d'analyse de puissance, et l'utilisation de données historiques à la place de données expérimentales obtenues sur un lot de variétés conventionnelles de référence testées dans les essais en champ. Le CS du HCB demande qu'une analyse de puissance ou qu'une réflexion approfondie telle que celle proposée en alternative par l'EFSA (EFSA, 2010b) soit réalisée par le pétitionnaire pour toutes les analyses de comparaison, et que des tests statistiques d'équivalence soient réalisés pour permettre effectivement de conclure à l'équivalence, comme le recommande l'EFSA dans ses dernières recommandations (EFSA, 2010a, b).
3. Le CS du HCB demande que les conditions de repousses du cotonnier soient réexaminées en prenant en compte la bibliographie plus récente sur le sujet pour pouvoir prévoir avec plus de précision la possibilité de repousses de cotonnier dans l'Union européenne.
4. Le CS du HCB demande que les points soulignés dans cet avis concernant le matériel de référence, la spécificité et le calibrage des méthodes de détection/quantification du cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 soient clarifiés ou révisés par le pétitionnaire.
5. Le CS du HCB demande que le plan de surveillance environnementale soit plus précis et plus détaillé en termes de méthodologie, de définition de ligne de base et de réseaux de surveillance.

Remarque supplémentaire :

Certains membres du CS du HCB soulignent qu'une étude plus large serait souhaitable concernant les conséquences en Europe de la culture du cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 dans des pays tiers exportateurs, non seulement en termes socio-économiques, 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.

2.2. Commentaires par sections définies par l'EFSA

N.B. : Les titres soulignés correspondent aux sections de dossier définies par l'EFSA, 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.

B. INFORMATION RELATING TO THE RECIPIENT OR (WHERE APPROPRIATE) PARENTAL PLANTS

2. Information concerning reproduction

Part I, Technical dossier, p. 5 :

"(...) there is no availability of wild relatives with which to cross with since no genera in Gossypieae occurs naturally in Spain, Greece or other countries of the European union."

Des cotonniers subspontanés présents à l'état pérenne (féraux et sauvages) existent dans certaines régions ultrapériphériques de l'Union européenne situées en zones tropicales, comme aux Antilles par exemple. Le CS du HCB souhaiterait que les conditions environnementales particulières de ces régions soient prises en compte dans le dossier.

3. Survivability

Le pétitionnaire indique (Part I, Technical dossier, p. 5) :

"Neither plants or seeds persist where over-wintering mean monthly temperature are below 18 °C."

Des repousses de cotonnier à partir de graines ayant résisté l'hiver ont parfois été observées dans la région de la Cotton Belt aux Etats-Unis, dans des champs de soja GM résistant au glyphosate en rotation avec la culture de cotonnier GM résistant au glyphosate (York et al., 2004), ce qui a incité des recherches sur les méthodes de contrôle de ces repousses (York et al., 2004). Une revue rapportant ce travail précisait en 2007 que les recherches sur le sujet étaient limitées (Beckie and Owen, 2007). Le CS du HCB demande que les conditions de repousses du cotonnier soient réexaminées en prenant en compte la bibliographie plus récente sur le sujet pour pouvoir prévoir la possibilité de repousses de cotonnier dans l'Union européenne.

Par ailleurs, les conditions tropicales de certaines régions ultrapériphériques de l'Union européenne ne sont pas considérées par le pétitionnaire. La capacité de persistance des cotonniers est assurée sous climat tropical. Ceci devrait être pris en compte dans le dossier.

5. Geographical distribution and cultivation of the plant, including distribution in Europe of the compatible species

Le pétitionnaire devrait donner ici des éléments relatifs à la culture et à la distribution du cotonnier en Europe. Il est seulement dit dans la section suivante B.1.6 *"Cotton is grown in the EU, mainly in Greece and Spain"*, deux pays auxquels il faudrait ajouter d'autres pays où le cotonnier a été cultivé ou est cultivé à petite échelle, comme la Bulgarie, l'Italie, le Portugal (voir : http://ec.europa.eu/agriculture/cotton/index_en.htm).

Il est mentionné qu'excepté dans les pays qui le cultivent, il n'y a pas, dans l'Union européenne, de plantes apparentées au cotonnier (*Gossypium*) susceptibles de s'hybrider avec celui-ci. Si l'on considère les régions ultrapériphériques de l'Union européenne de climat tropical, comme aux Antilles par exemple, cette affirmation devrait être corrigée.

D. INFORMATION RELATING TO THE GM PLANT

7. Information on any toxic, allergenic or other harmful effects on human or animal health arising from the GM food/feed

7.2 Production of material for comparative assessment

Les analyses comparatives mises en œuvre par le pétitionnaire souffrent de nombreuses faiblesses méthodologiques.

L'étude comparative de ce dossier a été réalisée sur cinq sites aux Etats Unis, avec trois réplifications pour chaque site. Elle exploite des données historiques de la littérature générées à partir de diverses variétés de coton non transgénique comme seules références pour comparaison aux données du cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 et de son

comparateur non génétiquement modifié et de même fond génétique (PSC355). Elle ne met en œuvre que des tests statistiques de comparaison. Aucune analyse de puissance n'est effectuée.

L'EFSA recommande dans son dernier document d'orientation sur les analyses comparatives (EFSA, 2011b) qu'une telle étude soit réalisée sur un minimum de huit sites et non cinq, avec un minimum de quatre réplifications et non trois, et qu'elle inclue au moins six variétés de références pour estimer la variabilité compositionnelle naturelle des cotonniers, en lieu et place de l'utilisation de données historiques. L'EFSA recommande également que l'analyse comparative mette en œuvre des tests statistiques de comparaison mais également des tests d'équivalence, absents de ce dossier. Enfin, l'analyse de puissance est requise pour évaluer la pertinence biologique des différences observées.

Sur le non suivi de ces recommandations, la remarque suivante du pétitionnaire n'est pas recevable (Part I, Technical dossier, p. 24) :

"Please note that commercial lines were not included in the study since it was commissioned in 2006, based on the EFSA (2006) guidelines".

En effet, le fait que ce dossier soit antérieur aux dernières recommandations de l'EFSA ne justifie en rien de mauvaises pratiques statistiques (voir section 7.3 suivante).

7.3 Selection of material and compounds for analysis

Analyse comparative de composition des graines :

Le pétitionnaire conclut à de nombreuses reprises à l'équivalence sur la base de tests de comparaison. A titre d'exemple (Part I, Technical dossier, p. 28-29) :

"The composition results do not indicate any treatment related compositional differences among 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton and control cotton lines (Phillips et al., 2008a). In conclusion, 281-24-236x3006-210-23xMON8891 cotton composition has been shown to be equivalent to conventional cotton lines."

Ce point est d'autant plus important que le pétitionnaire utilise par la suite cet argument d'équivalence pour conclure sur d'autres aspects du dossier. Ainsi, l'équivalence en composition étant considérée établie, les études nutritionnelles sont jugées inutiles (Part I, Technical dossier, p. 40) :

7.10.1 Nutritional assessment of GM food

Considering the comparable composition and nutritional value of 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton together with the results of the assessment of dietary intake and nutritional impact confirm that food products derived from 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton are nutritionally equivalent to food products derived from commercial conventional cotton, no detail studies on other specific biomolecules are required.

7.10.2 Nutritional assessment of GM feed

281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton is compositionally and nutritionally equivalent to conventional cotton – see Section D.7.8.4."

Cet argument n'est pas recevable tel qu'il est formulé. En effet, si l'étude ne met en évidence aucune différence compositionnelle considérée comme biologiquement significative par le pétitionnaire entre le cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 et son comparateur, elle ne démontre toutefois pas l'équivalence avec les variétés de cotonnier conventionnelles.

Enfin, la comparaison aux données de la littérature reste très imprécise. Rien n'est dit sur la façon dont les données recueillies à partir des échantillons testés ont été comparées aux données de la littérature. Comment ces étendues sont-elles comparées ? Ces données sont-elles comparables ? Certains constituants comme les minéraux présentent une variabilité « naturelle » très grande (voir tableau 8, p. 80), en particulier le sodium (étendue = 3 – 735 mg/100 g de matière sèche). Quelle est la signification biologique de ces intervalles et de

leur comparaison aux données du cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 et de son comparateur ?

Cette comparaison aux données de la littérature met parfois en évidence des différences majeures entre ces données historiques d'une part, et les données du cotonnier transgénique et son comparateur d'autre part. Si ces différences ne posent pas problème dans le cadre de l'évaluation du cotonnier transgénique par rapport à son comparateur non transgénique de même fond génétique, il est légitime de se poser la question sur les origines de ces différences, et de s'interroger sur la représentativité des variétés prises en compte dans ces données historiques par rapport au fond génétique du cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 et de son comparateur testé dans le dossier. Un commentaire du pétitionnaire sur la question serait bienvenu. C'est le cas par exemple du molybdène et du soufre, dont les teneurs mesurées dans le cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 comme dans son comparateur sont respectivement très inférieures et très supérieures aux intervalles de variabilité définis par les données historiques présentées dans le dossier (tableau 8).

7.5 Product specification

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur.

Le CS du HCB souhaite néanmoins commenter ici les méthodes de détection établies par le pétitionnaire.

Part I, Technical dossier, p. 29 :

“Currently, the detection methods for 281-24-236x3006-210-23 cotton MON 88913 cotton have been validated internally on 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton and submitted to the JRC.

*Certified reference materials, ERM-BF422 for 281-24-236x3006-210-23 cotton, are accessible via the JRC of the European Commission, the Institute of Reference Materials and Measurements (IRMM) at:
http://www.irmm.jrc.be/html/reference_materials_catalogue/index.htm*

Conversely, reference samples of MON 88913 cotton are being certified by the The American Oil Chemicals Society (AOCS): (<http://www.aocs.org/tech/crm>)”

Du matériel de référence pour les cotonniers 281-24-236 x 3006-210-23 et MON 88913 est respectivement disponible auprès du JRC-IRMM⁶ et de l'AOCS⁷. La coexistence de deux types de matériel de référence différents rendra plus difficile et coûteuse l'activité des laboratoires de contrôle.

Les méthodes de détection/quantification établies pour les cotonniers 281-24-236 x 3006-210-23 et MON 88913 ont été acceptées par l'EURL-GMFF sur des critères métriques et non sur les critères de spécificité d'espèce tels que requis par la norme ISO 21570 (ISO, 2008) et les lignes directrices ENGL de l'EURL-GMFF⁸ (ENGL, 2008) (<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/guidancedocs.htm>). Les gènes de référence *sah7*, utilisé pour l'empilage 281-24-236 x 3006-210-23, et *acp1*, utilisé pour le cotonnier MON 88913, ne sont pas spécifiques de *Gossypium hirsutum*. Ils permettent de détecter aussi, au minimum, *G. herbaceum* et *G. raimondii* (d'où sont issus les génomes A et D de *G. hirsutum*), et probablement d'autres espèces végétales dont *G. barbadense*, voire d'autres genres

⁶ *Institute for Reference Materials and Measurements* : l'un des sept instituts du Centre de recherche commun de la Commission européenne <http://irmm.jrc.ec.europa.eu/html/homepage.htm>.

⁷ *American Oil Chemists' Society* : association qui promeut le partage des connaissances et de l'information scientifique, <http://www.aocs.org/index.cfm>.

⁸ *Community Reference Laboratory for GM Food and Feed of the Joint Research Centre*, Laboratoire de référence communautaire du Centre de recherche commun de la Commission Européenne, instauré par le règlement (CE) 1829/2003, appelé maintenant l'EURL-GMFF (European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed : http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-gmff).

(*Gossypioides kirki*). Aucune étude de spécificité n'est fournie par le pétitionnaire dans le dossier.

Enfin, le CS du HCB signale que les résultats de quantification devraient être calibrés en accord avec la référence de Praça-Fontes (Praça-Fontes et al., 2011) et non la référence plus ancienne de Arumuganathan et Earl (Arumuganathan and Earle, 1991).

Le CS du HCB demande que ces aspects concernant le matériel de référence, la spécificité et le calibrage des méthodes de détection/quantification du cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 soient révisés en accord avec les normes ISO et les lignes directrices ENGL.

7.6 Effect of the production and processing

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur.

7.7 Anticipated intake/extent of use

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur.

7.8 Toxicology

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur.

7.9 Allergenicity

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur.

7.10 Nutritional assessment of GM food/feed

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur.

Le CS du HCB attire néanmoins l'attention sur les mauvaises pratiques statistiques mises en œuvre dans l'analyse comparative, explicitées dans les sections 7.2 et 7.3. Le CS du HCB rappelle qu'en l'absence de tests d'équivalence, le pétitionnaire ne peut conclure à l'équivalence en composition. L'argumentation du pétitionnaire selon laquelle l'évaluation de l'alimentarité des cotonniers 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 n'est pas nécessaire sur la base d'une équivalence en composition avec les variétés de cotonniers non transgéniques n'est pas justifiée.

7.11 Post-market monitoring of GM food/feed

Voir les commentaires de l'Anses, transmis à l'EFSA par le Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur.

9. Potential changes in the interactions of the GM plant with the biotic environment resulting from the genetic modification

9.1 Persistence and invasiveness

Part I, Technical dossier, p. 42 :

"In tropical or subtropical regions where chilling winter temperatures are absent, wild and feral cotton may remain dormant and exhibit regrowth with the onset of summer. Cotton,

however, will not persist over winter if the mean temperature of the coldest month falls below 18°C (Martin et al., 1976)."

Le CS du HCB souhaiterait que le pétitionnaire mette à jour sa bibliographie documentant l'existence de repousses et de populations férales de cotonnier dans le monde. Cette mise à jour permettrait de réexaminer les conclusions de l'équipe de Martin de 1976 sur les conditions de température permettant au cotonnier de passer l'hiver. Une publication de 2007 rapportait la détection de repousses de cotonnier à partir de graines qui auraient résisté à l'hiver en Amérique du Nord (Beckie and Owen, 2007).

Par ailleurs, comme l'indique le pétitionnaire dans cette citation du dossier, les cotonniers peuvent persister en conditions tropicales. Certaines régions ultrapériphériques de l'Union européenne se trouvent en conditions tropicales. Le CS du HCB souhaiterait que leur cas soit considéré dans le dossier.

9.2 Selective advantage or disadvantage

Dans les conditions permettant des repousses ou des populations férales de cotonnier, les cotonniers 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 possèdent un avantage sélectif en présence d'un ou des deux herbicides auquel il est tolérant. En France, le glufosinate n'est plus autorisé en zones non agricoles et les produits précédemment autorisés sont en cours de retrait. En revanche, même si son utilisation est en baisse, le glyphosate y est encore fréquemment utilisé. D'éventuelles repousses de cotonnier 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 auraient un avantage sélectif en présence de glyphosate. Cet avantage sélectif ne pourra être contourné qu'à la condition que d'autres techniques de désherbage soient utilisées, comme le désherbage manuel ou l'emploi d'autres herbicides.

9.3 Potential for gene transfer

Contrairement au territoire métropolitain et à la majorité de l'Europe continentale, il existe dans les régions ultrapériphériques de l'Union européenne de climat tropical une possibilité théorique de flux de gènes d'éventuels cotonniers 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 résultant de fuites accidentelles de graines le long des voies d'importation vers des cotonniers spontanés présents à l'état pérenne (féraux et sauvages) dans ces régions, comme c'est le cas par exemple aux Antilles. La probabilité d'une telle hybridation est toutefois faible compte tenu des nombreuses conditions à réunir pour la réaliser.

11. Environmental Monitoring Plan

Le CS du HCB demande que le plan de surveillance environnementale soit plus précis et plus détaillé en termes de méthodologie, de définition de ligne de base et de réseaux de surveillance.

3. Bibliographie

Arumuganathan, K., and Earle, E. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter* 9, 208-218.

Beckie, H.J., and Owen, M.D.K. (2007). Herbicide-resistant crops as weeds in North America. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 2, 22.

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 (2010a). EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *The EFSA Journal* 8(11):1879, 111 pp.

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

EFSA (2011a). EFSA guidance on the submission of applications for authorisation of genetically modified food and feed and genetically modified plants for food or feed uses under Regulation (EC) No 1829/2003. *The EFSA Journal* 9(7): 2311, 27 pp.

EFSA (2011b). Scientific opinion on guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. *The EFSA Journal* 9 (5): 2150, 37 pp.

ENGL (2008). Definition of minimum performance requirements for analytical methods of GMO testing (European Network of GMO Laboratories, Community Reference Laboratory GM Food and Feed), pp. 8.

ISO (2008). ISO 21570:2008. Foodstuffs -- Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products -- Quantitative nucleic acid based methods. In Spanish Standard (Geneva, Switzerland, International Organization for Standardization), pp. 111.

Praça-Fontes, M.M., Carvalho, C.R., Clarindo, W.R., and Cruz, C.D. (2011). Revisiting the DNA C-values of the genome size-standards used in plant flow cytometry to choose the "best primary standards". *Plant Cell Rep* 30, 1183-1191.

York, A.C., Stewart, A.M., Viridine, P.R., and Culpepper, A.S. (2004). Control of volunteer glyphosate-resistant cotton in glyphosate-resistant soybean. *Weed Technol* 18, 532-539.

Annexe 1 : Saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT

Direction générale de
l'alimentation

Service de la prévention
des risques sanitaires de
la production primaire

Sous direction de la
qualité et de la protection
des végétaux

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

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Monsieur Jean-François DHAINAUT
Président du Haut conseil des
biotechnologies
à l'attention de Monsieur Hamid Ouahioune
244, boulevard Saint-Germain
75007 PARIS

23 SEP. 2013

Paris, le

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

Références : 130905- saisine HCB - dossier 2009-68

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

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

- dossier **EFSA-GMO-NL-2009-68**, concernant la mise sur le marché du coton génétiquement modifié **281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913** pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Les États membres peuvent transmettre leurs commentaires à l'AESA jusqu'au 5 décembre 2013.

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'AESA au plus tard le **2 décembre 2013**.

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

L'Ingénieur en chef des Ponts,
des Saucres et des Forêts
Sous-Directeur
de la Qualité et de la Protection des Végétaux

Robert TESSIER

Annexe 2 : Elaboration des commentaires

Ces commentaires ont été élaborés par le CS du HCB à partir de la discussion de rapports d'expertise en séance du 5 novembre 2013⁹ et d'échanges ultérieurs jusqu'à adoption par voie électronique le 2 novembre 2013 sous la présidence du Dr Jean-Christophe Pagès, sous la vice-présidence du Dr Jean-Jacques Leguay, et sous la coordination scientifique du Dr Catherine Golstein, responsable scientifique et chargée des affaires européennes au HCB.

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 :

Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Bruno Chauvel, François-Christophe Coléno, Denis Couvet, Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, Maryse Deguergue, Marion Desquilbet, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Nathalie Eychenne, Anne Dubart-Kupperschmitt, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Mireille Jacquemond, André Jestin, Bernard Klonjowski, Marc Lavielle, Jane Lecomte, Jean-Jacques Leguay, Didier Lereclus, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Alexandre Moatti, Jacques Pagès, Jean-Christophe Pagès, Daniel Parzy, Michel Renard, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Patrick Saindrenan, Annie Sasco, Pascal Simonet, Bernard Vaissière, Jean-Luc Vilotte.¹⁰

Le dossier a été examiné par sept experts rapporteurs sélectionnés pour leurs compétences dans les disciplines requises pour l'analyse du dossier : six membres du CS du HCB et un expert externe, Jean-Marc Lacape, du CIRAD. Jean-Marc Lacape a signé un engagement de confidentialité, et a certifié n'avoir aucun conflit d'intérêts avec le dossier concerné. Il a fourni une analyse du dossier dans son domaine d'expertise. Il n'a toutefois pas contribué directement à la rédaction de ces commentaires, qui restent de la responsabilité du CS du HCB.

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. Participant à l'élaboration de l'avis de l'EFSA en tant que membre du panel OGM de l'EFSA, Antoine Messéan n'a contribué ni à l'élaboration ni à la rédaction de ces commentaires. Aucun des autres membres du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec l'élaboration de ces commentaires.

L'adoption de ces commentaires par le CS du HCB indique qu'une majorité de ses membres s'est exprimée en leur faveur, dans la limite des compétences des experts et après exposé de l'ensemble des points de vue.

⁹ Membres du CS présents et représentés lors la discussion du projet d'avis en séance du 5 novembre 2013 : Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Bruno Chauvel, Denis Couvet, Elie Dassa, Maryse Deguergue, Marion Desquilbet, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Anne Dubart-Kupperschmitt, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, André Jestin, Bernard Klonjowski, Marc Lavielle, Jane Lecomte, Jean-Jacques Leguay, Didier Lereclus, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Alexandre Moatti, Jean-Christophe Pagès, Daniel Parzy, Michel Renard, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Bernard Vaissière, Jean-Luc Vilotte.

¹⁰ Composition du CS en vigueur suite au dernier décret de nomination des membres du Comité scientifique du HCB paru le 24 octobre 2013.

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-NL-2009-68 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), which received a referral from the Ministry for Agriculture, Food and Forestry, and the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (ANSES), which received a referral from the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade. Comments on toxicity, allergenicity and nutrition have been forwarded by ANSES through the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade to complement HCB comments on other aspects of the application.

Main comments

1. In general, the application refers only to import into temperate regions of the European Union. However, the European Union also includes some outermost regions in the tropics, which are conducive to persistence of cotton plants, where dissemination through gene flow is theoretically possible even if unlikely. This is the case in some French overseas departments and territories such as Guadeloupe, Martinique and Saint Martin in the French West Indies. The HCB Scientific Committee wishes the specific environmental attributes of these areas to be taken into account in risk assessments and monitoring plans for applications to place genetically modified plants on the market in the European Union.
2. With regard to the application's comparative assessment, the HCB Scientific Committee notes numerous methodological shortcomings, including no statistical equivalence tests, no power analysis and use of historical data instead of experimental data from a batch of conventional reference varieties tested in field trials. The HCB Scientific Committee requests that a power analysis, or else the in-depth consideration suggested by EFSA as an alternative (EFSA, 2010b), be provided by the applicant for all comparative assessment and that statistical equivalence tests be carried out in order to be genuinely able to conclude that there is equivalence, as recommended by EFSA in its recent guidance (EFSA, 2010a, b).
3. The HCB Scientific Committee requests that conditions for cotton regrowth be re-examined in the light of the latest literature on the subject in order to forecast more precisely the possibility of volunteer cotton plants in the European Union.
4. The HCB Scientific Committee asks the applicant to review or clarify the points emphasised in this opinion concerning reference material, specificity and calibration of detection/quantitation methods for 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton.
5. The HCB Scientific Committee asks that the environmental monitoring plan be more specific and detailed in terms of methodology, baseline definition and monitoring networks.

Other comments

Some members of the HCB Scientific Committee have emphasised that a broader study of the consequences for Europe of cultivation of 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton in exporting third-countries would be desirable, not only in socio-economic terms but also with regard to biodiversity. They have pointed 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 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 crops choices in Europe and therefore the biodiversity resulting from such agrosystem choices.

EFSA (2010a). EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. The EFSA Journal 8(11):1879, 111 pp.

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

A3.2. Comments per section

B. INFORMATION RELATING TO THE RECIPIENT OR (WHERE APPROPRIATE) PARENTAL PLANTS

2. Information concerning reproduction

Part I, Technical dossier, p. 5:

'[...] there is no availability of wild relatives with which to cross with since no genera in Gossypieae occurs naturally in Spain, Greece or other countries of the European union.'

Subspontaneous cotton plants exist as perennials (feral and wild) in the tropical outermost regions of the European Union in the tropics, such as in the West Indies. The HCB Scientific Committee would like the application to take account of the specific environmental conditions in these areas.

3. Survivability

The applicant states (*Part I, Technical dossier*, p. 5):

'Neither plants or seeds persist where over-wintering mean monthly temperature are below 18 °C.'

Volunteer cotton plants from overwintered seed have occasionally been recorded in the Cotton Belt in the United States in glyphosate-resistant soybean grown in rotation with glyphosate-resistant cotton (York et al., 2004), which has encouraged research on control of volunteer glyphosate-resistant cotton (York et al., 2004). A review of this work in 2007 noted that research on the subject was limited (Beckie and Owen, 2007). The HCB Scientific Committee requests that conditions for cotton regrowth be re-examined in the light of the latest literature on the subject in order to forecast more precisely the possibility of volunteer cotton plants in the European Union.

Furthermore, the applicant has failed to consider tropical conditions in some of the European Union's outermost regions. Cotton plants are certain to survive in tropical climates. This should be taken into account in the application.

Beckie, H.J., and Owen, M.D.K. (2007). Herbicide-resistant crops as weeds in North America. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 2, 22.

York, A.C., Stewart, A.M., Viridine, P.R., and Culpepper, A.S. (2004). Control of volunteer glyphosate-resistant cotton in glyphosate-resistant soybean. *Weed Technol* 18, 532-539.

5. Geographical distribution and cultivation of the plant, including distribution in Europe of the compatible species

The applicant is here supposed to provide information on cotton cultivation and distribution in Europe. The following section (B.1.6) merely states, 'Cotton is grown in the EU, mainly in Greece and Spain', to which should be added the countries where cotton is or used to be grown on a small scale, such as Bulgaria, Italy and Portugal (see http://ec.europa.eu/agriculture/cotton/index_en.htm).

It is asserted that, apart from in the countries where it is grown, cotton (*Gossypium*) has no relatives likely to cross with it in the European Union. Taking into account the European Union's tropical outermost regions such as in the West Indies, this assertion ought to be corrected.

D. INFORMATION RELATING TO THE GM PLANT

7. Information on any toxic, allergenic or other harmful effects on human or animal health arising from the GM food/feed

7.2 Production of material for comparative assessment

The comparative assessment conducted by the applicant suffers from numerous methodological shortcomings.

The application's comparative assessment was carried out at five sites in the United States with three replicates for each site. It uses historical data from the literature, produced for sundry varieties of non-transgenic cotton, as the only references for comparison with data for 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton and its non-GM comparator in the same genetic background (PSC355). It is confined to statistical difference tests. No power analysis has been carried out.

In its latest guidance on comparative assessment, EFSA recommends that such a study be conducted on a minimum of eight sites rather than five, with a minimum of four replicates rather than three, and that it include at least six reference varieties to estimate the natural compositional variability of cotton rather than making use of historical data (EFSA, 2011b). EFSA also recommends using not only statistical difference tests but also equivalence tests, which are lacking in this application, for comparative assessment. Lastly, a power analysis is required to assess the biological relevance of the differences recorded.

As regards the failure to follow these recommendations, the following comment by the applicant is not admissible (*Part I, Technical dossier*, p. 24):

'Please note that commercial lines were not included in the study since it was commissioned in 2006, based on the EFSA (2006) guidelines.'

The fact that the study predates the most recent EFSA guidance is no excuse for poor statistical practices (see section 7.3 below).

EFSA (2011b). Scientific opinion on guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. The EFSA Journal 9 (5): 2150, 37 pp.

7.3 Selection of material and compounds for analysis

Comparative assessment of seed composition

The applicant frequently infers equivalence on the basis of difference tests. For example (*Part I, Technical dossier*, pp. 28/29):

'The composition results do not indicate any treatment related compositional differences among 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton and control cotton lines (Phillips et al., 2008a). In conclusion, 281-24-236x3006-210-23xMON8891 cotton composition has been shown to be equivalent to conventional cotton lines.'

This point is particularly important since the applicant subsequently uses this equivalence argument to draw conclusions about other aspects of the application. Thus because compositional equivalence is held to have been proven, nutritional studies are deemed unnecessary (*Part I, Technical dossier*, p. 40):

7.10.1 Nutritional assessment of GM food

[...] Considering the comparable composition and nutritional value of 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton together with the results of the assessment of dietary intake and nutritional impact confirm that food products derived from 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton are nutritionally equivalent to food products derived from commercial conventional cotton, no detail studies on other specific biomolecules are required.

7.10.2 Nutritional assessment of GM feed

281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton is compositionally and nutritionally equivalent to conventional cotton – see Section D.7.8.4.'

As it stands, this argument is inadmissible: although the study does not show any compositional differences between 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton and its comparator that are considered to be biologically significant by the applicant, it does not demonstrate equivalence with conventional cotton varieties.

Lastly, the comparison with literature data is very sketchy. Nothing is said about the method by which data obtained from tested samples were compared with literature data. How are the ranges compared? Are the data comparable? Some constituents, such as minerals, have a very wide 'natural' variability (see Table 8, p. 80), particularly sodium (range = 3 - 735 mg/100 g dry weight). What is the biological significance of these ranges and their comparison with data for 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton and its comparator?

This comparison with literature data sometimes shows major differences between the historical data on the one hand and data for the transgenic cotton and its comparator on the other. While these differences are not a problem in terms of assessment of transgenic cotton in relation to its non-transgenic comparator in the same genetic background, questions may legitimately be asked as to the origin of these differences and as to whether the varieties used to generate these historical data are representative in relation to the genetic background of 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton and the comparator tested in the application. A comment on this matter by the applicant would be welcome. This is the case for molybdenum and sulfur, for example, whose measured content in 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton and its comparator are, respectively, much lower and much higher than the variability ranges for the historical data shown in the application (Table 8).

7.5 Product specification

See comments from ANSES forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade.

The HCB Scientific Committee wishes nevertheless to comment here on the detection methods validated by the applicant.

Part I, Technical dossier, p. 29:

'Currently, the detection methods for 281-24-236x3006-210-23 cotton MON 88913 cotton have been validated internally on 281-24-236x3006-210-23xMON 88913 cotton and submitted to the JRC.

Certified reference materials, ERM-BF422 for 281-24-236x3006-210-23 cotton, are accessible via the JRC of the European Commission, the Institute of Reference Materials and Measurements (IRMM) at:

http://www.irmm.jrc.be/html/reference_materials_catalogue/index.htm

Conversely, reference samples of MON 88913 cotton are being certified by the American Oil Chemicals Society (AOCS): (<http://www.aocs.org/tech/crm>).'

Reference material for 281-24-236 x 3006-210-23 cotton and MON 88913 cotton is available from the JRC-IRMM¹¹ and AOCS¹² respectively. The coexistence of two different types of reference material will make the control laboratories' work harder and more expensive.

The detection/quantitation methods for 281-24-236 x 3006-210-23 cotton and MON 88913 cotton were validated by the EURL-GMFF¹³ using metric criteria rather than the species-related specificity criteria required by ISO 21570 (ISO, 2008) and the ENGL guidance from the EURL-GMFF (ENGL, 2008) (<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/guidancedocs.htm>). The reference genes *sah7*, used for the 281-24-236 x 3006-210-23 stack, and *acp1*, used for MON 88913 cotton, are not specific to *Gossypium hirsutum*. They can also detect at least *G. herbaceum* and *G. raimondii* (from which *G. hirsutum* derives its A and D genomes) and probably other species such as *G. barbadense* or even other genera (*Gossypioides kirkii*). No specificity study is provided by the applicant in the application.

Lastly, the HCB Scientific Committee points out that quantitation results ought to be calibrated according to the Praça-Fontes reference (Praça-Fontes et al., 2011) rather than the older Arumuganathan and Earle reference (Arumuganathan and Earle, 1991).

The HCB Scientific Committee requests that these aspects relating to reference material, specificity and calibration of detection/quantitation methods for 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton be reviewed in accordance with ISO standards and ENGL guidance.

Arumuganathan, K., and Earle, E. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter* 9, 208-218.

ENGL (2008). Definition of minimum performance requirements for analytical methods of GMO testing (European Network of GMO Laboratories, Community Reference Laboratory GM Food and Feed), pp. 8.

ISO (2008). ISO 21570:2008. Foodstuffs -- Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products -- Quantitative nucleic acid based methods. In Spanish Standard (Geneva, Switzerland, International Organization for Standardization), pp. 111.

Praça-Fontes, M.M., Carvalho, C.R., Clarindo, W.R., and Cruz, C.D. (2011). Revisiting the DNA C-values of the genome size-standards used in plant flow cytometry to choose the "best primary standards". *Plant Cell Rep* 30, 1183-1191.

7.6 Effect of the production and processing

See comments from ANSES forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade.

7.7 Anticipated intake/extent of use

See comments from ANSES forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade.

7.8 Toxicology

See comments from ANSES forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade.

¹¹ Institute for Reference Materials and Measurements: one of the seven institutes of the European Commission's Joint Research Centre, <http://irmm.jrc.ec.europa.eu/html/homepage.htm>.

¹² American Oil Chemists' Society: an association that promotes the sharing of scientific information and knowledge, <http://www.aocs.org/index.cfm>.

¹³ The European Commission Joint Research Centre's Community Reference Laboratory for GM Food and Feed was established by Regulation (EC) No 1829/2003 and is now called the EURL-GMFF (European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed): http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-gmff.

7.9 Allergenicity

See comments from ANSES forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade.

7.10 Nutritional assessment of GM food/feed

See comments from ANSES forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade.

The HCB Scientific Committee nevertheless draws attention to the poor statistical practices employed in the comparative assessment, which were explained in sections 7.2 and 7.3. The HCB Scientific Committee stresses that without equivalence tests the applicant cannot infer compositional equivalence. The applicant's argument that nutritional assessment of 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton is unnecessary because of compositional equivalence with non-transgenic cotton varieties is unsubstantiated.

7.11 Post-market monitoring of GM food/feed

See comments from ANSES forwarded to EFSA by the Ministry for the Economy, Finance and Foreign Trade.

9. Potential changes in the interactions of the GM plant with the biotic environment resulting from the genetic modification

9.1 Persistence and invasiveness

Part I, Technical dossier, p. 42:

'In tropical or subtropical regions where chilling winter temperatures are absent, wild and feral cotton may remain dormant and exhibit regrowth with the onset of summer. Cotton, however, will not persist over winter if the mean temperature of the coldest month falls below 18°C (Martin et al., 1976).'

The HCB Scientific Committee would like the applicant to update the references documenting existence of volunteers and feral populations of cotton worldwide. This updating could be used to re-examine the Martin team's 1976 conclusions on temperatures allowing cotton to overwinter. A 2007 paper reports detection of cotton plant volunteers from overwintered seed in North America (Beckie and Owen, 2007).

Moreover, as the applicant points out in this quotation, cotton plants can persist in tropical conditions. Such conditions exist in some of the European Union's outermost regions. The HCB Scientific Committee would like such cases to be considered in the application.

Beckie, H.J., and Owen, M.D.K. (2007). Herbicide-resistant crops as weeds in North America. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 2, 22.

9.2 Selective advantage or disadvantage

In conditions allowing cotton volunteers or feral cotton populations, 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton has a selective advantage in the presence of either or both of the herbicides to which it is tolerant. In France, glufosinate is no longer licensed for use in non-agricultural zones, and previously licensed products are being withdrawn. Glyphosate, on the other hand, is still often employed, even if its use is declining. Any volunteers of 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton would have a selective advantage in the presence of glyphosate. The only way of overcoming this selective advantage would be to use other weed control methods, such as manual weeding or alternative herbicides.

9.3 Potential for gene transfer

Unlike in metropolitan France and most of continental Europe, in those outermost regions of the European Union with a tropical climate there is a theoretical possibility of gene flow from 281-24-236 x 3006-210-23 x MON 88913 cotton plants resulting from unintended release of seed along import routes to subsponaneous cotton plant perennials (feral and wild) in these areas, as in the case in the West Indies, for example. The likelihood of such outcrossing is nevertheless low given the numerous conditions required for it to happen.

11. Environmental Monitoring Plan

The HCB Scientific Committee asks that the environmental monitoring plan be more specific and detailed in terms of methodology, baseline definition and monitoring networks.