

**AVIS en reponse à la saisine 110426-saisine HCB- dossier
2010-88 concernant le dossier EFSA-GMO-SE-2010-88**

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

► **To cite this version:**

Jean-Christophe Pagès, Jean-Jacques Leguay, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Maryse Deguergue, et al.. AVIS en reponse à la saisine 110426-saisine HCB- dossier 2010-88 concernant le dossier EFSA-GMO-SE-2010-88. [Autre] Haut Conseil des Biotechnologies. 2011. hal-02915995

HAL Id: hal-02915995

<https://hal.inrae.fr/hal-02915995>

Submitted on 17 Aug 2020

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

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



HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 11 juillet 2011

AVIS

en réponse à la saisine **110426-saisine HCB- dossier 2010-88**¹
concernant le dossier **EFSA-GMO-SE-2010-88**.

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 2 mai 2011 par les Autorités compétentes françaises (le Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-SE-2010-88 portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché du pomme de terre génétiquement modifié AM04-1020 à des fins de culture, importation, transformation, et utilisation en alimentation humaine et animale.

Ce dossier a été déposé par la société BASF Plant Science dans le cadre du règlement (CE) 1829/2003 auprès de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA), sous la référence **EFSA-GMO-SE-2010-88**. La saisine du HCB correspondante est référencée **110426-saisine HCB- dossier 2010-88**.

Dans le cadre du règlement (CE) 1829/2003, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est centralisée par l'AESA. Les Etats membres disposent de trois mois pour envoyer leurs commentaires en contribution à l'évaluation du dossier. Dans ce cadre, le HCB est invité à envoyer un avis sous forme de commentaires à destination de l'AESA via les Autorités compétentes françaises d'ici le 15 juillet 2011.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a procédé à l'examen du dossier le 14 juin 2011 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Les commentaires du HCB à destination de l'AESA sont transmis par ce rapport aux autorités françaises.

¹ La saisine « **110426-saisine HCB- dossier 2010-88** » est reproduite dans l'Annexe 1.

² La composition du CS est indiquée 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'AESA.....	5
2.1. REMARQUES GÉNÉRALES	5
2.2. COMMENTAIRES PAR SECTIONS DÉFINIES PAR L'AESA	5
3. BIBLIOGRAPHIE	9
ANNEXE 1 : SAISINE	11
ANNEXE 2 : ELABORATION DES COMMENTAIRES	12
ANNEXE 3 : COMMENTAIRES TRADUITS EN ANGLAIS À DESTINATION DE L'AESA ...	13
A3.1. GENERAL COMMENTS.....	13
A3.2. COMMENTS PER SECTION.....	13

1. Introduction

1.1. Contexte et enjeu de la saisine

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 2 mai 2011 par les Autorités compétentes françaises (le Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-SE-2010-88, portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché de la lignée de pomme de terre génétiquement modifiée AM04-1020 à des fins de culture, importation, transformation, et utilisation en alimentation humaine et animale. Le dossier EFSA-GMO-SE-2010-88 a été déposé par la société BASF Plant Science dans le cadre du règlement (CE) 1829/2003³ (EC, 2003) auprès de l'AESA⁴.

Dans le cadre du règlement (CE) 1829/2003, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées est centralisée par l'AESA, 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 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'AESA.

L'enjeu de cet avis du HCB est donc de contribuer à l'évaluation du dossier par l'AESA. Les commentaires des Etats membres, dès réception par l'AESA, sont transmis d'une part aux experts de trois groupes de travail du panel OGM⁵ de l'AESA (Analyse moléculaire, Alimentation humaine et animale, Environnement), et d'autre part au pays auquel l'AESA a délégué l'évaluation du risque environnemental, en l'occurrence la Finlande.

Les groupes de travail de l'AESA 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 question 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'AESA. Les commentaires de chaque Etat membre, ainsi que les réponses correspondantes de l'AESA, sont rendus publics, en annexe de l'opinion scientifique de l'AESA à destination de la Commission européenne.

La procédure de transmission des commentaires à l'AESA est très 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 les lignes directrices de l'AESA relatives à l'évaluation environnementale des plantes génétiquement modifiées (EFSA, 2006). Ces commentaires doivent être ciblés sur des demandes spécifiques adressées à l'AESA, 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'AESA en français, avec une traduction en anglais en annexe.

³ Le règlement (CE) 1829/2003 est un règlement du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments, consistant en, ou contenant des, ou issus d'organismes génétiquement modifiés, pour l'alimentation humaine et animale.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:FR:HTML>

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

⁵ OGM : organismes génétiquement modifiés.

1.2. Présentation du dossier

La lignée de pomme de terre transgénique AM04-1020, obtenue par transformation génétique via *Agrobacterium tumefaciens* de la variété féculière Kuras, contient une cassette d'expression transgénique unique visant à augmenter la teneur en amylopectine de l'amidon du tubercule. Cet objectif est atteint de façon indirecte par la diminution de la teneur en amylose de cet amidon, diminution induite par la modification de l'expression de l'enzyme *Granule Bound Starch Synthetase* (synthétase granulaire d'amidon ou GBSS).

La pomme de terre féculière est une source majeure d'amidon à destination industrielle. L'amidon est constitué de deux types de polymères de glucose : l'amylose⁶ et l'amylopectine⁷. Selon les usages recherchés, la forme préférentielle d'amidon est soit l'amylose, soit l'amylopectine, du fait de leur structure spécifique et des propriétés particulières qui en découlent. Par exemple, pour certains usages alimentaires, l'amylose est préférée car elle résiste mieux à la pénétration de l'huile de friture, tandis que pour d'autres, on préfère au contraire le pouvoir absorbant de l'amylopectine. Pour la papeterie et les colles, on préfère l'amylopectine, dont les chaînes branchées ont un pouvoir collant supérieur à celui conféré par les chaînes linéaires de l'amylose. Amylose et amylopectine peuvent être séparées par des processus chimiques, physiques ou enzymatiques, mais il peut être avantageux de produire directement de l'amidon sous l'une ou sous l'autre forme à l'état le plus pur possible.

L'amylose est spécifiquement synthétisée par l'enzyme GBSS. Dans la pomme de terre AM04-1020, l'enzyme GBSS n'est plus détectable, ce qui conduit à un amidon à teneur appauvrie en amylose et enrichie en amylopectine. Cette extinction d'expression de l'enzyme GBSS est due aux caractéristiques du transgène, constitué de trois segments du gène *GBSSI* de la pomme de terre sous le contrôle de son propre promoteur : une répétition inversée dont les deux composants sont séparés par un fragment plus long servant d'espaceur. La transcription de cette cassette d'expression produit un ARN en forme de « poêle à frire » : tandis que la partie espaceur forme une boucle, les deux portions répétées inversées s'hybrident entre elles en un ARN bicaténaire. Cet ARN transcrit induit, par sa structure bicaténaire, une réaction de défense cellulaire forte et spécifique, qui conduit à la destruction des transcrits du gène *GBSSI* et des gènes homologues par la machinerie du *gene silencing*⁸ (Vaucheret, 2006). De par leur homologie avec *GBSSI*, les ARN messagers des quatre copies⁹ du gène *GBSS* se retrouvent ainsi détruits avant que la synthèse de l'enzyme ait pu avoir lieu.

De telles variétés de pomme de terre à teneur enrichie en amylopectine ont été générées dans le passé, soit par sélection conventionnelle – c'est le cas de la variété Eliane¹⁰, développée par la société AVEBE –, soit par transformation génétique – c'est le cas des variétés Amflora et Modena (AV43-6-G7), développées respectivement par les sociétés BASF Plant Science et AVEBE. À la différence d'Eliane, AM04-1020 – comme Modena – bénéficie des propriétés agronomiques avantageuses de son cultivar récepteur, en l'occurrence la variété Kuras, notamment en termes de résistances aux maladies (nématodes à kystes et galle verruqueuse), ce qui lui permettrait d'être cultivée dans des zones des Pays-Bas et d'Allemagne soumises à de strictes réglementations d'utilisation de produits phytosanitaires. A la différence d'Amflora, ni AM04-1020 ni Modena ne possèdent de gène de résistance à un antibiotique. Mais si Modena ne contient aucun gène marqueur de transformation (les plantules transformées ont été directement sélectionnées par analyse génétique), AM04-1020 exprime une protéine supplémentaire qui lui confère une tolérance aux herbicides de la famille des Imidazolinones. Il s'agit d'une forme mutée de l'AHAS (acétohydroxyacide synthase) produite par le gène *csr1-2* d'*Arabidopsis thaliana*.

⁶ L'amylose est constituée de chaînes linéaires de molécules de D-Glucose, assemblées par des liaisons de type $\alpha(1-4)$

⁷ L'amylopectine est constituée de chaînes de $\alpha(1-4)$ D-Glucose ramifiées entre elles par des liaisons $\alpha(1-6)$

⁸ Inactivation d'un gène, pouvant résulter de différents mécanismes moléculaires d'interférence.

⁹ La pomme de terre est une espèce tétraploïde; elle possède deux paires (quatre versions) de chaque chromosome.

¹⁰ <http://www.avebe.com/food/Innovation/ELIANE.aspx>

La cassette transgénique d'AM04-1020 est insérée en une copie unique et en un site unique du génome de la pomme de terre. L'insertion, d'une taille de 5212 pb¹¹, a entraîné des délétions aux deux extrémités de la cassette d'origine (38 pb et 105 pb côté gauche et droit de la cassette, respectivement).

L'analyse des séquences flanquantes indique que l'insertion s'est intégrée dans le génome nucléaire de Kuras et n'a pas interrompu de gène ou de séquence régulatrice connu de pomme de terre. Douze cadres de lecture (séquences potentiellement codantes) y ont été détectés par analyse bioinformatique. Une analyse *in silico* indique toutefois que les peptides putatifs qui résulteraient de leur expression hypothétique seraient dénués de toute propriété allergène ou toxique prévisible.

L'insertion est stable au cours de trois générations de multiplications végétatives.

La présence de protéine GBSS a été mesurée par Western blot. La protéine est indétectable dans les tubercules, les stolons et les racines des pommes de terre AM04-1020, alors qu'on la détecte dans la variété réceptrice Kuras. Son niveau d'expression est identique dans les tissus verts des deux types de plante.

La présence de protéine AHAS a été mesurée par la méthode ELISA¹², qui n'a pas permis de distinguer les protéines endogènes des protéines transgéniques. Les valeurs varient grandement (de « indétectables » à près de 5 ng/g de poids frais) entre les tissus analysés au sein de chacune des lignées. En revanche, les niveaux d'expression sont comparables entre les lignées ; on ne détecte pas de surexpression de protéine AHAS dans la lignée transgénique. De plus, si le niveau d'expression du transgène *csr1-2* est suffisant pour conférer une tolérance aux herbicides de la famille des Imidazolinones applicable à la sélection *in vitro*, celui-ci est insuffisant pour conférer une tolérance aux herbicides utilisable par les agriculteurs dans l'itinéraire de culture de ces pommes de terre.

Le pétitionnaire présente dans ce dossier l'évaluation des risques environnementaux et sanitaires de la culture, l'importation, la transformation, et l'alimentation humaine et animale de la lignée de pomme de terre AM04-1020 en Europe. Le CS du HCB propose d'envoyer les remarques suivantes à l'AESA concernant les points du dossier identifiés comme critiquables.

2. Commentaires à destination de l'AESA

2.1. Remarques générales

1. Malgré un certain effort de la part du pétitionnaire de respecter les recommandations de l'AESA pour les analyses de composition (EFSA, 2010), l'analyse statistique qui permettrait de conclure à l'équivalence en substance de la lignée de pomme de terre AM04-1020 avec ses comparateurs non génétiquement modifiés est incomplète.
2. Le dossier contient peu d'informations relatives à Kuras, la variété réceptrice du transgène, ce qui limite la qualité de l'analyse de risque de la pomme de terre AM04-1020.

2.2. Commentaires par sections définies par l'AESA

N.B. : Les titres soulignés correspondent aux sections de dossier définies par l'AESA, et aux différents formulaires mis à disposition par l'AESA pour la collecte de commentaires en ligne. Le pétitionnaire n'ayant pas suivi ce plan rigoureusement, les titres correspondants du dossier sont indiqués entre parenthèses sous les titres soulignés. Seules les sections pour lesquelles le HCB transmet des commentaires sont indiquées ici. Chaque commentaire est écrit de

¹¹ Paires de base

¹² *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* : Dosage immuno-enzymatique sur support solide.

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.(a) Information concerning reproduction

Les paramètres de reproduction sont un facteur important à prendre en compte pour évaluer les potentialités de dissémination. Cette partie du dossier contient des généralités sur la reproduction des pommes de terre. Il manque des données précises en termes de reproduction sur la pomme de terre transgénique AM04-1020 et sa variété réceptrice Kuras.

p. 21-22 :

"The starch potato variety Kuras, which is the recipient variety for amylopectin potato AM04-1020, is known to be mainly male-sterile and described as forming no to hardly any berries."

Le HCB demande au pétitionnaire de donner des références bibliographiques ou de fournir des données expérimentales sur le caractère mâle-stérile attribué à la variété Kuras.

Par ailleurs, les données fournies dans le dossier par le pétitionnaire indiquent la formation de baies dans certaines situations, notamment en Suède (Hamstad et Kristianstad, en 2007, Borgeby en 2008), ce qui mériterait d'être expliqué. Les baies obtenues résultent-elles d'autofécondation ? S'il est démontré que ce n'est pas le cas (ce qui pencherait en faveur de la stérilité mâle), il serait intéressant d'étudier l'environnement des parcelles des essais qui se sont avérés fructifères pour chercher d'éventuelles plantes pollinisatrices à proximité et préciser ainsi les situations à risques.

2. (b) Sexual compatibility with other cultivated or wild plant species

p. 22 :

"the recipient potato variety Kuras is considered as mainly male-sterile and thereby rarely able to produce viable pollen for cross-pollination with cultivated potato varieties".

Même remarque que pour 2 (a). Il manque des références bibliographiques voire des études pour démontrer cette affirmation de stérilité mâle de la variété Kuras, celle-ci étant cruciale pour évaluer la dissémination potentielle des gènes par le pollen.

3. Survivability (a) ability to form structures for survival or dormancy; (b) specific factors if any affecting survivability

La survie des populations de pomme de terre est un facteur important à prendre en compte notamment dans un contexte de coexistence des filières. Cette partie du dossier contient des généralités sur la capacité de survie des pommes de terre sous forme de baies ou de tubercules. Il manque cependant des données précises en termes de capacité de survie de la pomme de terre AM04-1020 et de la variété Kuras dont elle est issue.

4. Dissemination

La dissémination de gènes par le pollen à partir de la pomme de terre AM04-1020 sera largement influencée par les caractéristiques de la biologie florale et de la reproduction sexuée du cultivar Kuras. Or, cette section ne contient que des considérations générales sur la dissémination de gènes chez la pomme de terre ; aucune donnée spécifique sur le cultivar Kuras n'est fournie. Le CS du HCB demande que le pétitionnaire fournisse une description complète des propriétés du cultivar Kuras pour pouvoir argumenter sur la question de la

dissémination de manière pertinente (par exemple, a-t-il un stigmate protubérant ou renfermé dans la colonne staminale ; quelle est sa production pollinique, sa fertilité, son attractivité relative pour les bourdons comparés à d'autres cultivars ?).

Certains bourdons (Batra, 1993; Sanford and Hanneman, 1981), mais aussi les grosses abeilles (comme les abeilles charpentières, *Xylocopa* spp.), sont susceptibles de polliniser les fleurs de pomme de terre car ces insectes sont les seuls capables de faire vibrer la fleur pour en extraire le pollen. Le HCB est critique par rapport à l'affirmation suivante (p. 23) :

"Bumblebees instead contribute to pollination, however they travel only short distances so that the majority of pollen, if present, is deposited in the immediate surroundings of the pollen source (Skogsmyr, 1994)",

indiquant que les bourdons ont de petites distances de vol. De nombreuses publications rapportent des distances de butinage des bourdons de plusieurs centaines de mètres, pouvant dépasser les 1,5 km (Knight et al., 2005; Osborne et al., 2008; Wolf and Moritz, 2008). D'autre part, il a été démontré que les déplacements sur de longue distance d'insectes butineurs permettent un transport efficace de pollen viable (Chifflet et al., 2011).

Concernant la dissémination par les baies et les tubercules, l'affirmation (p. 23) :

"In general, the potato is not known as a colonizer of unmanaged ecosystems. It is not able to compete with other species such as grasses, trees, and shrubs"

mériterait une validation concernant la variété Kuras et sa version transgénique AM04-1020. En effet, la variété Kuras est résistante au mildiou du feuillage et très résistante au mildiou du tubercule (<http://www.europotato.org>), ce qui pourrait augmenter la valeur sélective de cette pomme de terre GM en tant que pomme de terre férale ou repousse dans les champs.

Enfin, la contamination¹³ de plants de pomme de terre Amflora par la variété Amadea (nom de variété de la lignée AM04-1020), détectée en Suède en août 2010 grâce à une coloration différente des fleurs, montre combien une réflexion documentée et intégrée sur la question de la dissémination de gènes de pomme de terre, qui peut résulter de simples mélanges accidentels de semences (tubercules), est importante et pertinente pour assurer la coexistence des filières.

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

7.1 Comparative analysis

(7.1 Comparative assessment)

Le pétitionnaire a en partie adopté les nouvelles lignes directrices de l'AESA (2010) pour l'analyse statistique des études de composition.

Le modèle linéaire mixte est ici légèrement différent de celui proposé à titre d'exemple dans le document de l'AESA. Le choix du modèle est toujours délicat et discutable (choix des effets fixes, des effets aléatoires, des interactions, des transformations...), mais ce modèle semble acceptable.

Une analyse d'équivalence vient compléter une première analyse classique de différences. Les limites d'équivalence sont ici obtenues à partir des données issues des variétés de référence. On peut regretter que l'analyse des résultats soit incomplète. Il manque en particulier la représentation graphique des intervalles de confiance et des limites

¹³ Cause of starch potato commingling identified (Communication de presse de la société BASF Plant Science du 24 septembre 2010) : "The mix-up occurred because Amadea and Amflora plants were in close proximity to each other at our facilities (...)" http://www.basf.com/group/corporate/en/function/conversions/publish/content/products-and-industries/biotechnology/images/P421_10.pdf (accès vérifié le 7 juillet 2011).

d'équivalence recommandée par l'AESA. D'autre part, le pétitionnaire se contente de vérifier si la valeur prédite pour la lignée AM04-1020 est bien comprise entre les limites d'équivalence alors qu'il conviendrait de comparer l'intervalle de confiance construit autour de cette valeur moyenne aux limites d'équivalence.

Les analyses statistiques sont donc incomplètes et ne permettent toujours pas de conclure à l'équivalence entre la lignée AM04-1020 et son comparateur, comme le fait le pétitionnaire (p. 73) :

"Therefore, it is concluded that proximate composition of AM04-1020 potato is equivalent to that of the comparator Kuras and is comparable to, and in the same range as, the proximate composition of conventional potato varieties with a history of safe use."

En présence de données sous la limite de quantification (LOQ), le pétitionnaire propose de remplacer ces données par $0,5 \times \text{LOQ}$. Cette méthode plutôt rudimentaire conduit à des biais dans l'estimation des paramètres du modèle. Il faudrait au moins s'assurer de la robustesse des résultats vis-à-vis du critère d'imputation adopté.

7.8 Toxicology

7.8.4 Testing of the whole GM food/feed

(7.2.5 Toxicological testing of the whole GM food/feed)

Le HCB remarque que les effectifs de 10 animaux par sexe sont des effectifs relativement réduits pour ces études de toxicité. Au vu de la taille réduite des échantillons et en l'absence de tests de puissance, la taille des effets détectables ne peut être précisée.

7.10 Nutritional assessment of GM food/feed

(7.4.1 Nutritional assessment of GM food)

En conclusion de cet essai, le pétitionnaire souligne que (p.130) :

"In conclusion, the results of the study confirm that amylopectin potato AM04-1020 is nutritionally equivalent to its mother variety Kuras and as safe as conventional starch potatoes when used in animal feed applications as any conventional starch potato".

Bien que le CS du HCB s'accorde sur le fait que le pétitionnaire n'ait pas identifié de différences significatives entre les poulets nourris avec la pomme de terre AM04-1020 et ceux nourris avec le comparateur, l'emploi ici de la notion d'équivalence nutritionnelle n'est pas légitimé par les tests statistiques appropriés.

(7.6. Conclusions of the toxicological/nutritional assessment and allergenicity assessment)

Le pétitionnaire reprend les arguments et résultats exposés dans les paragraphes précédents (7.2, 7.3, 7.4 et 7.5) pour conclure (p. 134) :

"The scientific evaluation of the characteristics of AM04-1020 potato in the food and feed safety assessment has shown that the risk for potential adverse effects on human and animal health is negligible in the context of the intended uses and taking into account the anticipated exposure of derived food and feed products".

Avec les réserves exposées précédemment (absence de tests d'équivalence en particulier), cette conclusion paraît légitime. Les quelques effets statistiquement significatifs mis en évidence lors de cette étude, n'ont pas de significativité biologique selon les critères habituels de jugement des toxicologues. Cependant, en l'absence de calcul de la puissance des tests, la taille des effets détectables ne peut être précisée. La conclusion d'équivalence pour l'aspect nutritionnel suppose la mise en œuvre de tests statistiques d'équivalence, qui n'a pas été effectuée.

7.11 Post-market monitoring of GM food/feed

(7.7)

Considérant que (1) la pomme de terre AM04-1020 est équivalente aux pommes de terre conventionnelles en termes de composition et de valeur nutritionnelle à part le caractère introduit, (2) l'amylopectine est déjà présente sur le marché par les nombreux produits alimentaires à base d'amidon qui s'y trouvent, et par conséquent elle ne constituerait pas un nouveau composant du régime alimentaire qui affecterait la santé ou l'état nutritionnel des individus, (3) aucune caractéristique de la pomme de terre n'a été modifiée de façon mesurable dans l'alimentation animale, comme le montrent les résultats des tests d'alimentarité de poulet, le pétitionnaire conclut (p. 134) :

"No post-market monitoring of GM food and feed is required".

Cette proposition paraît légitime avec les réserves exposées précédemment sur l'absence de tests d'équivalence permettant de conclure à l'équivalence.

11. Environmental Monitoring Plan

11.2. Interplay between environmental risk and monitoring

Il est indiqué (p. 154) :

"Taking into account the biology of the recipient plant, the characteristics of the AM04-1020 potato, the properties and consequences of the modification, the receiving environment, and the scale of the release, the assessment concluded that the overall risk of cultivating AM04-1020 potato in the European Union for processing, food and feed use is negligible."

Les conclusions du pétitionnaire sur un risque « négligeable » ne peuvent être validées sans répondre aux interrogations mentionnées dans ce rapport sur la biologie de la plante réceptrice, les caractéristiques biologiques d'AM04-1020, et les propriétés et conséquences de la modification génétique.

3. Bibliographie

Batra, S.W.T. (1993). Male-fertile potato flowers are selectively buzz-pollinated only by *Bombus terricola* Kirby in upstate New York. *J Kans Entomol Soc* 66, 252-254.

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

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 (2006). Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the Risk Assessment of Genetically Modified Plants and Derived Food and Feed. *The EFSA Journal* 99, 1-100.

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

Knight, M.E., Martin, A.P., Bishop, S., Osborne, J.L., Hale, R.J., Sanderson, A., and Goulson, D. (2005). An interspecific comparison of foraging range and nest density of four bumblebee (*Bombus*) species. *Mol Ecol* 14, 1811-1820.

Osborne, J.L., Martin, A.P., Carreck, N.L., Swain, J.L., Knight, M.E., Goulson, D., Hale, R.J., and Sanderson, R.A. (2008). Bumblebee flight distances in relation to the forage landscape. *J Anim Ecol* 77, 406-415.

Sanford, J.C., and Hanneman, R.E. (1981). The use of bees for the purpose of inter-mating in potato. *Am Potato J* 58, 481-485.

Vaucheret, H. (2006). Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations. *Genes Dev* 20, 759-771.

Wolf, S., and Moritz, R.F.A. (2008). Foraging distance in *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie* 39, 419-427.

Annexe 1 : Saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PÊCHE,
DE LA RURALITÉ ET DE L'AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE

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

HCB
Courrier reçu le
9 - MAI 2011

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

Paris, le

2 MAI 2011

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

Références : 110426-saisine HCB- dossier 2010-88

Affaire suivie par : Anne Grevet

tél. : 01 49 55 58 25 fax : 01 49 55 59 49

courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

Madame la Présidente,

Dans le cadre du règlement 1829/2003 relatif aux denrées alimentaires et aliments pour animaux génétiquement modifiés, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est confiée à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (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-SE-2010-88**, concernant la mise sur le marché de la pomme de terre génétiquement modifiée **AM04-1020** pour la culture, l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Les États membres peuvent transmettre leurs commentaires à l'AESA jusqu'au 15 juillet 2011.

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 11 juillet 2011**.

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

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

L'Ingénieur en chef des Ponts,
des Equipements, des Ports
et des Infrastructures
de la Qualité et de la Production des Végétaux

Robert TESSIER

Annexe 2 : Elaboration des commentaires

Ces commentaires ont été élaborés par le CS du HCB, composé de :

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

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

Participant à l'élaboration de l'avis de l'AESA en tant que membre du panel OGM de l'AESA, 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 sa réponse à la consultation.

Un rapporteur extérieur, Jean-Eric Chauvin (INRA), a été sollicité pour compléter l'expertise du CS. Jean-Eric Chauvin a signé un engagement de confidentialité, et a certifié ne pas avoir de conflits d'intérêts après avoir pris connaissance du dossier. Il a fourni une analyse du dossier dans son domaine d'expertise. Il n'a toutefois pas contribué directement à la rédaction de l'avis du CS.

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

Cette annexe est une compilation des commentaires du HCB sur le dossier EFSA-GMO-SE-2010-88 traduits en anglais à destination de l'AESA, prêts à être postés en ligne de manière indépendante par section dans les formulaires du site de l'AESA.

A3.1. General comments

1. Despite some effort from the notifier to follow EFSA's guidelines for compositional analysis (EFSA, 2010), statistical analysis required to conclude on substantial equivalence of potato AM04-1020 with its non GM comparators is incomplete in the dossier.
2. The dossier contains little information relative to Kuras, the recipient cultivar for the AM04-1020 event, which limits the quality of the risk assessment of the potato AM04-1020.

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

A3.2. Comments per section

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

2.(a) Information concerning reproduction

Reproduction and dispersal characteristics are important to consider in relation to potential risks of dissemination. This section contains only general comments on potato reproduction. Specific data on reproduction traits of potato AM04-1020 and the recipient cultivar Kuras are lacking.

p. 21-22:

"The starch potato variety Kuras, which is the recipient variety for amylopectin potato AM04-1020, is known to be mainly male-sterile and described as forming no to hardly any berries."

HCB asks the notifier to provide references from the literature or experimental data on the male-sterile property of the potato variety Kuras.

In addition, data provided in the dossier by the notifier indicates that berries may form on AM04-1020 plants in some instances, in particular in Sweden (Hamstad et Kristianstad, en 2007, Borgeby en 2008), which would deserve some explanation. Are the berries a product of self-fertilization? If it is proven otherwise (which would support male sterility), it would be interesting to identify the environmental conditions of the berries-producer field trials to look for potential pollinator plants in the surroundings and define such risk situations.

2. (b) Sexual compatibility with other cultivated or wild plant species

p. 22:

"the recipient potato variety Kuras is considered as mainly male-sterile and thereby rarely able to produce viable pollen for cross-pollination with cultivated potato varieties".

Same comment as 2 (a). References from scientific literature or studies to demonstrate that potato variety Kuras is male sterile are lacking. The statement of male sterility must be substantiated because it is crucial for the evaluation of gene flow through pollen dispersal.

3. Survivability (a) ability to form structures for survival or dormancy; (b) specific factors if any affecting survivability

Potato survivability is an important issue in the context of coexistence. This section contains only general comments about potato survivability as true potato seed or tubers. Specific data on survivability traits of potato AM04-1020 and the recipient cultivar Kuras are lacking.

4. Dissemination

Gene flow from potato AM04-1020 through pollen dispersal will be conditioned by the floral biology and sexual reproduction characteristics of the recipient line, Kuras. This section contains only general comments about potato gene dissemination; specific data on cultivar Kuras are lacking. The Scientific committee of HCB asks for a full description of all relevant characteristics of cultivar Kuras to be able to assess the issue of pollen dispersal (for example, is the stigma exerted or enclosed in the staminal column?, how much pollen does it produce?, how fertile is this pollen?, how attractive are Kuras flowers to bumblebees compared to other cultivars?, etc.)

Some bumblebees (*Bombus* spp.) (Batra, 1993; Sanford and Hanneman, 1981), and some large bees like carpenter bees (*Xylocopa* spp.), are able to pollinate potato flowers due to their ability to buzz these flowers in order to extract their pollen. HCB is critical about the following statement (p. 23):

“Bumblebees instead contribute to pollination, however they travel only short distances so that the majority of pollen, if present, is deposited in the immediate surroundings of the pollen source (Skogsmyr, 1994)”,

indicating that bumblebees travel only short distances. Several publications report that bumblebees can forage over several hundred meters and sometimes beyond 1.5 km (Knight et al., 2005; Osborne et al., 2008; Wolf and Moritz, 2008). In addition, long-distance travels of insect pollinators were shown to contribute to viable pollen dispersal (Chifflet et al., 2011).

As for dispersal of potato true seeds and tubers, the statement (p. 23):

“In general, the potato is not known as a colonizer of unmanaged ecosystems. It is not able to compete with other species such as grasses, trees, and shrubs”

needs to be validated as far as Kuras and its transgenic version AM04-1020 are concerned. Kuras is highly resistant to late blight on foliage and tubers (<http://www.europotato.org>), which could increase the fitness of this GM potato as feral plant or volunteer.

The accidental mix-up¹ between transgenic potato plants Amflora and Amadea (AM04-1020) from BASF Plant Science, detected in the field in August 2010 in Sweden thanks to different flower colours, shows the importance of a documented assessment of potato gene dissemination, and its relevance to ensure the coexistence of GM and non-GM potato cropping. This particular case shows that dissemination can result from simple accidental mix-up of potato seeds (tubers) due to human error.

¹ Cause of starch potato commingling identified (Communication de presse de la société BASF Plant Science du 24 septembre 2010) : *“The mix-up occurred because Amadea and Amflora plants were in close proximity to each other at our facilities (...)”* http://www.basf.com/group/corporate/en/function/conversions/publish/content/products-and-industries/biotechnology/images/P421_10.pdf (accessed on 7 July 2011).

Batra, S.W.T. (1993). Male-fertile potato flowers are selectively buzz-pollinated only by *Bombus terricola* Kirby in upstate New York. *J Kans Entomol Soc* 66, 252-254.

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

Knight, M.E., Martin, A.P., Bishop, S., Osborne, J.L., Hale, R.J., Sanderson, A., and Goulson, D. (2005). An interspecific comparison of foraging range and nest density of four bumblebee (*Bombus*) species. *Mol Ecol* 14, 1811-1820.

Osborne, J.L., Martin, A.P., Carreck, N.L., Swain, J.L., Knight, M.E., Goulson, D., Hale, R.J., and Sanderson, R.A. (2008). Bumblebee flight distances in relation to the forage landscape. *J Anim Ecol* 77, 406-415.

Sanford, J.C., and Hanneman, R.E. (1981). The use of bees for the purpose of inter-mating in potato. *Am Potato J* 58, 481-485.

Wolf, S., and Moritz, R.F.A. (2008). Foraging distance in *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie* 39, 419-427.

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

7.1 Comparative analysis

(7.1 Comparative assessment)

The notifier has partially adopted the new guidelines of EFSA (2010) for statistical analysis of composition studies.

The linear mixed model used in the dossier is slightly different from that proposed as an example in the EFSA document. The choice of a model is always difficult and questionable (choice of fixed effects, random effects, interactions, transformations, etc.), but this model seems acceptable.

Equivalence analysis completes a classic analysis of differences. Here, limits of equivalence are specified using data from reference varieties. The subsequent results analysis by the notifier is incomplete. In particular, the graphical representation of confidence intervals and limits of equivalence recommended by EFSA is missing. In addition, the notifier simply checks whether the value predicted for AM04-1020 is comprised between the limits of equivalence, whereas it would be more appropriate to compare the confidence interval constructed around this average value to the equivalence limits.

Statistical analyses are therefore incomplete and should not allow the notifier to conclude on the equivalence between line AM04-1020 and its comparator, as follows (p. 73):

“Therefore, it is concluded that proximate composition of AM04-1020 potato is equivalent to that of the comparator Kuras and is comparable to, and in the same range as, the proximate composition of conventional potato varieties with a history of safe use.”

Furthermore, the notifier proposes to replace data below the limit of quantification (LOQ) by 0.5 x LOQ. This rather crude method introduces some bias in the estimation of the model parameters. The notifier should at least check the robustness of the results with respect to the proposed imputation methodology.

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

7.8 Toxicology

7.8.4 Testing of the whole GM food/feed

(7.2.5 Toxicological testing of the whole GM food/feed)

HCB notes that the numbers of animals tested in the feeding studies (10 animals per sex) are relatively small. Given the small size of these groups and the lack of power analysis, the size of detectable effects cannot be specified.

7.10 Nutritional assessment of GM food/feed

(7.4.1 Nutritional assessment of GM food)

The notifier concludes the nutritional assessment as follows (p.130):

"In conclusion, the results of the study confirm that amylopectin potato AM04-1020 is nutritionally equivalent to its mother variety Kuras and as safe as conventional starch potatoes when used in animal feed applications as any conventional starch potato".

Although the Scientific committee of HCB acknowledges that the notifier has identified no significant differences between chicken fed with potato AM04-1020 and those fed with its comparator Kuras, the use of the notion of nutritional equivalence has not been legitimated by the appropriate statistical tests.

(7.6. Conclusions of the toxicological/nutritional assessment and allergenicity assessment)

From all the results presented in the preceding sections (7.2, 7.3, 7.4 et 7.5), the notifier concludes (p. 134):

"The scientific evaluation of the characteristics of AM04-1020 potato in the food and feed safety assessment has shown that the risk for potential adverse effects on human and animal health is negligible in the context of the intended uses and taking into account the anticipated exposure of derived food and feed products".

With the reservations developed earlier (in particular the absence of proper equivalence testing), this conclusion seems legitimate. The few statistically significant effects detected in that study are not biologically significant according to the judgement criteria commonly used by toxicologists. However, given that no power analysis was performed, the size of detectable effects cannot be specified. To conclude on nutritional equivalence, proper equivalence testing should have been performed.

7.11 Post-market monitoring of GM food/feed

(7.7)

Arguing that (1) potato AM04-1020 is compositionally and nutritionally equivalent to conventional starch potato varieties except for the introduced trait; (2) amylopectin is already present in the starch foods of our food supply, and therefore would not constitute a new component to the human diet, nor is the exposure to amylopectin changed in any significant degree that would affect long-term nutritional and health status of individuals; (3) none of the characteristics of the starch potato have been changed in a way that would be measurable in animal feed or are intended to have an effect on animal feed as shown in the poultry feeding study; (4) the by-products of the AM04-1020 processing are used as any other starch potato processing by-products in animal feeding, the notifier concludes that (p. 134):

"No post-market monitoring of GM food and feed is required".

This conclusion seems legitimate with the reservations developed earlier about the lack of proper equivalence testing.

11. Environmental Monitoring Plan

11.2. Interplay between environmental risk and monitoring

It is indicated that (p. 154):

“Taking into account the biology of the recipient plant, the characteristics of the AM04-1020 potato, the properties and consequences of the modification, the receiving environment, and the scale of the release, the assessment concluded that the overall risk of cultivating AM04-1020 potato in the European Union for processing, food and feed use is negligible.”

The notifier’s conclusions on a “negligible” risk cannot be validated without satisfactory answers to the interrogations raised in this report on the biology of the recipient plant, the biological characteristics of the AM04-1020, and the properties and consequences of the modification.