



HAL
open science

Avis en réponse à la saisine 150519 - dossier C-NL-13-01.

Paris, le 7 septembre 2015

Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie Anne M. A. Barny, Florence Bellivier,
Philippe Berny, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno B.
Chauvel, François Coléno, et al.

► **To cite this version:**

Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie Anne M. A. Barny, Florence Bellivier, Philippe Berny, et al..
Avis en réponse à la saisine 150519 - dossier C-NL-13-01. Paris, le 7 septembre 2015. [0] Haut Conseil
des Biotechnologies. 2015, 27 p. hal-02917581

HAL Id: hal-02917581

<https://hal.inrae.fr/hal-02917581>

Submitted on 19 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

COMITE SCIENTIFIQUE

AVIS

en réponse à la saisine 150519-saisine HCB - dossier C-NL-13-01¹.

Paris, le 7 septembre 2015

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 20 mai 2015 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt) d'une demande d'avis relative au dossier **C/NL/13/01** de demande de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés **SHD-27531-4** à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées.

Ce dossier a été déposé par la société **Suntory Holdings Limited** auprès des autorités compétentes néerlandaises dans le cadre de la directive 2001/18/CE.

Conformément à cette directive, la Commission européenne a adressé le rapport d'évaluation des Pays-Bas ainsi que le dossier du pétitionnaire à l'ensemble des Etats membres. Par cette saisine, les autorités compétentes françaises consultent le HCB pour une actualisation de son avis en préparation au vote des Etats membres à la Commission européenne.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a examiné le dossier en séance du 25 juin 2015 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Le présent avis a été adopté par voie électronique le 7 septembre 2015 et publié le 10 septembre 2015.

¹ La saisine « **150519-saisine HCB- dossier C-NL-13-01** » est reproduite dans l'Annexe 1.

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

RESUME DE L'AVIS³

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi dans le cadre de la directive 2001/18/CE d'une demande d'avis relative au dossier C/NL/13/01 dans le but d'éclairer les autorités compétentes françaises en perspective d'un vote à la Commission européenne. Plus précisément, il est demandé au CS du HCB d'actualiser l'avis qu'il a précédemment rendu sur ce dossier⁴ à la lumière des derniers compléments d'information apportés par le pétitionnaire. Déposé par la société Suntory Holdings Limited, ce dossier est une demande d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés SHD-27531-4 à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées dans l'Union européenne.

Description du produit

La lignée SHD-27531-4 résulte de l'intégration d'une construction génétique contenant trois cassettes d'expression dont deux incluent des gènes impliqués dans la régulation de la synthèse des anthocyanes dans le but de conférer aux fleurs une couleur pourpre-violette. La troisième cassette code une acétolactase synthétase (ALS) mutante de tabac (*Nicotiana tabacum*), conférant une résistance aux herbicides de la famille des sulfonilurées, exploitée uniquement pour la sélection des transformants primaires.

L'ADN-T portant les trois cassettes d'expression est complet et présent en un locus d'insertion et en une copie unique dans la lignée SHD-27531-4. Le caractère de coloration est stable au cours des bouturages successifs. Aucun autre transgène que ceux portés par l'ADN-T n'est présent dans la lignée SHD-27531-4. L'insertion interrompt une séquence correspondant à un ADNc mais qui ne présente pas d'homologie au niveau protéique quand les deux fragments de la séquence interrompue sont réunis.

Impact sur la santé humaine et animale

La demande concerne un usage exclusivement ornemental, les œillets ne sont pas destinés à l'alimentation humaine et animale. Dans l'hypothèse d'une consommation fortuite, le pétitionnaire a évalué la toxicité ainsi que le potentiel allergénique de la lignée SHD-27531-4.

Les protéines codées par les transgènes, et les pigments de delphinidine et cyanidine résultant de leur expression, sont naturellement présents dans d'autres fleurs et dans des fruits comestibles. La teneur en delphinide dans la lignée d'œillets SHD-27531-4 est inférieure à celle des myrtilles.

L'acétolactase synthétase (ALS) est une enzyme présente dans les plantes, les bactéries et les champignons. La forme mutée du gène de l'ALS du tabac (*SuRB*) présente dans la lignée d'œillets FLO-40685-1 n'est pas associée à un risque sanitaire particulier.

La protéine ALS et les protéines DFR et F3'5'H exprimées dans l'œillet transgénique ont un potentiel allergénique négligeable. L'absence d'identité ou d'homologie avec des allergènes avérés répertoriés dans la banque FARRP ne suggère pas non plus de caractère adjuvant. Les homologies des ORF⁵ potentiels avec des allergènes sont faibles et ne se traduisent

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

⁴ Avis HCB-2013.11.14 du Comité scientifique du Haut Conseil des biotechnologies relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés SHD-27531-4 à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées. (dossier C/NL/13/01). Disponible sur <http://www.hautconseil-des-biotechnologies.fr>. (Paris, France), pp. 17. Reproduit en annexe 3 du présent avis.

⁵ ORF (*Open Reading Frame*) : cadre ouvert de lecture, détecté par des programmes informatiques, correspondant à une séquence d'ADN qui peut coder, si elle est préalablement transcrite, une protéine ou un peptide (petite protéine).

vraisemblablement pas par un impact biologique. Le contact avec l'œillet transgénique ne présente *a priori* pas de risque d'allergénicité supérieur à celui d'un œillet non GM.

Risques de dissémination et impact sur l'environnement

Les risques potentiels pour l'environnement concernent les risques de dissémination des transgènes et leurs conséquences.

Suite à la mise sur le marché de fleurs coupées d'œillets génétiquement modifiés, les transgènes qu'ils portent pourraient théoriquement être disséminés suite à une multiplication végétative, une dispersion de pollen vers d'autres œillets ou espèces apparentées, ou une dispersion de graines qui se seraient développées sur les fleurs coupées. En pratique :

- une multiplication végétative serait impossible naturellement à partir de fleurs coupées ; elle serait difficile mais possible par des techniques de bouturage spécifiques appliquées par des individus expérimentés ;
- une dispersion de pollen vers d'autres œillets ou espèces apparentées serait peu probable compte tenu : (1) de l'environnement dans lequel les fleurs coupées sont placées (essentiellement des habitations), (2) de la relative faiblesse de la production de pollen des œillets cultivés comparée à celle des œillets « sauvages », (3) du caractère uniquement entomophile de la pollinisation (principalement via des lépidoptères, qui n'ont pas un comportement de butinage optimal), 4) de la faible viabilité du pollen une fois qu'il est accessible aux insectes, c'est-à-dire une fois que la fleur est ouverte, (5) de la durée de vie et des conditions de conservation des fleurs coupées, et (6) de la distance de dispersion relativement courte (quelques centaines de mètres).
- une dispersion de graines qui se seraient développées sur les fleurs coupées serait très improbable considérant notamment que le processus de développement des graines dure cinq semaines et qu'une fleur coupée en vase ne survit pas sur cette durée.

Plans de surveillance post-commercialisation

Considérant les résultats de l'analyse de risques et l'utilisation prévue des œillets dans la demande d'autorisation de mise sur le marché C/NL/13/01, le CS du HCB s'accorde avec le pétitionnaire sur le fait qu'un plan de surveillance spécifique n'est pas nécessaire.

Le CS du HCB approuve l'approche générale et les méthodes du plan de surveillance générale indiquées par le pétitionnaire en accord avec la directive 2001/18/CE, même s'il souhaiterait qu'elles soient plus détaillées. Le plan de surveillance repose notamment sur des questionnaires remis aux importateurs, sur le retour des consommateurs, le travail et les rapports de surveillance d'experts, une revue bibliographique, et des échanges avec les herbiers et jardins botaniques. Le CS se félicite que le pétitionnaire ait annoncé la recherche d'experts supplémentaires pour assister les deux experts actuellement prévus pour contribuer à la surveillance des œillets commercialisés dans l'Union européenne.

Conclusions

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

- Aucun risque particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été identifié suite à l'évaluation et l'analyse bioinformatique de la lignée d'œillet SHD-27531-4, de la delphinidine, de l'enzyme mutante ALS ainsi que des protéines DFR et F3'5'H exprimée(s) dans l'œillet transgénique, ou des ORFs potentiels créés par la modification génétique.

- Il est improbable que les fleurs coupées d'œillet produisent des graines; le risque de dissémination par des graines produites par ces fleurs est donc quasi nul.
- Le risque de dissémination de gènes par le pollen de fleurs coupées d'œillet est faible mais non nul. Il ne lui serait cependant pas associé d'impact environnemental significatif.
- La dissémination par bouturage est difficile à réaliser mais possible par des techniques adaptées.

Le plan de surveillance proposé par le pétitionnaire semble adapté à l'utilisation prévue des œillets SHD-27531-4 dans la demande d'autorisation de mise sur le marché C/NL/13/01. Le CS du HCB recommande toutefois que, si elle était autorisée, la mise sur le marché des œillets SHD-27531-4 soit accompagnée de mesures propres à répondre au risque de dissémination par bouturage par une communication à l'attention des sociétés d'amateurs quant aux possibilités de diffusion non contrôlée des œillets transgéniques.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	6
2. ACTUALISATION DE L’EVALUATION DU DOSSIER C/NL/13/01	6
2.1 ANALYSES BIOINFORMATIQUES	6
2.2 PLAN DE SURVEILLANCE POST-COMMERCIALISATION	7
3. CONCLUSIONS	7
ANNEXE 1 : SAISINE	8
ANNEXE 2 : ELABORATION DE L’AVIS.....	9
ANNEXE 3 : PRECEDENT AVIS DU CS DU HCB SUR CE DOSSIER	10

1. Introduction

Le dossier C/NL/13/01, déposé par la société Suntory Holdings Limited auprès des autorités compétentes néerlandaises dans le cadre de la directive 2001/18/CE⁶, est une demande d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés SHD-27531-4 à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées. La présente demande exclut la culture ainsi que la consommation animale et humaine.

Conformément à la directive 2001/18/CE, la Commission européenne a adressé le rapport d'évaluation des Pays-Bas ainsi que le dossier du pétitionnaire à l'ensemble des Etats membres. En préparation au vote des Etats membres à la Commission européenne, les autorités compétentes françaises ont saisi le HCB le 20 mai 2015 pour une actualisation de son précédent avis⁷ à la lumière des derniers compléments d'information apportés par le pétitionnaire.

2. Actualisation de l'évaluation du dossier C/NL/13/01

2.1 Analyses bioinformatiques

A la demande de l'EFSA, le pétitionnaire a actualisé ses analyses bioinformatiques par des interrogations récentes (datées du 15 avril 2015) des bases de données pertinentes (*non-redundant nucleotide, expressed sequence tags (ESTs), carnation genome non-redundant nucleotide, non-redundant protein, SwissProt et FARRP allergen protein database*), en précisant les algorithmes utilisés (BLASTn, BLASTx, tBLASTx, BLASTp et FASTA). Ces analyses ont porté sur l'ensemble de la séquence insérée et sur des régions flanquantes plus étendues que celles initialement analysées (414 pb⁸ côté 5' (LB) et 735 pb côté 3' (RB), par rapport à 150 pb de part et d'autre dans l'analyse initiale).

Ces analyses montrent que l'ADN-T est inséré dans une séquence correspondant à un ADNc (CES20_E18cDNA), mais qui ne présente pas d'homologie au niveau protéique quand les deux fragments de la séquence interrompue sont réunis.

L'analyse bioinformatique de l'ensemble de la région séquencée (ADN-T plus régions flanquantes) permet de détecter 1554 ORFs⁹ de toutes tailles dans les six cadres de lecture. Parmi ces ORFs, 91,25 % n'ont pas de similarité significative avec des séquences de peptides dans les bases de données. Pour les 136 ORFs restants, seuls 30 ORFs montrent des homologies avec des E-values ≤ 1 parmi lesquels on retrouve les ORFs correspondant aux transgènes et des ORFs correspondant à des parties de protéines bactériennes correspondant aux séquences d'ADN utilisées pour la construction de l'ADN-T.

⁶ Directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:FR:HTML>.

⁷ Avis HCB-2013.11.14 du Comité scientifique du Haut Conseil des biotechnologies relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés SHD-27531-4 à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées. (dossier C/NL/13/01). Disponible sur <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr>. (Paris, France), pp. 17. Reproduit en annexe 3 du présent avis.

⁸ Paires de base.

⁹ ORF (*Open Reading Frame*) : cadre ouvert de lecture, détecté par des programmes informatiques, correspondant à une séquence d'ADN qui peut coder, si elle est préalablement transcrite, une protéine ou un peptide (petite protéine).

Ces ORFs ont été analysés avec différents algorithmes et méthodes pour détecter d'éventuelles protéines toxiques ou allergènes. Aucun n'est complet ou ne correspond à une région toxique ou antigénique, et surtout aucun n'est susceptible d'être exprimé (pas de codon d'initiation de la traduction, pas de régions régulatrices d'amont et d'aval). Les rares homologues de séquences avec des allergènes avérés observées pour les ORFs ainsi que pour les nouvelles protéines exprimées dans l'œillet SHD-27531-4 sont trop courtes, trop peu exposées ou trop dispersées le long des séquences pour constituer un risque allergique. En particulier, l'homologie avec un fragment de la neurotoxine de serpent (Eastern brown snake) initialement détectée et rapportée dans le premier avis du CS du HCB est confirmée comme faible et dépourvue de signification biologique. Les homologues détectés sont vraisemblablement fortuites et ne relèvent pas d'une allergénicité commune.

2.2 Plan de surveillance post-commercialisation

Dans son précédent avis, le CS du HCB avait indiqué s'interroger sur le travail que pourraient réaliser les deux experts engagés par le pétitionnaire pour l'alerter en cas de détection de populations sauvages ou d'hybrides inhabituels d'œillets *Dianthus* au cours de leur surveillance du territoire au vu de leur rémunération annuelle affichée (« moins de 1000 euros »).

Les rapports des plans de surveillance des œillets Moonlite et Moonaqua de 2014 comportent une analyse des stations suisse, grecque et albanaise. Le pétitionnaire y indique qu'il tentera d'identifier des experts supplémentaires pour analyser la situation en Italie et en France dans les années à venir, perspective encourageante pour les experts du CS du HCB.

3. Conclusions

Au terme de l'analyse de l'ensemble des données fournies par le pétitionnaire, incluant les données initiales et les compléments d'information fournis à la demande de l'EFSA, ainsi que les données supplémentaires disponibles dans la littérature scientifique, le CS du HCB note que :

- Aucun risque particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été identifié suite à l'évaluation et l'analyse bioinformatique de la lignée d'œillet SHD-27531-4, de la delphinidine, de l'enzyme mutante ALS, ou des ORFs potentiels créés par la modification génétique.
- Il est improbable que les fleurs coupées d'œillet produisent des graines; le risque de dissémination par des graines produites par ces fleurs est donc quasi nul.
- Le risque de dissémination de gènes par le pollen de fleurs coupées d'œillet est faible mais non nul. Il ne lui serait cependant pas associé d'impact environnemental significatif.
- La dissémination par bouturage est difficile à réaliser mais possible par des techniques adaptées.

Le plan de surveillance proposé par le pétitionnaire semble adapté à l'utilisation prévue des œillets SHD-27531-4 dans la demande d'autorisation de mise sur le marché C/NL/13/01. Le CS du HCB recommande toutefois que, si elle était autorisée, la mise sur le marché des œillets SHD-27531-4 soit accompagnée de mesures propres à répondre au risque de dissémination par bouturage par une communication à l'attention des sociétés d'amateurs quant aux possibilités de diffusion non contrôlée des œillets transgéniques.

Annexe 1 : Saisine



Courrier reçu le

26 MAI 2015

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

Direction générale de
l'alimentation

Service des actions
sanitaires en production
primaire

Sous direction de la
qualité et de la protection
des végétaux

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

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Madame Christine NOIVILLE
Présidente du Haut conseil des
biotechnologies
à l'attention de Madame Joëlle BUSUTIL
244, boulevard Saint-Germain
75007 PARIS

20 MAI 2015

Paris, le

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

Références : 150519- saisine HCB - dossier C-NL-13-01

Affaire suivie par : Anne Grevet

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

courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

PJ : 1 CD

Madame la Présidente,

Dans le cadre de la directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement, l'évaluation initiale d'un dossier de demande de mise sur le marché est confiée à l'Etat membre qui a reçu le dossier. Lorsque l'Etat membre a transmis son rapport d'évaluation à la Commission européenne, celle-ci adresse le dossier à l'ensemble des États membres qui sont consultés pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché. En cas d'objections des États membres à la mise sur le marché de l'OGM, la Commission consulte l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESAs).

Le dossier suivant, qui a fait l'objet d'un rapport d'évaluation des Pays-Bas, est en cours d'évaluation par l'AESA :

- dossier **C/NL/13/01**, concernant la mise sur le marché d'oeillets génétiquement modifiés, lignée **SHD-27531-4**, pour l'importation et la commercialisation de fleurs coupées.

Le Comité scientifique du HCB a rendu un avis le 14 novembre 2013 sur ce dossier, dans le cadre de la consultation des États membres. Le Comité économique, éthique et social n'a pas émis de recommandation.

Dans la perspective d'un vote des États membres sur ce dossier, j'ai l'honneur de vous demander, par la présente saisine, de bien vouloir actualiser et compléter l'évaluation de ce dossier afin de rendre un avis au plus tard le **7 septembre 2015**.

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

Le sous-directeur de la qualité
et de la protection des végétaux

Alain TRIDON

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

Cet avis a été élaboré par le CS du HCB à partir de la discussion de rapports d'expertise en séance du 25 juin 2015¹⁰ sous la présidence du Dr Jean-Christophe Pagès et la vice-présidence du Dr Pascal Boireau et du Dr Claudine Franche.

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

Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Florence Bellivier, Philippe Berny, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno Chauvel, François-Christophe Coléno, Denis Couvet, Elie Dassa, Hubert De Verneuil, Nathalie Eychenne, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, André Jestin, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Valérie Le Corre, Olivier Lemaire, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Cédric Moreau de Bellaing, Nadia Naffakh, Didier Nègre, Jean-Louis Noyer, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Daniel Parzy, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Bernard Vaissière, Jean-Luc Vilotte¹¹.

Les informations supplémentaires apportées au dossier ont été examinées par trois experts rapporteurs sélectionnés pour leurs compétences dans les disciplines requises pour l'analyse du dossier : deux membres du CS du HCB et un expert externe, Pierre Rougé, Professeur émérite de l'Université de Toulouse III.

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. Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec l'élaboration de cet avis.

L'expert externe a rempli une déclaration publique d'intérêts 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 cet avis, qui reste de la responsabilité du CS du HCB.

¹⁰ Membres du CS présents et représentés lors de la discussion du projet d'avis en séance du 25 juin 2015 : Claude Bagnis, Avner Bar Hen, Yves Bertheau, Elie Dassa, Hubert De Verneuil, Claudine Franche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Bernard Klonjkowski, Valérie Le Corre, Olivier Lemaire, Eliane Meurs, Nadia Naffakh, Didier Nègre, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Jean-Luc Vilotte.

¹¹ Composition du CS en vigueur suite au décret de nomination des membres du HCB du 30 décembre 2014.

Annexe 3 : Précédent avis du CS du HCB sur ce dossier

HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 14 novembre 2013

AVIS

en réponse à la saisine¹ **130919-saisine HCB - dossier C-NL-13-01**
concernant le dossier **C/NL/13/01**.

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 25 septembre 2013 par les autorités compétentes françaises (le Ministère de l'alimentation, de l'agroalimentaire et de la forêt) d'une demande d'avis relative au dossier **C/NL/13/01** de demande de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés **SHD-27531-4** à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées.

Ce dossier a été déposé par la société Suntory Holdings Limited auprès des autorités compétentes hollandaises dans le cadre de la directive 2001/18/CE.

Conformément à cette directive, la Commission européenne a adressé le rapport d'évaluation des Pays-Bas ainsi que le dossier du pétitionnaire à l'ensemble des Etats membres, qui disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a examiné le dossier en séance du 5 novembre 2013, et adopté le présent avis par voie électronique sous la présidence de Jean-Christophe Pagès.

¹ La saisine « **130919-saisine HCB- dossier C-NL-13-01** » est reproduite dans l'Annexe 1.

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

RESUME DE L'AVIS³

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi dans le cadre de la directive 2001/18/CE pour une évaluation du dossier C/NL/13/01 pour la transmission de commentaires et demandes d'informations complémentaires éventuels à la Commission européenne. Déposé par la société Suntory Holdings Limited, ce dossier est une demande d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés SHD-27531-4 à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées dans l'Union européenne.

Description du produit

La lignée SHD-27531-4 résulte de l'intégration d'une construction génétique contenant trois cassettes d'expression dont deux incluent des gènes impliqués dans la régulation de la synthèse des anthocyanes dans le but de conférer aux fleurs une couleur pourpre-violette. La troisième cassette code une acétolactase synthétase (ALS) mutante de tabac (*Nicotiana tabacum*), conférant une résistance aux herbicides de la famille des sulfonyles, exploitée uniquement pour la sélection des transformants primaires après transformation.

L'ADN-T portant les trois cassettes d'expression est complet et présent en un locus d'insertion et en une copie unique dans la lignée SHD-27531-4. Le caractère de coloration est stable au cours des bouturages successifs. Aucun autre transgène que ceux portés par l'ADN-T n'est présent dans la lignée SHD-27531-4. L'insertion n'interrompt pas de séquences codantes ou régulatrices connues ou reconnaissables de l'œillet.

Impact sur la santé humaine et animale

La demande concerne un usage exclusivement ornemental, les œillets ne sont pas destinés à l'alimentation humaine et animale. Dans l'hypothèse d'une consommation fortuite, le pétitionnaire a évalué la toxicité ainsi que le potentiel allergénique de la lignée SHD-27531-4.

Les protéines codées par les transgènes, et les pigments de delphinidine et cyanidine résultant de leur expression, sont naturellement présents dans d'autres fleurs et dans des fruits comestibles. La teneur en delphinidine dans la lignée d'œillets SHD-27531-4 est inférieure à celle des myrtilles.

L'acétolactase synthétase est une enzyme présente dans les plantes, les bactéries et les champignons. La substitution d'un acide aminé dans l'ALS mutante de tabac présente dans les œillets (*SuRB*) n'est pas associée à un risque sanitaire particulier.

Les faibles homologues avec un allergène et deux toxines identifiées dans les ORF⁴ potentiels résultant de la modification génétique ne se traduisent vraisemblablement pas par un impact biologique.

Risques de dissémination et impact sur l'environnement

Les risques potentiels pour l'environnement concernent le risque de dissémination des transgènes et ses conséquences. Suite à la mise sur le marché de fleurs coupées d'œillets génétiquement modifiés, les transgènes qu'ils portent pourraient théoriquement être disséminés suite à :

- une multiplication végétative : impossible naturellement à partir de fleurs coupées ; difficile mais possible par des techniques de bouturage spécifiques appliquées par des individus expérimentés ;
- une dispersion de pollen vers d'autres œillets ou espèces apparentées : peu probable compte tenu : (1) de l'environnement dans lequel les fleurs coupées sont placées

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

⁴ ORF (*Open Reading Frame*) : cadre ouvert de lecture, détecté par des programmes informatiques, correspondant à une séquence d'ADN qui peut coder, si elle est préalablement transcrite, une protéine ou un peptide (petite protéine).

(essentiellement des habitations), (2) du fait que la pollinisation est uniquement entomophile (principalement des lépidoptères, qui n'ont pas un comportement de butinage optimal), (3) de la production de pollen relativement faible des œillets cultivés comparativement aux œillets « sauvages », (4) de la viabilité du pollen une fois qu'il est accessible aux insectes, c'est-à-dire une fois que la fleur est ouverte, (5) de la durée de vie et des conditions de conservation des fleurs coupées, et (6) de la distance de dispersion relativement courte (quelques centaines de mètres).

- une dispersion de graines qui se seraient développées sur les fleurs coupées : très improbable considérant notamment que le processus de développement des graines dure cinq semaines et qu'une fleur coupée en vase ne survit pas sur cette durée.

Plans de surveillance post-commercialisation

Considérant les résultats de l'analyse de risques et l'utilisation prévue des œillets dans la demande d'autorisation de mise sur le marché C/NL/13/01, le CS du HCB s'accorde avec le pétitionnaire sur le fait qu'un plan de surveillance spécifique n'est pas nécessaire.

Le CS du HCB approuve l'approche générale et les méthodes du plan de surveillance générale indiquées par le pétitionnaire en accord avec la directive 2001/18/CE. Il repose notamment sur des questionnaires remis aux importateurs, sur le retour des consommateurs, le travail et les rapports de surveillance d'experts, une revue bibliographique, et des échanges avec les herbiers et jardins botaniques. Il s'interroge toutefois sur le travail que les experts engagés vont pouvoir effectivement réaliser au vu de la rémunération affichée.

Les outils de traçabilité sont en cours de développement.

Conclusions, commentaires et demandes d'informations complémentaires

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

- Aucun risque particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été identifié suite à l'évaluation et l'analyse bioinformatique de la lignée d'œillet SHD-27531-4, de la delphinidine, de l'enzyme mutante ALS, ou des ORFs potentiels créés par la modification génétique.
- Il est improbable que les fleurs coupées d'œillet produisent des graines; le risque de dissémination par des graines produites par ces fleurs est donc quasi nul.
- Le risque de dissémination de gènes par le pollen de fleurs coupées d'œillet est faible mais non nul. Il ne lui serait cependant pas associé d'impact environnemental significatif.
- La dissémination par bouturage est difficile à réaliser mais possible par des techniques adaptées.

Le plan de surveillance proposé par le pétitionnaire semble adapté à l'utilisation prévue des œillets SHD-27531-4 dans la demande d'autorisation de mise sur le marché C/NL/13/01. Le CS du HCB recommande toutefois que, si elle était autorisée, la mise sur le marché des œillets SHD-27531-4 soit accompagnée de mesures propres à répondre au risque de dissémination par bouturage par une communication à l'attention des sociétés d'amateurs quant aux possibilités de diffusion non contrôlée des œillets transgéniques.

Enfin, le CS du HCB s'interroge sur le travail attendu des deux experts engagés pour cette surveillance au vu du niveau de rémunération affichée, et souhaiterait que le pétitionnaire apporte plus d'information à ce sujet.

TABLE DES MATIERES DE L'AVIS DU 14 NOVEMBRE 2013

1. INTRODUCTION	15
2. CARACTERISTIQUES DES PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES	15
2.1 DESCRIPTION DU PRODUIT	15
2.2 CARACTERISTIQUES DE LA CONSTRUCTION GENETIQUE	15
2.3 METHODE DE TRANSFORMATION	16
2.4 CARACTERISTIQUES DES CÆILLETS SHD-27531-4.....	16
3. EVALUATION DES RISQUES POUR LA SANTE HUMAINE ET ANIMALE	18
4. EVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT	20
4.1 DISSEMINATION POTENTIELLE DES TRANSGENES PAR BOUTURAGE	20
4.2 DISSEMINATION POTENTIELLE DES TRANSGENES PAR LE POLLEN OU LES GRAINES.....	20
5. PLAN DE SURVEILLANCE POST-COMMERCIALISATION	22
6. CONCLUSIONS, COMMENTAIRES ET DEMANDES D'INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES	23
7. BIBLIOGRAPHIE	23
ANNEXE 1 DE L'AVIS DU 14 NOVEMBRE 2013 : SAISINE	26
ANNEXE 2 DE L'AVIS DU 14 NOVEMBRE 2013 : ELABORATION DE L'AVIS	27

1. Introduction

Le dossier C/NL/13/01, déposé par la société Suntory Holdings Limited auprès des autorités compétentes hollandaises dans le cadre de la directive 2001/18/CE⁵, est une demande d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés SHD-27531-4 à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées. La présente demande exclut la culture ainsi que la consommation animale et humaine.

Conformément à la directive 2001/18/CE, la Commission européenne a adressé le rapport d'évaluation des Pays-Bas ainsi que le dossier du pétitionnaire à l'ensemble des États membres, qui disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché. C'est dans ce contexte que le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi par les autorités compétentes françaises d'une demande d'avis sur ce dossier.

2. Caractéristiques des plantes génétiquement modifiées

2.1 Description du produit

La lignée SHD-27531-4 a été génétiquement modifiée dans le but de conférer aux fleurs une couleur pourpre-violette. Elle porte par ailleurs une résistance aux herbicides de la famille des sulfonylurées, utilisée pour la sélection des transformants primaires.

La couleur des fleurs est due à la concentration relative de deux classes de pigments, les caroténoïdes et les flavonoïdes, ces derniers ayant un rôle prépondérant. Les anthocyanidines constituent une sous-classe des flavonoïdes. Parmi ces pigments, la delphinidine, la cyanidine et la pélargonidine confèrent respectivement les couleurs bleu-violet, rose-rouge et orange-rouge. Deux enzymes jouent un rôle essentiel dans la voie de biosynthèse de ces pigments :

- la dihydroflavonol 4-réductase (DFR), qui est à l'origine de la production des précurseurs glucosylés de la pélargonidine, de la cyanidine et de la delphinidine en utilisant comme substrats respectifs le dihydrokaempférol (DHK), la dihydroxyquercétine (DHQ) ou la dihydromyricétine (DHM),
- la flavonoïde 3'-5'-hydroxylase (F3'5'H), qui assure par ailleurs l'hydroxylation des composés DHK et DHQ en DHM.

L'œillet est dépourvu du gène qui code l'enzyme F3'5'H. Afin de favoriser la voie de biosynthèse de la delphinidine, la lignée SHD-27531-4 exprime le gène *F3'5'H* de pensée et le gène *DFR* de pétunia.

2.2 Caractéristiques de la construction génétique

La construction génétique à l'origine de l'événement SHD-27531-4 provient du plasmide binaire pCGP1991 (27 488 pb⁶). Elle consiste en trois cassettes d'expression encadrées par les séquences répétées gauche (LB⁷) et droite (RB⁸) d'un plasmide Ti⁹ délimitant la partie d'ADN transférée dans le génome des plantes, séparées par des régions intergéniques plus

⁵ Directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil.

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:FR:HTML>

⁶ pb : paire de bases d'ADN.

⁷ LB : *left border*, bordure gauche de la région d'ADN destinée au transfert (ADN-T).

⁸ RB : *right border*, bordure droite de l'ADN-T.

⁹ Ti : *Tumor inducing*, induisant une tumeur. Les souches virulentes d'*A. tumefaciens* induisent des tumeurs dans les plantes par le transfert de leur ADN-T dans le génome des plantes. Les souches utilisées pour la transgénèse ne sont plus virulentes car l'ADN-T ne contient plus les gènes sauvages nécessaires à cette virulence.

ou moins longues provenant des vecteurs utilisés pour les clonages (série des pBluescript et pUC).

La première cassette permet l'expression du gène *SuRB* (Acétolactate synthase) provenant de tabac (*Nicotiana tabacum*), conférant la résistance à des herbicides de la famille des sulfonilurées, placé sous le contrôle du promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV) et de son propre terminateur de transcription (t*SuRB*). Une région de 61 pb, correspondant à la région 5' non-codante du gène *Cab* de pétunia (*Petunia X hybrida*), codant une protéine de fixation à la chlorophylle a/b, est présente en amont du gène pour optimiser son expression *in vivo*.

La deuxième cassette porte un gène *DFR* provenant de pétunia, cloné à partir d'ADN génomique, placé sous le contrôle de ses propres promoteur et terminateur de transcription. La protéine DFR produite par ce gène permet la production des précurseurs des pigments pélagonidine, cyanidine et delphinidine.

La troisième cassette porte le gène *F3'5'H* de pensée (*Viola hortensis*), sous forme d'ADN complémentaire, placé sous le contrôle du promoteur du gène codant la chalcone synthase (p*CHS*) de muflier (*Antirrhinum majus*) et du terminateur de la transcription du gène "D8", codant un homologue d'une protéine de transfert de phospholipides putative provenant de pétunia (t"D8"). La protéine F3'5'H assure la réduction du DHK et de la DHQ en DHM, un des précurseurs de la delphinidine.

2.3 Méthode de transformation

A l'origine de la lignée SHD-27531-4, la lignée 123 (Cream Cinderella) à fleurs roses a été inoculée par la souche AGL0 d'*A. tumefaciens* portant le plasmide binaire pCGP1991. Après élimination de l'agrobactérie avec l'antibiotique timentine, les transformants primaires ont été sélectionnés grâce à l'expression du gène *SuRB*, conférant la résistance à l'herbicide sulfuron. L'absence d'agrobactéries résiduelles dans les transformants primaires a été vérifiée par amplification PCR d'une région de 430 pb du gène *VirG* d'*A. tumefaciens*.

2.4 Caractéristiques des œillets SHD-27531-4

- Nombre de sites d'insertions et de copies des transgènes

Le nombre de sites d'insertion a été déterminé par des hybridations moléculaires de type Southern, en utilisant une préparation d'ADN génomique de feuilles de plantes transgéniques et de leurs homologues non transformées. Deux enzymes de restriction différentes (*EcoRI* et *BglII*) ont été utilisées séparément pour digérer l'ADN génomique. Les produits de digestion ont été éprouvés avec des sondes radioactives correspondant à des régions spécifiques de chaque cassette transférée, aux régions RB et LB, mais également avec six sondes couvrant la totalité des parties non destinées au transfert du plasmide binaire.

Ces expériences, très claires, montrent qu'une seule copie intacte de l'ADN-T du plasmide binaire pCGP1991 a été intégrée dans la lignée SHD-27531-4 et qu'il n'y a pas de région extérieure à l'ADN-T du plasmide pCGP1991 insérée dans l'ADN de cette plante. Des expériences de PCR ont aussi été réalisées afin de vérifier qu'il n'y a pas eu d'insertion, dans la plante transgénique, du gène procaryote de résistance à la tétracycline (gène présent sur le plasmide pCGP1991, à l'extérieur de l'ADN-T).

- Séquençage de l'insert et des régions flanquantes

L'ensemble de l'insertion a été séquencé et correspond à la structure d'un ADN-T entier non remanié du plasmide pCGP1991.

Plus de 400 pb côté LB et plus de 750 pb côté RB d'ADN génomique d'œillet jouxtant l'insertion ont été séquencés. L'insertion de l'ADN-T n'a pas interrompu de séquences codantes ou régulatrices connues ou reconnaissables de la lignée réceptrice.

- Analyses bioinformatiques des ORF¹⁰ potentiels présents dans l'insertion et ses jonctions

L'analyse bioinformatique des trois gènes insérés ne permet pas de mettre en évidence de peptides allergènes ou de toxines pouvant résulter de l'expression de ces séquences.

Concernant les zones de jonctions de l'insertion de l'ADN-T dans l'ADN génomique, analysées sur 150 pb de régions flanquantes, le pétitionnaire a détecté onze ORF potentielles dans différentes orientations aux jonctions 5' (5 ORF) et 3' (6 ORF) en prenant comme définition large des ORF tous les fragments d'ADN compris entre deux codons-stop. Une recherche limitée aux fragments commençant par un codon initiateur de traduction et terminant par un codon-stop ne détecte que 3 ORFs, 2 côté 5' et 1 côté 3'.

- Stabilité et héritabilité des transgènes et de leur phénotype dans les oeillets

Les fleurs coupées, qui font l'objet de cette demande d'autorisation de mise sur le marché, sont prélevées sur des plantes issues de bouturages successifs des transformants primaires. Le matériel transgénique ne sera pas utilisé dans des croisements avec d'autres cultivars d'œillet dans le cadre de cette demande. Le problème de l'héritabilité des transgènes n'a donc pas été abordé.

La stabilité des transgènes est déduite du maintien de la couleur violette-pourpre des fleurs après plusieurs bouturages successifs.

- Expression des transgènes

L'expression des transgènes a été déterminée par hybridations moléculaires et par dosage des pigments principaux par chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC) :

- Des analyses northern ont été réalisées à partir d'ARN totaux extraits de pétales de plantes génétiquement modifiées ou non. Les différents ARN transcrits ont été recherchés à l'aide de sondes spécifiques. Les ARN de taille escomptée ont été identifiés dans les pétales des fleurs des plantes SHD-27531-4 mais pas dans ceux des plantes réceptrices Cream Cinderella. La coloration n'est visible que dans les pétales de ces plantes du fait de la spécificité des promoteurs des transgènes *F3'5'H* et *DFR*, et de la localisation des substrats sur lesquels agissent les enzymes produits par ces transgènes.
- Dosés par HPLC, les pigments de delphinidine, cyanidine et pélargonidine représentent respectivement 1,18 mg/g, 0,51 mg/g et 0,26 mg/g de poids frais des pétales de fleurs des plantes SHD-27531-4, contre 0 mg/g, 0,01 mg/g et 1,34 mg/g chez les plantes réceptrices Cream Cinderella. La production de delphinidine et de cyanidine, ainsi que la réduction de la teneur en pélargonidine relative à la lignée réceptrice, résultent de l'activité enzymatique combinée des transgènes *F3'5'H* et *DFR* dans la lignée SHD-27531-4. Pour comparaison concernant les pigments nouvellement produits dans cette lignée transgénique par rapport à la lignée réceptrice, le CS du HCB rappelle que, dépourvues d'enzyme *F3'5'H*, les variétés d'œillets non transgéniques ne produisent pas de delphinidine, tandis qu'elles peuvent produire des teneurs en cyanidine jusqu'à neuf fois supérieures à celle trouvée dans la lignée SHD-27531-4.

¹⁰ ORF (*Open Reading Frame*) : cadre ouvert de lecture, détecté par des programmes informatiques, correspondant à une séquence d'ADN qui peut coder, si elle est préalablement transcrite, un peptide ou une protéine. Des analyses supplémentaires sont nécessaires pour tester si un ORF potentiel ainsi détecté est effectivement transcrit en ARN et traduit en peptide ou protéine.

3. Evaluation des risques pour la santé humaine et animale

La demande concerne un usage exclusivement ornemental, les œillets ne sont pas destinés à l'alimentation humaine et animale. Dans l'hypothèse d'une consommation fortuite, par exemple dans le cas où les œillets seraient utilisés en décor de salade, le pétitionnaire a évalué la toxicité ainsi que le potentiel allergénique de la lignée SHD-27531-4.

Les œillets sont utilisés à titre ornemental depuis des décennies, sans qu'aucun problème particulier de sécurité pour l'homme n'ait jamais été signalé. Les œillets ne sont pas connus comme étant des plantes toxiques ou allergisantes. Aucune donnée ne fait état d'un risque particulier avec la variété réceptrice utilisée, la lignée 123 (Cream Cinderella).

La lignée SHD-27531-4 se distingue de la variété réceptrice par la production de delphinidine et de cyanidine, qui conditionnent la couleur pourpre-violette des fleurs de cette lignée, et par la production d'une acétolactase synthétase mutante de tabac, qui confère une résistance à des herbicides de la famille des sulfonilurées et a permis ainsi la sélection des transformants primaires. La cyanidine étant un pigment présent dans de nombreuses variétés d'œillets non transgéniques, l'évaluation sanitaire ciblera plus particulièrement la delphinidine, dont l'œillet est naturellement dépourvu.

- Evaluation des risques potentiels associés à la delphinidine

La delphinidine, produite par modification génétique dans la lignée SHD-27531-4 dans le but de conférer une couleur violette aux fleurs d'œillets, existe naturellement dans beaucoup d'autres plantes (myrtilles, mûres, etc.) et elle est également présente comme additif (E163b) dans de nombreux aliments. La delphinidine n'est pas connue pour être toxique ou allergène.

Les anthocyanes ont fait l'objet de très nombreux travaux montrant des activités pharmacologiques variées, dont des propriétés anti-oxydantes (Kong et al., 2003, 2008).

La delphinidine a été spécifiquement étudiée (en dehors de ce dossier) dans un test de Ames¹¹ sur cinq souches de *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 et TA1538), avec et sans activation métabolique, sans montrer d'effet mutagène (Brown and Dietrich, 1979).

La delphinidine est absente des racines et des feuilles et présente dans les pétales au même titre que d'autres pigments comme la cyanidine et la pélargonidine. La DL₅₀¹² par voie orale d'un mélange de ces trois anthocyanes obtenu après extraction à partir de myrtilles est supérieure à 20 et 25 g/kg de poids corporel respectivement chez le rat et la souris (Pourrat et al., 1967). Des teneurs plus importantes en delphinidine sont observées dans d'autres plantes ornementales ou alimentaires, comme les myrtilles.

La littérature ne rapporte pas de réactions allergiques en relation avec des colorants alimentaires contenant de la delphinidine (Lucas et al., 2011).

On peut conclure que la delphinidine ne présente pas en soi de risque toxique ou allergène, en particulier dans le cadre d'une présence dans des plantes à usage ornemental.

- Evaluation des risques potentiels associés à l'acétolactase synthétase mutante

L'acétolactate synthétase (ALS), ou acétohydroxyacide synthase, est une enzyme qui exerce deux rôles métaboliques (Duggleby and Pang, 2000) : un rôle anabolique dans les premières phases de biosynthèse des acides aminés branchés, et un rôle catabolique pour la production de butanediol uniquement chez certains micro-organismes.

La revue de Duggleby and Pang (2000) fait un état complet de la fonction biochimique de l'enzyme. L'acétolactate synthétase est présente dans les plantes, les bactéries et les

¹¹ Le test d'Ames est un test biologique permettant de déterminer le potentiel mutagène d'un composé chimique, dont le protocole a été décrit par Bruce Ames

¹² DL₅₀ : DL signifie « dose létale ». La DL₅₀ est la quantité d'une matière, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50 % d'un groupe d'animaux d'essai. La DL₅₀ est une façon de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aiguë) d'une molécule.

champignons, absente chez les animaux. Chez les plantes, ALS catalyse la biosynthèse des acides aminés branchés leucine, valine et isoleucine. Les animaux ne synthétisent pas les acides aminés branchés. L'enzyme ALS est très labile et il est difficile de la purifier. Southan et Copeland ont purifié et caractérisé cette enzyme à partir du blé, mais elle n'a pas été isolée des œillettes (Southan and Copeland, 1996).

L'enzyme ALS est inhibée par quatre classes d'herbicides : les sulfonyles (Chaleff and Ray, 1984; Ray, 1984), les imidazolinines (Shaner et al., 1984), les triazolopyrimidines (Subramanian et al., 1990) et les pyrimidines.

La mutation du gène ALS conférant une résistance à certains herbicides a été observée dans plusieurs plantes : *Brassica napus*, *Xanthium sp.*, *Lactuca sativa*, *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*. Elle a été utilisée dans différentes céréales (Newhouse et al., 1991). La relative facilité avec laquelle la plante résiste a été mise à profit par les sélectionneurs pour développer des plantes résistantes (Tan et al., 2005).

L'ALS mutante de tabac utilisée dans la lignée SHD-27531-4, S4-Hra (*SuRB*), est identique, sur le plan fonctionnel, aux nombreuses enzymes ALS retrouvées dans les plantes et les bactéries. La substitution d'un seul acide aminé lors de la mutation, conférant la résistance à l'herbicide, est observée dans diverses céréales et se produit naturellement chez les bactéries.

Enfin, l'homme consomme des aliments issus de plantes qui expriment des enzymes similaires (même type de substitution) à la protéine codée par S4-Hra.

- **Evaluation des risques potentiels associés aux ORF putatifs**

Réalisée à partir des onze ORFs potentiels définis précédemment, une recherche d'homologie à des séquences d'allergènes ou de toxiques connus a identifié une faible identité de séquence pour six résidus de l'ORF1 avec un allergène de la guêpe sociale d'Amérique du Nord (Pol de *Paper wasp*), et de faibles identités de séquence pour six résidus de l'ORF2 et sept résidus de l'ORF5 avec des toxines d'araignée (Raventoxin-I de *Macrothele raveni* et α -latrocrustotoxin de *Latrodectus tredecimguttatus*).

Le CS note qu'une fenêtre d'analyse de six acides aminés est peu pertinente, la probabilité de retrouver par hasard une séquence de six acides aminés présente dans l'ensemble des allergènes connus étant non négligeable, et globalement considérée non fiable comme critère de prédiction allergénique (Hileman et al., 2002; Ladics et al., 2006; Silvanovich et al., 2006; Stadler and Stadler, 2003; Thomas et al., 2009). Il est recommandé de poursuivre l'évaluation du potentiel allergénique des ORF à partir d'un seuil d'homologie de huit acides aminés (EFSA, 2010; Thomas et al., 2009). Il faut également considérer, comme le pétitionnaire l'a fait ici, le profil hydrophatique des protéines correspondantes, les homologies à des allergènes étant d'autant moins significatives qu'elles sont dans des régions qui ne correspondent pas aux régions hydrophiles, généralement exprimées à la surface de ces protéines. En l'occurrence, l'homologie identifiée au sein de l'ORF1 correspond à un segment non exposé de l'enzyme ; il ne correspond donc vraisemblablement pas à un épitope.

Enfin, les homologies identifiées au sein des ORF2 et ORF5 sont d'autant moins significatives que ces ORF ne possèdent pas de codon initiateur de traduction, et ne produiront donc vraisemblablement pas de peptides ou protéines. Aucune analyse de transcription ou traduction d'ORF n'est incluse dans le dossier.

4. Evaluation des risques pour l'environnement

Les risques potentiels pour l'environnement concernent le risque de dissémination des transgènes et ses conséquences. Suite à la mise sur le marché de fleurs coupées d'œillet génétiquement modifiés, les transgènes qu'ils portent pourraient théoriquement être disséminés suite à une multiplication par bouturage, une dispersion de pollen vers d'autres œillets ou espèces apparentées, ou une dispersion de graines qui se seraient développées sur les fleurs coupées.

4.1 Dissémination potentielle des transgènes par bouturage

L'œillet ne peut se disséminer via multiplication végétative sans intervention humaine car les plants ne peuvent produire naturellement de stolons, rhizomes, bulbes, etc. Les œillets ne peuvent produire dans la nature des plants régénérés à partir de fragments de tissus. Le pétitionnaire indique dans ce sens qu'aucun œillet cultivé de l'espèce *Dianthus caryophyllus* issu de fragments de tissus n'a été observé en dehors des champs de production en Colombie ou en Equateur. Cette affirmation peut être corroborée par l'exemple des cultures d'œillet sur la côte d'azur, avec 6000 producteurs d'œillet en 1960. D'autres espèces d'œillets cultivés sont observées hors des champs de production en Europe (Tutin and Walters, 1993), mais il s'agirait plutôt dans ce cas de populations férales (Holzner and Immonen, 1982) plutôt que de plants issus de fragments de tissus.

Des plants d'œillets pourraient, en revanche, être produits à partir de tissus de plants transgéniques *via* des techniques de bouturages (cultures de tissus ou autres techniques de multiplication). Cela dit, les œillets transgéniques étant commercialisés sous forme de fleurs coupées, les techniques optimales de multiplication végétative par enracinement de boutures végétatives prélevées sur des pieds-mères seront impossibles, étant donné que les tiges de fleurs coupées sont dépourvues de telles boutures végétatives.

Il serait cependant possible de multiplier ces œillets génétiquement modifiés en enracinant des tronçons des tiges florales, soit *in vitro*, soit dans un substrat adapté (ex : sable, sable et terre, perlite) (Thomas et al., 2003). En effet, il existe à l'aisselle de chaque feuille un bourgeon végétatif dormant que l'on peut développer en enracinant les tronçons de tige en condition d'humidité élevée ou bien *in vitro* (Meena and Shanti, 2006 ; Jean-Paul Onesto, communication personnelle au titre d'expert d'un précédent dossier d'œillet évalué au HCB). Le pourcentage de réussite d'une telle opération est peu élevé, et il est encore plus faible lors d'un prélèvement de tronçons sur fleurs coupées ayant subies un transport à sec (comme décrit dans le dossier, p. 29), le stress induisant la production d'éthylène, accélérant la sénescence, et de fait, réduisant la capacité des bourgeons axillaires à se développer. Un amateur éclairé pourrait toutefois réaliser cette opération pour se constituer un lot de plantes qu'il pourra utiliser soit pour son jardin soit pour réaliser des hybridations avec d'autres œillets (*Dianthus caryophyllus*, *Dianthus sp.*) afin de créer de nouvelles variétés. Il y a là un risque de transfert de gène des œillets transgéniques et donc perte de la maîtrise de la diffusion des variétés transgéniques proposées par le pétitionnaire.

Compte tenu de la forte adaptabilité écologique des *Dianthus sp.* (Wu, 2007) et des possibilités d'hybridations interspécifiques (Atanasova, 1998; Nimura et al., 2006; Nimura et al., 2008), le risque de voir ces œillets transgéniques être installés par des amateurs dans des zones de croissance d'autres *Dianthus* ne peut pas être exclu.

4.2 Dissémination potentielle des transgènes par le pollen ou les graines

Les deux autres voies de dispersion de gènes à partir des fleurs coupées impliquent une dispersion *via* le pollen ou les graines.

L'éventualité d'une pollinisation à partir de plants coupés d'œillets cultivés est relativement faible compte tenu : (1) de l'environnement dans lequel les fleurs coupées sont placées (essentiellement des habitations), (2) du fait que la pollinisation est uniquement entomophile (principalement des lépidoptères, qui n'ont pas un comportement de butinage optimal), (3) de la production de pollen relativement faible des œillets cultivés comparativement aux œillets

« sauvages », (4) de la viabilité du pollen une fois qu'il est accessible aux insectes, c'est-à-dire une fois que la fleur est ouverte, (5) de la durée de vie des fleurs coupées (tenue en vase de 12 à 28 jours selon les variétés (Ebrahimzadeh et al., 2009) et des conditions de conservation (expertise CNIH et URIH Sophia Antipolis, C. Metay), et (6) de la distance de dispersion relativement courte (quelques centaines de mètres).

Ce risque de pollinisation par le pollen des fleurs coupées n'est cependant pas nul. La dispersion du pollen pourrait avoir principalement lieu quand la plante est commercialisée chez les fleuristes, pendant le transport après l'achat chez le fleuriste et dans le lieu où l'acheteur disposera les fleurs. Dans le dernier cas, il s'agira principalement d'un lieu d'habitation, mais il n'est cependant pas exclu que les plantes soient posées à l'extérieur, par exemple lors d'une cérémonie. La présence de pollinisateurs à proximité des fleurs coupées, même réduite, n'est pas à exclure. Concernant la pollinisation par les insectes, même si la pollinisation semble principalement assurée par des lépidoptères (noctuelles et sphinx), les fleurs d'œillets peuvent être visitées marginalement par les abeilles et les syrphes (cas de *D. silvester*; (Erhardt, 1988)), ce qui élargit le spectre des pollinisateurs potentiels.

Concernant les estimations de dispersion de pollen dans le genre *Dianthus*, celles-ci sont très difficilement réalisables avec des marqueurs génétiques de type microsatellites (T. Giraud, communication personnelle). La centaine de mètres qui est donnée comme la distance de pollinisation par les insectes (Nilsson et al., 1992) est donc une distance moyenne qui ne présume pas d'événements de dispersion relativement rare mais à plus longue distance, cette estimation dans le cas des œillets étant difficilement réalisable. Si la probabilité d'une dispersion de pollen efficace (produisant des graines) est faible, il faut cependant considérer que les événements d'hybridation entre espèces du genre *Dianthus* par le biais des pollinisateurs sont possibles, bien qu'il soit indiqué qu'aucun événement d'hybridation n'ait été observé dans la nature entre l'œillet cultivé et les autres espèces de *Dianthus*. Aucune référence bibliographique ne permet d'étayer cet argument. Quatorze espèces de *Dianthus* ont été identifiées comme s'hybridant potentiellement avec *D. caryophyllus* (hybridations forcées réalisées dans le sens espèces sauvages vers espèces cultivées dans le but d'introgesser des caractères génétiques intéressants), dont l'œillet des dunes (*D. gallicus*) qui est une espèce protégée au niveau national en France (Annexe I et II, *Arrêté ministériel du 20 janvier 1982 modifié le 31 août 1995*). Si ces hybridations sont possibles, il est néanmoins impossible de prédire la probabilité d'introgession (*i.e.* de maintien) du transgène dans les populations sauvages. L'impact de cette introgession sur la conservation des ressources génétiques est actuellement difficilement quantifiable.

La dispersion du pollen produit par ces fleurs coupées reste donc difficile et de faible rendement nécessitant l'intervention d'un insecte pollinisateur (Tidke and Dharamkar, 2007) ou bien de l'homme (Gargano et al., 2009).

Concernant la dispersion *via* des graines produites par les fleurs coupées, celle-ci devrait être très réduite voire irréalisable en pratique considérant notamment que le processus de développement des graines dure cinq semaines et qu'une fleur coupée en vase ne survit pas sur cette durée (expertise CNIH et URIH de Sophia Antipolis). Le pétitionnaire indique d'ailleurs que la dispersion des gènes par formation de graine est improbable et est soumise à la réussite de plusieurs événements successifs (arrivée de pollen viable sur les stigmates de l'œillet, germination du pollen, croissance du tube pollinique de l'ovule de l'œillet, etc.). De plus, il semble difficile d'imaginer une pollinisation des fleurs avant la récolte pour des fleurs coupées car celles-ci sont encore fermées et carpelles et étamines ne sont pas suffisamment développés (Kim et al., 2005a; Kim et al., 2005b). Si une pollinisation avait lieu dans des plants destinés à la commercialisation de fleurs coupées, elle augmenterait la production d'éthylène et accélérerait la sénescence de la fleur (Finger and Barbosa, 2006; Halevy, 1986). Compte tenu de ces éléments, la dispersion *via* des graines produites par les fleurs coupées semble donc improbable.

5. Plan de surveillance post-commercialisation

En matière de surveillance post-commercialisation, la Directive 2001/18/CE¹³ (EC, 2001b), complétée par les Règlements (CE) 1829/2003 (EC, 2003a) et 1830/2003¹⁴ (EC, 2003b), prévoit que soient mis en place :

- un plan de surveillance spécifique, pour tester/confirmer d'éventuelles hypothèses émises lors de l'évaluation des risques pour l'environnement en ce qui concerne l'apparition et l'impact d'effets néfastes potentiels de l'OGM ou de son utilisation. Le plan de surveillance spécifique est destiné à mettre en évidence les changements prévisibles.
- un plan de surveillance générale, pour identifier l'apparition d'éventuels effets néfastes de l'OGM ou de son utilisation sur la santé humaine ou animale ou sur l'environnement qui n'auraient pas été anticipés lors de l'évaluation des risques pour l'environnement. Le plan de surveillance générale vise à mettre en évidence les changements non prévus par les plans de surveillance spécifique.

Considérant les résultats de l'analyse de risques présentée dans les chapitres précédents et l'utilisation prévue des œillets dans la demande d'autorisation de mise sur le marché C/NL/13/01, le CS du HCB s'accorde avec le pétitionnaire sur le fait qu'un plan de surveillance spécifique n'est pas nécessaire.

Le plan de surveillance générale proposé reprend ceux établis pour des œillets précédemment autorisés à l'importation. Il repose sur des questionnaires remis aux importateurs, sur le retour des consommateurs, des rapports de surveillance d'experts, et des courriers aux herbiers et jardins botaniques, auprès desquels il s'informe sur les collections d'œillets qui y arrivent. Le dossier précise qu'en 2012, 230 requêtes ont été envoyées aux herbiers et jardins botaniques et 83 réponses ont été reçues (36,3 %), sans plus de détails sur le contenu des informations échangées. On ne peut donc apprécier l'intérêt de ces enquêtes.

Deux experts ont été engagés par le pétitionnaire pour l'alerter en cas de détection de populations sauvages ou d'hybrides inhabituels d'œillets *Dianthus* au cours de leur surveillance du territoire. Ils doivent alors procéder à une analyse moléculaire des hybrides pour tester l'hypothèse d'hybridation avec les œillets SHD-27531-4. Au vu de la rémunération annuelle affichée (« moins de 1000 euros »), le CS s'interroge sur le travail que ces experts vont pouvoir effectivement réaliser, et quels territoires ils vont pouvoir effectivement surveiller.

Des recherches sur des sites web, bases de données, et des communications (formulation très générale et en particulier sans que ne soit précisé avec et par qui) sont annoncées par le pétitionnaire. En 2012, ces recherches ont fourni 38 éléments informatifs. Une étude bibliographique a également été entamée (41 nouveaux articles en 2012).

Enfin, bien que cela ne soit pas requis dans le cadre de la directive 2001/18/CE, une surveillance d'éventuelles repousses est également effectuée sur les sites de production en Amérique du Sud, particulièrement dans les tas de compostage formés par des résidus de culture d'œillets GM précédemment autorisés. Aucune repousse n'a été détectée.

Le pétitionnaire annonce l'établissement d'une base de données concernant toutes les exportations d'œillets GM vers l'UE (nombres, clients, dates et aéroport d'arrivée)

Concernant la traçabilité, une méthode d'identification et quantification est en cours d'étude par l'EURL-GMFF¹⁵ (stade 2). Elle reprend comme gène de référence un gène utilisé pour d'autres œillets génétiquement modifiés précédemment autorisés sans que la spécificité de celui-ci n'ait été vérifiée ; aucun résultat n'est fourni permettant d'apprécier si la méthode

¹³ La directive 2001/18/CE est une directive du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 qui fixe les règles communautaires relatives à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement. Elle abroge la directive 90/220/CEE du Conseil. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:FR:HTML>.

¹⁴ Le règlement (CE) 1830/2003 est un règlement du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant la traçabilité et l'étiquetage des organismes génétiquement modifiés et la traçabilité des produits destinés à l'alimentation humaine ou animale produits à partir d'organismes génétiquement modifiés, et modifiant la directive 2001/18/CE. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1830:FR:HTML>.

¹⁵ 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.europa.eu/our_labs/eurl-gmff.

utilisée a suivi les lignes directrices ENGL correspondantes. Les outils de traçabilité ne sont donc pas couramment disponibles.

En matière d'étiquetage, le pétitionnaire propose de diffuser des instructions écrites aux distributeurs et d'apposer une mention spécifique sur les produits vendus. Les informations aux distributeurs, outre l'identification du produit, des restrictions commerciales et des coordonnées de la société Suntory Holdings Limited, porteront la mention : « Ce produit est un œillet génétiquement modifié qui n'est pas destiné à l'alimentation humaine et animale ni à la culture ». Cet étiquetage est réservé à l'amont de la filière, jusqu'aux grossistes, et n'est pas destiné aux fleuristes détaillants et consommateurs pour des raisons de faisabilité (ex : suivi de fleurs individuelles dans des bouquets composés).

6. Conclusions, commentaires et demandes d'informations complémentaires

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

- Aucun risque particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été identifié suite à l'évaluation et l'analyse bioinformatique de la lignée d'œillet SHD-27531-4, de la delphinidine, de l'enzyme mutante ALS, ou des ORFs potentiels créés par la modification génétique.
- Il est improbable que les fleurs coupées d'œillet produisent des graines; le risque de dissémination par des graines produites par ces fleurs est donc quasi nul.
- Le risque de dissémination de gènes par le pollen de fleurs coupées d'œillet est faible mais non nul. Il ne lui serait cependant pas associé d'impact environnemental significatif.
- La dissémination par bouturage est difficile à réaliser mais possible par des techniques adaptées.

Le plan de surveillance proposé par le pétitionnaire semble adapté à l'utilisation prévue des œillets SHD-27531-4 dans la demande d'autorisation de mise sur le marché C/NL/13/01. Le CS du HCB recommande toutefois que, si elle était autorisée, la mise sur le marché des œillets SHD-27531-4 soit accompagnée de mesures propres à répondre au risque de dissémination par bouturage par une communication à l'attention des sociétés d'amateurs quant aux possibilités de diffusion non contrôlée des œillets transgéniques.

Enfin, le CS du HCB s'interroge sur le travail attendu des deux experts engagés pour cette surveillance au vu du niveau de rémunération affiché, et souhaiterait que le pétitionnaire apporte plus d'information à ce sujet.

7. Bibliographie

Atanasova, B. (1998). Investigation of the possibility of crossing carnation (*D. caryophyllus*) with some wild species of the genus *Dianthus*. *Rastenievdni-Nauki* 35.

Brown, J.P., and Dietrich, P.S. (1979). Mutagenicity of plant flavonols in the Salmonella-mammalian microsome test - activation of flavonol glycosides by mixed glycosidases from rat cecal bacteria and other sources. *Mutat Res* 66, 223-240.

Chaleff, R.S., and Ray, T.B. (1984). Herbicide-resistant mutants from tobacco cell-cultures. *Science* 223, 1148-1151.

Duggleby, R.G., and Pang, S.S. (2000). Acetohydroxyacid synthase. *J Biochem Mol Biol* 33, 1-36.

EFSA (2010). Scientific Opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed. *The EFSA Journal* 8, 168 pp.

Erhardt, A. (1988). Pollination and reproduction in *Dianthus silvester* Wulf. In Proceedings of the Tenth International Symposium on the Sexual Reproduction of Higher Plants, M. Cresti, P. Gori, and E. Pacini, eds. (Berlin, Germany, Springer-Verlag), pp. 351-356.

Finger, F.L., and Barbosa, J.G. (2006). Postharvest physiology of cut flowers. In Advances in postharvest technologies for horticultural crops, B. Noureddine, and S. Norio, eds. (Kerala, Research Signpost), pp. 373-393.

Gargano, D., Gullo, T., and Bernardo, L. (2009). Do inefficient selfing and inbreeding depression challenge the persistence of the rare *Dianthus guliae* Janka (Caryophyllaceae)? Influence of reproductive traits on a plant's proneness to extinction. *Plant Species Biol* 24, 69-76.

Halevy, A.H. (1986). Pollination-induced corolla senescence. *Acta Hort* 181, 25-32.

Hileman, R.E., Silvanovich, A., Goodman, R.E., Rice, E.A., Holleschak, G., Astwood, J.D., and Hefle, S.L. (2002). Bioinformatic methods for allergenicity assessment using a comprehensive allergen database. *Int Arch Allergy Immunol* 128, 280-291.

Holzner, W., and Immonen, R. (1982). Europe: an overview. In Biology and ecology of weeds, W. Holzner, and M. Numata, eds. (The Hague, NL, W. Junk), pp. 203-226.

Ebrahimzadeh, A., Hosseinzadeh, E., Jiménez, S. and Lao, M.T. (2009). Influence of ethanol on the storage life and bud opening of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during wet storage. *Acta Hort.* 847, 259-264

Kim, Y.A., Joung, H.Y., Kwon, O.K., and Shin, H.K. (2005a). Morphological Observation of Anther and Pollen by Stages of Flower Development for Improvement of the Breeding Efficiency in Carnation 'Desio'. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 23, 446-450.

Kim, Y.A., Joung, H.Y., and Shin, H.K. (2005b). Morphological Observation of Floral Organs to Investigate the Cause of Poor Pollen Formation in Carnation 'Desio'. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 23, 440-445.

Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., and Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64, 923-933.

Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., and Brouillard, R. (2008). Analysis and biological activities of anthocyanins (vol 64, pg 923, 2003). *Phytochemistry* 69, 1939-1940.

Ladics, G.S., Bardina, L., Cressman, R.F., Mattsson, J.L., and Sampson, H.A. (2006). Lack of cross-reactivity between the *Bacillus thuringiensis* derived protein Cry1F in maize grain and dust mite Der p7 protein with human sera positive for Der p7-IgE. *Regul Toxicol Pharmacol* 44, 136-143.

Lucas, C.D., Hallagan, J.B. and Taylor, S. (2001). The role of natural color additives in food allergy. *Advances in Food and Nutrition Research* 43, 195-216.

Meena, W., and Shanti, P. (2006). In vitro propagation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Annals of Plant Physiology* 20, 29-34.

Newhouse, K., Singh, B., Shaner, D., and Stidham, M. (1991). Mutations in corn (*Zea-mays* L) conferring resistance to imidazolinone herbicides. *Theor Appl Genet* 83, 65-70.

Nilsson, L.A., Rabakonandrianina, E., and Pettersson, B. (1992). Exact tracking of pollen transfer and mating in plants. *Nature* 360, 666-668.

Nimura, M., Kato, J., and Mii, M. (2006). Interspecific hybrid production by reciprocal crosses between *Dianthus caryophyllus* L. and *Dianthus x isensis* Hirahata et Kitamura. *J Horticult Sci Biotechnol* *81*, 995-1001.

Nimura, M., Kato, J., Mii, M., and Ohishi, K. (2008). Cross-compatibility and the polyploidy of progenies in reciprocal backcrosses between diploid carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) and its amphidiploid with *Dianthus japonicus* Thunb. *Sci Hortic* *115*, 183-189.

Pourrat, H., Bastide, P., Dorier, P., and Tronche, P. (1967). Préparation et activité thérapeutique de quelques glycosides d'anthocyanes. *Chim Thérap*, 33-38.

Ray, T.B. (1984). Site of action of chlorsulfuron - inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Plant Physiol* *75*, 827-831.

Shaner, D.L., Anderson, P.C., and Stidham, M.A. (1984). Imidazolinones - potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiol* *76*, 545-546.

Silvanovich, A., Nemeth, M.A., Song, P., Herman, R., Tagliani, L., and Bannon, G.A. (2006). The value of short amino acid sequence matches for prediction of protein allergenicity. *Toxicol Sci* *90*, 252-258.

Southan, M.D., and Copeland, L. (1996). Physical and kinetic properties of acetohydroxyacid synthase from wheat leaves. *Physiol Plant* *98*, 824-832.

Stadler, M.B., and Stadler, B.M. (2003). Allergenicity prediction by protein sequence. *FASEB J* *17*, 1141.

Subramanian, M.V., Hung, H.Y., Dias, J.M., Miner, V.W., Butler, J.H., and Jachetta, J.J. (1990). Properties of mutant acetolactate synthases resistant to triazolopyrimidine sulfonanilide. *Plant Physiol* *94*, 239-244.

Tan, S.Y., Evans, R.R., Dahmer, M.L., Singh, B.K., and Shaner, D.L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Manage Sci* *61*, 246-257.

Thomas, K., MacIntosh, S., Bannon, G., Herouet-Guichenev, C., Holsapple, M., Ladics, G., McClain, S., Vieths, S., Woolhiser, M., and Privalle, L. (2009). Scientific advancement of novel protein allergenicity evaluation: An overview of work from the HESI Protein Allergenicity Technical Committee (2000-2008). *Food Chem Toxicol* *47*, 1041-1050.

Thomas, L.M., Gonsalves, S., Mandal, T., and Roychowdhury, N. (2003). Effect of different media on rooting of cuttings of carnation cv. Mixed Super Chaubaud. *Journal of Interacademia* *7*, 262-264.

Tidke, J.A., and Dharamkar, R.O. (2007). A Study on some aspects of pollination biology of winter ornamental plants. In *Advances in pollen spore research*, S.R.A. J., ed. (New Delhi, India, Today & Tomorrow's Printers and Publishers), pp. 129-139.

Tutin, T.G., and Walters, S.M. (1993). *Dianthus* L. In *Flora europaea*, T.G. Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges, D.H. Valentine, and D.M. Moore, eds. (Cambridge, Cambridge University Press), pp. 227-246.

Wu, S. (2007). Introduction and Cultivation of *Dianthus* sp. *Journal of Northeast Forestry University* *35*, 84-86.

Annexe 1 de l'avis du 14 novembre 2013 : 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

Paris, le **2 5 SEP. 2013**

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

Références : 130919- saisine HCB - dossier C-NL-13-01

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 de la directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement, l'évaluation initiale d'un dossier de demande de mise sur le marché est confiée à l'Etat membre qui a reçu le dossier. Lorsque l'Etat membre a transmis son rapport d'évaluation à la Commission européenne, celle-ci adresse le dossier à l'ensemble des États membres qui disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché.

Le dossier suivant, qui a fait l'objet d'un rapport d'évaluation des Pays-Bas, est soumis aux États membres :

- dossier **C/NL/13/01**, concernant la mise sur le marché d'oeillets génétiquement modifiés, lignée **SHD-27531-4**, pour l'importation et la commercialisation de fleurs coupées.

Les États membres peuvent transmettre à la Commission leurs commentaires, demandes d'informations complémentaires ou objections jusqu'au 18 novembre 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, le cas échéant, des commentaires ou demandes d'informations complémentaires à transmettre à la Commission au plus tard le **14 novembre 2013**.

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

L'ingénieur en chef des Ponts,
des Eaux et des Forêts
Service de la Qualité et de la Sécurité des Produits
des Végétaux

Robert TESSIER

Annexe 2 de l'avis du 14 novembre 2013 : Elaboration de l'avis

Cet avis a été élaboré par le CS du HCB à partir de la discussion des rapports d'expertise en séance du 5 novembre 2013¹⁶, et d'échanges ultérieurs jusqu'à adoption par voie électronique le 14 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 Deguerque, Marion Desquilbet, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Nathalie Eychenne, Anne Dubart-Kupperschmitt, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Mireille Jacquemond, André Jestin, Bernard Klonjkowski, 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.¹⁷

Le dossier a été examiné par cinq experts rapporteurs sélectionnés pour leurs compétences dans les disciplines requises pour l'analyse du dossier : quatre membres du CS du HCB et un expert externe, Bruno Paris, mis à disposition par l'INRA de Sophia-Antipolis à la Chambre d'agriculture des Alpes-Maritimes. Bruno Paris 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 cet avis, qui reste 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. Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec l'élaboration de cet avis.

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

¹⁶ 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 Deguerque, Marion Desquilbet, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Anne Dubart-Kupperschmitt, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, André Jestin, Bernard Klonjkowski, 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.

¹⁷ Composition du CS en vigueur suite au dernier décret de nomination des membres du Comité scientifique du HCB paru le 24 octobre 2013.