



HAL
open science

Avis en réponse à la saisine HCB- dossier 2019-159. Paris, le 16 décembre 2019

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

► **To cite this version:**

. Comité Scientifique Du Haut Conseil Des Biotechnologies, Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, et al.. Avis en réponse à la saisine HCB- dossier 2019-159. Paris, le 16 décembre 2019. [0] Haut Conseil des Biotechnologies. 2019, 34 p. hal-02917777

HAL Id: hal-02917777

<https://hal.inrae.fr/hal-02917777v1>

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

COMITÉ SCIENTIFIQUE

AVIS

en réponse à la saisine HCB- dossier 2019-159¹.

Paris, le 16 décembre 2019

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 1^{er} octobre 2019 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative au dossier EFSA-GMO-NL-2019-159 de demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié **DP202216** à des fins d'importation, de transformation et d'alimentation humaine et animale.

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

Dans ce contexte, le HCB est invité à proposer des commentaires à destination de l'EFSA au plus tard le 20 décembre 2019.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a examiné le dossier en séance du 21 novembre 2019 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Le présent avis a été adopté par voie électronique le 16 décembre et publié le 23 décembre 2019.

¹ La saisine « **HCB- dossier 2019-159** » est reproduite dans l'Annexe 1.

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

RESUME DE L'AVIS³

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003 d'une demande d'avis relative au dossier EFSA-GMO-NL-2019-159 dans le but de proposer des commentaires à destination de l'EFSA en contribution à l'évaluation européenne du dossier, et d'éclairer les autorités compétentes françaises dans une étape intermédiaire en amont du vote à la Commission européenne. Déposé par la société Pioneer Hi-Bred International, Inc., ce dossier est une demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié DP202216 à des fins d'importation, de transformation et d'alimentation humaine et animale dans l'Union européenne.

Description du produit

Le maïs DP202216 a été modifié génétiquement par introduction d'une copie exprimée constitutivement du gène natif de maïs *zmm28* codant le facteur de transcription de type MADS-box, ZMM28. L'expression de cette copie supplémentaire du gène en plus de la séquence native augmente le niveau et étend la plage d'expression du gène *zmm28*. Cette modification est destinée à augmenter le potentiel de rendement en grains. L'ADN-T porte également une version optimisée du gène *mo-pat*, exprimant l'enzyme phosphinothricine acétyl transférase (PAT) de *Streptomyces viridochromogenes*, conférant une tolérance à l'herbicide glufosinate d'ammonium.

L'événement DP202216 a été obtenu par transformation génétique de la variété semi-élite PH17AW via *Agrobacterium tumefaciens*. La caractérisation moléculaire et génétique du maïs DP202216 indique que l'ADN-T portant les cassettes d'expression *zmm28* et *mo-pat* est présent en un locus unique, sur le chromosome 1 du maïs. Le caractère de tolérance au glufosinate d'ammonium dans le maïs DP202216 est stable sur cinq générations. L'étude de la descendance en ségrégation est en accord avec une héritabilité mendélienne d'un locus unique. Aucun autre transgène que ceux portés par l'ADN-T n'est détecté dans le génome du maïs DP202216. Aucun des cadres de lecture ouverts (ORFs) potentiels identifiés dans l'insert et à la jonction de celui-ci ne présente d'homologie significative avec des allergènes ou des toxines connus.

Remarques générales à destination de l'EFSA

Commentaire préliminaire :

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

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

Remarques principales :

1. Concernant la caractérisation moléculaire :

Le CS du HCB a été gêné par l'absence de certaines données clés dans le dossier.

En particulier, il est question dans le dossier d'un article soumis à PNAS (Wu *et al.*, 2019), sensé contenir plusieurs données qui ne figurent pas dans le dossier. Le CS du HCB s'étonne que ce dossier réglementaire ait été déclaré valide en l'absence de données se référant à un article non publié, non versé au dossier. Il estime par ailleurs que l'ensemble des données brutes devrait figurer dans le dossier, indépendamment des publications du pétitionnaire. Enfin, le CS du HCB est surpris que cet article, au titre modifié, semble avoir été publié pendant l'évaluation du dossier par les États membres, sans que le pétitionnaire n'en ait fait état.

Pour compléter les données restées manquantes après considération de la publication de l'article Wu *et al.*, 2019, le CS du HCB demande au pétitionnaire de fournir les données de séquençage du site d'insertion dans la variété réceptrice, ainsi que les niveaux d'expression de la protéine ZMM28 au stade V2.

2. Concernant l'analyse comparative :

L'examen de l'analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques du maïs DP202216 a conduit le CS du HCB à s'interroger sur la validité de l'évaluation des risques réalisée dans le dossier.

Le pétitionnaire revendique un potentiel de rendement augmenté pour le maïs DP202216. Ce phénotype est rapporté avoir été observé dans la majorité des essais analysés dans l'article de Wu *et al.* (2019). Il n'est globalement pas observé dans l'analyse des essais du présent dossier, au contraire : la moyenne des rendements du maïs DP202216 est significativement inférieure à la moyenne des rendements du comparateur non GM. Le CS du HCB a jugé ces essais inappropriés pour réaliser l'évaluation des risques associés à ce maïs.

Dans l'hypothèse où la revendication de potentiel de rendement supérieur de ce maïs en conditions représentatives de culture serait justifiée, le CS du HCB estime que l'analyse comparative de ce maïs et l'évaluation des risques qui en découle devraient être réalisées dans des conditions qui seraient à la fois représentatives des conditions de production à venir de ce maïs, et dans lesquelles cette différence de rendement attendue serait détectable dans une majorité de cas.

3. Concernant l'évaluation des risques pour l'environnement :

Le dossier ne se réfère qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré. Or, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales plus propices à la persistance du maïs. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français⁴. Le CS du HCB souhaite que les caractéristiques environnementales particulières de ces régions soient considérées dans l'évaluation des risques et les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché de graines issues de plantes génétiquement modifiées dans l'Union européenne. Une alternative serait d'exclure ces zones géographiques particulières du périmètre de la mise sur le marché.

⁴ Les régions ultrapériphériques (RUP) sont les territoires de l'Union européenne situés hors du continent européen. Les décisions de l'Union européenne y sont appliquées. Les RUP françaises regroupent l'ensemble des DROM (Guadeloupe, Guyane, Martinique, La Réunion, Mayotte) ainsi que la collectivité d'outre-mer Saint-Martin.

Le dossier ne prend pas suffisamment en compte la présence, dans l'Union européenne, de populations de téosintes compatibles avec le maïs cultivé et le risque associé à la possibilité d'un transfert de gènes du maïs DP202216 à des téosintes.

Le CS du HCB juge que la section traitant des organismes non-cibles n'est pas suffisamment développée : l'exposition devrait être étendue aux animaux autres que les animaux d'élevage susceptibles de consommer les grains de maïs DP202216 ; l'analyse de l'innocuité de PAT devrait considérer des conditions d'acidité gastrique correspondant à une plus grande diversité d'animaux ; la possibilité de résidus de glufosinate dans les grains devrait être considérée.

4. Concernant les plans de surveillance post-commercialisation :

Le CS du HCB s'accorde avec l'approche de surveillance générale proposée par le pétitionnaire, conforme aux exigences réglementaires de l'Union européenne. Il recommande toutefois au pétitionnaire de se rapprocher des autorités en charge de la biosurveillance dans les États membres, afin d'harmoniser avec elles et sous leur contrôle les mesures de surveillance à mettre en œuvre. Les mesures de surveillance devront être adaptées au contexte spécifique de chaque État membre, prenant notamment en compte les régions où des populations de téosintes ont été signalées. Il recommande enfin que la surveillance générale soit poursuivie autant que nécessaire pour permettre de prendre en compte d'éventuelles repousses associées à l'écoulement du stock de graines éventuellement en circulation dans la filière après la fin de la période d'autorisation de mise sur le marché du maïs DP202216.

Remarque supplémentaire :

Certains membres du CS du HCB soulèvent la question éthique d'autoriser l'importation dans l'Union européenne d'un produit dont la production dans les pays exportateurs impliquera l'exposition des opérateurs à un produit phytopharmaceutique (à base de glufosinate d'ammonium) qui a été retiré du marché français pour des raisons sanitaires

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	6
1.1. CONTEXTE REGLEMENTAIRE DE LA SAISINE	6
1.2. HISTORIQUE DU DOSSIER.....	7
1.3. PRESENTATION DE LA PLANTE GENETIQUEMENT MODIFIEE.....	7
2. COMMENTAIRES A DESTINATION DE L'EFSA	8
2.1. REMARQUES GENERALES	8
2.2. COMMENTAIRES PAR SECTIONS DEFINIES PAR L'EFSA.....	10
3. BIBLIOGRAPHIE	19
ANNEXE 1 : SAISINE	21
ANNEXE 2 : ELABORATION DE L'AVIS	22
ANNEXE 3 : COMMENTAIRES TRADUITS EN ANGLAIS A DESTINATION DE L'EFSA	23
A3.1. GENERAL COMMENTS	23
A3.2. COMMENTS PER SECTION	25

1. Introduction

1.1. Contexte réglementaire de la saisine

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 1^{er} octobre 2019 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-NL-2019-159, portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié DP202216 à des fins d'importation, de transformation et d'alimentation humaine et animale dans l'Union européenne. Le dossier EFSA-GMO-NL-2019-159 a été déposé par la société Pioneer Hi-Bred International, Inc. auprès des autorités compétentes néerlandaises sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003⁵ (EC, 2003).

Dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003, l'évaluation des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées est centralisée par l'EFSA⁶, qui dispose d'un délai de 6 mois, à compter de la date de validation du dossier, pour transmettre son avis à la Commission européenne. En pratique, le décompte de cette période de six mois est suspendu à chaque demande d'information supplémentaire adressée au pétitionnaire.

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

Les commentaires des États membres, dès réception par l'EFSA, sont transmis d'une part aux experts de trois groupes de travail du panel OGM⁷ de l'EFSA (Analyse moléculaire, Alimentation humaine et animale, Environnement), et d'autre part à l'État membre auquel l'EFSA a délégué l'évaluation du risque environnemental. En l'occurrence, la culture étant exclue du champ de demande d'autorisation de ce dossier, l'EFSA a choisi de ne pas déléguer cette évaluation.

Les groupes de travail de l'EFSA examinent les commentaires des États membres, les intègrent dans leur analyse des dossiers, et, quand ils le jugent pertinent, les transmettent au pétitionnaire sous forme de questions pour clarification ou demande d'information supplémentaire. Si tous les commentaires ne sont pas nécessairement transmis au pétitionnaire, ils font tous l'objet d'une réponse spécifique par l'EFSA. Les commentaires de chaque État membre, ainsi que les réponses correspondantes de l'EFSA, sont rendus publics, en annexe de l'avis scientifique de l'EFSA à destination de la Commission européenne.

⁵ Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. (Plus précisément, pour clarifier une confusion inhérente à la traduction française de ce titre, ce règlement concerne les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, ces denrées alimentaires ou aliments pour animaux pouvant consister en des OGM, contenir des OGM, ou être issus d'OGM.): <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:FR:HTML>.

⁶ EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments, traduction de *European Food Safety Authority*.

⁷ OGM : organisme génétiquement modifié.

La procédure de transmission des commentaires à l'EFSA est strictement cadrée. Les autorités compétentes des États membres sont invitées à poster des commentaires en ligne, en anglais, dans des formulaires distincts pour chaque section des dossiers. Les sections sont basées sur la structure des dossiers établie par le règlement (CE) n° 1829/2003, détaillée par le règlement d'exécution (UE) n° 503-2013⁸ (EU, 2013), et explicitée dans le document d'orientation de l'EFSA relatif à la soumission de dossiers de demande d'autorisation de plantes génétiquement modifiées à des fins alimentaires (EFSA, 2013). Ces commentaires doivent être ciblés sur des demandes spécifiques adressées à l'EFSA, soit pour une demande de clarification ou d'information supplémentaire de la part du pétitionnaire, soit pour la prise en compte de remarques spécifiques dans son évaluation des dossiers et l'élaboration de son avis scientifique.

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

En fin d'évaluation, la Commission européenne soumettra au vote des États membres un projet de décision concernant l'autorisation de mise sur le marché du maïs DP202216 dans l'Union européenne, élaboré sur la base de l'avis de l'EFSA. Le HCB pourra à nouveau être saisi par les autorités compétentes françaises pour qu'il puisse réviser son évaluation selon les informations supplémentaires versées au dossier depuis son évaluation initiale. A ce stade ultérieur, le HCB rédigera un avis fournissant un éclairage complet sur le dossier à destination du Gouvernement.

1.2. Historique du dossier

Le 29 juin 2019, Pioneer Hi-Bred International, Inc. a soumis aux autorités néerlandaises un dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs DP202216 (identifiant unique DP-202216-6) pour l'importation, la transformation et l'alimentation humaine et animale dans l'Union européenne.

Le 2 juillet 2019, conformément au règlement (CE) 1829/2003, les autorités néerlandaises ont transmis le dossier à l'EFSA. Dès réception le 3 juillet 2019, l'EFSA a enregistré le dossier sous la référence EFSA-GMO-NL-2019-159. Après vérification de sa conformité réglementaire, qui a nécessité une demande de complément d'information au pétitionnaire, l'EFSA a validé le dossier le 23 septembre 2019, et l'a soumis à consultation des États membres jusqu'au 3 janvier 2020.

Pour information concernant l'origine à venir des semences potentiellement importées dans l'Union européenne, au 23 septembre 2019 – date de validation du dossier –, le maïs DP202216 était autorisé à la culture en essais au champ aux États-Unis, au Canada, au Chili et au Japon. Le dossier mentionne également des demandes d'autorisation pour la culture commerciale déposées dans plusieurs pays, sans plus de précision.

1.3. Présentation de la plante génétiquement modifiée

Le maïs DP202216 a été modifié génétiquement par introduction d'une copie exprimée constitutivement du gène natif de maïs *zmm28* codant le facteur de transcription de type MADS-box, ZMM28. L'expression de cette copie supplémentaire du gène en plus de la séquence native augmente le niveau et étend la plage d'expression du gène *zmm28*. Cette modification est destinée à augmenter le potentiel de rendement en grains. L'ADN-T porte également une version optimisée du gène *mo-pat*, exprimant l'enzyme phosphinothricine acétyl transférase (PAT) de *Streptomyces viridochromogenes*, conférant une tolérance à l'herbicide glufosinate d'ammonium.

⁸ Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 de la Commission du 3 avril 2013 relatif aux demandes d'autorisation de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux génétiquement modifiés introduites en application du règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements de la Commission (CE) n° 641/2004 et (CE) n° 1981/2006 : <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:157:0001:0048:FR:PDF>

L'événement DP202216 a été obtenu par transformation génétique de la variété semi-élite PH17AW via *Agrobacterium tumefaciens*. La caractérisation moléculaire et génétique du maïs DP202216 indique que l'ADN-T portant les cassettes d'expression *zmm28* et *mo-pat* est présent en un locus unique, sur le chromosome 1 du maïs. Le caractère de tolérance au glufosinate d'ammonium dans le maïs DP202216 est stable sur cinq générations. L'étude de la descendance en ségrégation est en accord avec une héritabilité mendélienne d'un locus unique. Aucun autre transgène que ceux portés par l'ADN-T n'est détecté dans le génome du maïs DP202216. Aucun des cadres de lecture ouverts (ORFs) potentiels identifiés dans l'insert et à la jonction de celui-ci ne présente d'homologie significative avec des allergènes ou des toxines connus.

Le pétitionnaire présente dans ce dossier l'évaluation des risques environnementaux et sanitaires associés à l'importation, la transformation et l'utilisation dans l'alimentation humaine et animale du maïs DP202216 dans l'Union européenne. Le CS du HCB propose d'envoyer les remarques suivantes à l'EFSA concernant les points du dossier identifiés comme critiquables au sujet de l'évaluation des risques environnementaux. Les commentaires concernant l'évaluation des risques sanitaires sont envoyés par l'Anses.

2. Commentaires à destination de l'EFSA

2.1. Remarques générales

Commentaire préliminaire :

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

Remarques principales :

1. Concernant la caractérisation moléculaire :

Le CS du HCB a été gêné par l'absence de certaines données clés dans le dossier.

En particulier, il est question dans le dossier d'un article soumis à PNAS (Wu *et al.*, 2019), sensé contenir plusieurs données qui ne figurent pas dans le dossier. Le CS du HCB s'étonne que ce dossier réglementaire ait été déclaré valide en l'absence de données se référant à un article non publié, non versé au dossier. Il estime par ailleurs que l'ensemble des données brutes devrait figurer dans le dossier, indépendamment des publications du pétitionnaire. Enfin, le CS du HCB est surpris que cet article, au titre modifié, semble avoir été publié pendant l'évaluation du dossier par les États membres, sans que le pétitionnaire n'en ait fait état.

Pour compléter les données restées manquantes après considération de la publication de l'article Wu *et al.*, 2019, le CS du HCB demande au pétitionnaire de fournir les données de séquençage du site d'insertion dans la variété réceptrice, ainsi que les niveaux d'expression de la protéine ZMM28 au stade V2.

2. Concernant l'analyse comparative :

L'examen de l'analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques du maïs DP202216 a conduit le CS du HCB à s'interroger sur la validité de l'évaluation des risques réalisée dans le dossier.

Le pétitionnaire revendique un potentiel de rendement augmenté pour le maïs DP202216. Ce phénotype est rapporté avoir été observé dans la majorité des essais analysés dans l'article de Wu *et al.* (2019). Il n'est globalement pas observé dans l'analyse des essais du présent dossier, au contraire : la moyenne des rendements du maïs DP202216 est significativement inférieure à la moyenne des rendements du comparateur non GM. Le CS du HCB a jugé ces essais inappropriés pour réaliser l'évaluation des risques associés à ce maïs.

Dans l'hypothèse où la revendication de potentiel de rendement supérieur de ce maïs en conditions représentatives de culture serait justifiée, le CS du HCB estime que l'analyse comparative de ce maïs et l'évaluation des risques qui en découle devraient être réalisées dans des conditions qui seraient à la fois représentatives des conditions de production à venir de ce maïs, et dans lesquelles cette différence de rendement attendue serait détectable dans une majorité de cas.

3. Concernant l'évaluation des risques pour l'environnement :

Le dossier ne se réfère qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré. Or, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales plus propices à la persistance du maïs. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français⁹. Le CS du HCB souhaite que les caractéristiques environnementales particulières de ces régions soient considérées dans l'évaluation des risques et les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché de graines issues de plantes génétiquement modifiées dans l'Union européenne. Une alternative serait d'exclure ces zones géographiques particulières du périmètre de la mise sur le marché.

Le dossier ne prend pas suffisamment en compte la présence, dans l'Union européenne, de populations de téosintes compatibles avec le maïs cultivé et le risque associé à la possibilité d'un transfert de gènes du maïs DP202216 à des téosintes.

Le CS du HCB juge que la section traitant des organismes non-cibles n'est pas suffisamment développée : l'exposition devrait être étendue aux animaux autres que les animaux d'élevage susceptibles de consommer les grains de maïs DP202216 ; l'analyse de l'innocuité de PAT devrait considérer des conditions d'acidité gastrique correspondant à une plus grande diversité d'animaux ; la possibilité de résidus de glufosinate dans les grains devrait être considérée.

4. Concernant les plans de surveillance post-commercialisation :

Le CS du HCB s'accorde avec l'approche de surveillance générale proposée par le pétitionnaire, conforme aux exigences réglementaires de l'Union européenne. Il recommande toutefois au pétitionnaire de se rapprocher des autorités en charge de la biosurveillance dans les États membres, afin d'harmoniser avec elles et sous leur contrôle les mesures de surveillance à mettre en œuvre. Les mesures de surveillance devront être adaptées au contexte spécifique de chaque État membre, prenant notamment en compte les régions où des populations de téosintes ont été signalées. Il recommande enfin que la surveillance générale soit poursuivie autant que nécessaire

⁹ Les régions ultrapériphériques (RUP) sont les territoires de l'Union européenne situés hors du continent européen. Les décisions de l'Union européenne y sont appliquées. Les RUP françaises regroupent l'ensemble des DROM (Guadeloupe, Guyane, Martinique, La Réunion, Mayotte) ainsi que la collectivité d'outre-mer Saint-Martin.

pour permettre de prendre en compte d'éventuelles repousses associées à l'écoulement du stock de graines éventuellement en circulation dans la filière après la fin de la période d'autorisation de mise sur le marché du maïs DP202216.

Remarque supplémentaire :

Certains membres du CS du HCB soulèvent la question éthique d'autoriser l'importation dans l'Union européenne d'un produit dont la production dans les pays exportateurs impliquera l'exposition des opérateurs à un produit phytopharmaceutique (à base de glufosinate d'ammonium) qui a été retiré du marché français pour des raisons sanitaires.

2.2. Commentaires par sections définies par l'EFSA

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

1. Hazard identification and characterisation

1.1. Information Relating to the Recipient or (where appropriate) Parental Plants

E. Additional information relating to the recipient or parental plants required for the environmental safety aspects

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

Le dossier ne fait pas clairement état de la présence de téosintes en Europe et du problème agronomique qu'ils représentent.

La présence de populations de téosintes, sous-espèces sauvages de *Zea mays* sexuellement compatibles avec le maïs cultivé a récemment été rapportée en Europe (Devos *et al.*, 2018; EFSA, 2016). Ces populations de téosintes sont présentes dans deux régions, le nord-est de l'Espagne (Aragon et Catalogne) et l'ouest de la France (Poitou-Charentes), où elles sont adventices des cultures de maïs. L'existence de flux de gènes entre les téosintes et le maïs cultivé est établie dans la littérature et se produirait en faible fréquence (Baltazar *et al.*, 2005; Ellstrand *et al.*, 2007).

L'article de Devos *et al.* 2018 et la publication de l'EFSA de 2016 relatifs aux téosintes en Europe sont effectivement cités, mais de façon très partielle (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, p. 12-13) :

"As indicated by the EFSA GMO Panel "Outside its centres of origin, teosinte is not indigenous, but has become naturalised/established in some countries. In these situations, teosinte does not represent an environmental entity of concern that requires protection. Instead, it is occasionally cultivated for its forage potential, or considered a weed that can compete with cultivated maize in agricultural fields, thereby reducing yield and compromising harvest quality. In infested agricultural fields, teosinte is subject to control and/or eradication measures" (Devos et al., 2018; EFSA, 2016a)"".

Or, une étude récente souligne que la difficulté à contrôler les populations de téosintes adventices pourrait conduire à un problème agronomique majeur en Aragon et Catalogne (Martinez *et al.*, 2018).

1.2. Molecular Characterisation

1.2.1. Information relating to the genetic modification

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

Les détails du mode d'action de la protéine ZMM28 sont indiqués être développés dans un article « Wu *et al.* (2019) » (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, Figure 3, p. 20) :

“Further details on the mode-of-action of ZMM28 can be found in section 1.5 and in the Wu et al. (2019) scientific paper.”

La bibliographie du document “*Main text DP202216*” inclut la référence suivante (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216, REFERENCES*, p. 132) :

“Wu J, Lawit SJ, Weers B, Sun J, Mongar N, Van Hemert J, Melo R, Meng X, Rupe M, Clapp J, Haug Collet K, Trecker L, Roesler K, Thomas J, Hunt J, Zhou W, Hou Z, Wimmer M, Jantes J, Mo H, Liu L, Wang Y, Walker C, Danilevskaya O, Lafitte R, Schussler JR, Shen B and Habben JE, 2019. Transgenic zmm28 Maize Creates a Significant Improvement in Broadacre Grain Yield. submitted to PNAS.”

La référence étant indiquée “*submitted to PNAS*”, il n’est pas étonnant de ne pas trouver l’article correspondant dans le dossier rassemblant l’ensemble des articles cités (*Part II Scientific info CI, References CopyRight*). Il n’est en revanche pas acceptable que le dossier se réfère à un article non accessible comme unique source d’information pour plusieurs éléments du dossier. Le CS du HCB s’étonne que ce dossier réglementaire ait été déclaré valide en l’absence des données incluses dans cet article non publié.

Entre temps, le CS du HCB a pris connaissance de l’article suivant, publié dans PNAS le 4 novembre 2019 :

Wu J, Lawit SJ, Weers B, Sun J, Mongar N, Van Hemert J, Melo R, Meng X, Rupe M, Clapp J, Haug Collet K, Trecker L, Roesler K, Thomas J, Hunt J, Zhou W, Hou Z, Wimmer M, Jantes J, Mo H, Liu L, Wang Y, Walker C, Danilevskaya O, Lafitte R, Schussler JR, Shen B, and Habben JE (2019). Overexpression of *zmm28* increases maize grain yield in the field. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1902593116.

Le pétitionnaire pourrait-il préciser si cet article remplace l’article mentionné plus haut, cité dans le dossier comme Wu *et al.* (2019), soumis à PNAS ?

Le CS du HCB estime par ailleurs que l’ensemble des données brutes devrait figurer dans le dossier, indépendamment des publications du pétitionnaire.

1.2.2. Information relating to the genetically modified plant

1.2.2.2. Information on the sequences actually inserted/deleted

3. Size and function of any deleted region(s)

Le pétitionnaire fonde ses conclusions concernant une délétion de 6 pb suite à l’insertion de l’ADN-T dans le génome de la variété de maïs PH17AW sur la base d’une comparaison avec la séquence de la variété de maïs B73 produite dans les données d’assemblage publiques du génome de maïs (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, p. 34) :

“The bioinformatic analysis of the DP202216 insertion flanking borders (Annex 6) using the maize (B73) Public Genome Assembly revealed, that there is a very high likelihood that the DP202216 maize insert is located on chromosome 1 and that 6 bp (representing

positions 27324148 bp – 27324153 bp in chromosome 1 of the B73 maize genome) are deleted during the integration process.”

Le locus de pré-insertion ne semble pas avoir été séquencé dans la variété de maïs utilisée pour la transformation génétique. Le pétitionnaire pourrait-il fournir les données de séquençage du locus d'insertion dans la variété de maïs PH17AW pour permettre de déterminer plus rigoureusement les éventuels remaniements ou délétions à ce locus dans le maïs DP202216 ?

1.2.2.3. Information on the expression of the insert(s)

Cette section se réfère à l'Annexe 8 (*Part II Scientific info CI, Annexes CI, Annex 8 PHI-2017-005011 expression*) concernant les données d'expression de la protéine ZMM28. On note que cette annexe ne contient pas l'intégralité des données des dosages réalisés, en particulier ceux concernant les stades les plus précoces (L'Annexe 8 rapporte les données des dosages de protéines V6, V9, R1, R4, R6, résumées dans la *Table 4* du texte principal). Or, le pétitionnaire indique que la protéine ZMM28 serait présente dès le stade V2 dans le maïs DP202216, sans fournir les données correspondantes (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 38*) :

“DP202216 maize contains a gene cassette with a constitutive maize promotor (zm-gos2), which drives expression of the maize gene (zmm28) and initiates expression of the ZMM28 protein at an earlier growth stage in leaf (V2), and expresses the protein for a more extended period of time in grain (including the R6 growth stage) (Wu et al., 2019).”

Le CS du HCB note que les analyses d'expression du gène *zmm28* présentées dans l'article Wu et al. (2019) publié en novembre 2019 dans PNAS (et non celui cité dans la bibliographie du dossier) mettent en évidence le différentiel d'expression du gène *zmm28* entre le maïs DP202216 et le maïs contrôle aux stades V2 à R5 (Fig. 1.C-D, Fig. S1. A-B). L'article montre également les données de niveaux de protéines du stade V4 (en plus des stades V6, V9, R1, R4 et R6 donnés dans le dossier). En revanche, les données des niveaux de protéines au stade V2 ne figurent dans aucun document. Le pétitionnaire pourrait-il fournir les données d'expression de la protéine ZMM28 au stade V2 ?

1.3. Comparative Analysis

1.3.5. Comparative analysis of agronomic and phenotypic characteristics

L'examen de l'analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques du maïs DP202216 a conduit le CS du HCB à s'interroger sur la validité de l'évaluation des risques réalisée dans le dossier.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 61 :

“DP202216 maize contains a trait which results in plants with enhanced grain yield potential across a wide range of genotypes and environments.”

Les données de rendement collectées dans le dossier (voir ci-dessous) ne soutiennent pas cette revendication. Même si le présent dossier réglementaire n'est pas supposé apporter d'éléments prouvant cette revendication, on peut s'étonner que les données générées dans le cadre de l'évaluation des risques soient incohérentes avec le phénotype de rendement revendiqué par le pétitionnaire. Les questions plus spécifiques à l'évaluation des risques sont développées ci-après.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 61 (suite) :

"The 2017 regulatory science agronomic characteristic study described in Annex 11 did not reveal a statistical difference in yield in comparison with the non-GM near-isoline control maize."

Ceci est inexact : les données indiquent une différence statistiquement significative entre la moyenne des rendements du maïs DP202216 et la moyenne des rendements du comparateur non GM observés sur les différents sites testés dans le dossier (Annex 11, p. 56, Table 42). De plus, contrairement à ce à quoi l'on aurait pu s'attendre considérant que la modification génétique est supposée augmenter le rendement du maïs DP202216, cette différence va dans le sens d'une réduction du rendement du maïs DP202216 par rapport à celui du comparateur non GM (Annex 11, p. 56, Table 42).

Concernant l'évaluation des risques, cette différence n'a pas donné lieu à un examen approfondi et à juste titre, du fait que le rendement du maïs DP202216 s'inscrit dans la fourchette des rendements observés pour les variétés commerciales de référence intégrées aux différents essais. Ce phénotype pose toutefois la question de la pertinence de ces essais pour l'évaluation des risques de cette PGM (voir ci-dessous).

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 61-62 :

"This agronomic regulatory study was statistically designed to evaluate and assess the safety of the DP202216 maize event across a representative and diverse set of environments for a single genotype in a single year."

Ceci relève du choix du pétitionnaire, qui n'est en rien contraint de limiter ces essais à une année. Les conditions étant *a priori* suffisamment diverses et représentatives des sites de culture commerciale à venir, la restriction à une année est considérée acceptable. Les résultats concernant le rendement auraient toutefois dû alerter le pétitionnaire quant à la pertinence de ces essais pour l'évaluation des risques de cette PGM (voir plus loin).

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 62 (suite) :

"The commercial evaluation of the maize event(s), are designed to detect small but economically valuable yield difference. Although the yield effects are consistent on average, as one would expect, within these large data sets there are instances where the trait does not demonstrate a statistically significant grain yield improvement for individual environments or genotypes"

Ce commentaire est dénué de sens vis-à-vis des données du dossier réglementaire. Il semble s'appliquer aux données publiées dans l'article Wu *et al.* en novembre 2019, dans lequel le rendement du maïs DP202216 est supérieur à celui du comparateur non GM dans 79 % des 58 essais considérés. On note que d'après la Figure 2 de cet article, cette augmentation de rendement est statistiquement significative dans à peu près un tiers des sites.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 62 (suite) :

"Thus, the lack of statistically significant yield improvement in the 2017 regulatory science agronomic characteristic study is consistent with the development data."

Les précédents paragraphes ne permettent pas de justifier une telle conclusion. Il y a *a priori* une incohérence entre le dossier réglementaire et les données rapportées dans l'article Wu *et al.* (2019).

Ainsi :

1. Le pétitionnaire revendique un potentiel de rendement augmenté pour le maïs DP202216.
2. Ce phénotype est rapporté avoir été observé dans 79 % (46 sur 58) des essais analysés dans l'article de Wu *et al.* (2019), dans des conditions de haut rendement comme dans des conditions de bas rendement. Cette différence est significative pour 20 d'entre eux. La différence dans le sens opposé est significative pour 2 essais parmi 12.
3. Le phénotype de rendement augmenté n'est globalement pas observé dans l'analyse des essais du dossier réglementaire. Contrairement aux affirmations du pétitionnaire dans le *Main text*, qui indique ne détecter aucune différence statistiquement significative entre les rendements du maïs DP202216 et son comparateur non GM, la moyenne des rendements du maïs DP202216 est significativement inférieure à la moyenne des rendements du comparateur non GM (*Annex 11*, p. 56, *Table 42*). Les données par site, dans les mêmes conditions (conventionnelles) de traitement indiquent que le rendement du maïs DP202216 est inférieur à celui du maïs non GM dans 75 % (9 sur 12) des cas ; cette différence est significative pour 2 d'entre eux (*Annex 11*, p. 61, *Table 44*). Dans un cas seulement, le rendement du maïs GM en conditions de traitement au glufosinate d'ammonium (ainsi qu'en conditions de traitement conventionnel) est supérieur à celui du comparateur non GM en conditions de traitement conventionnel. Le rendement du maïs DP202216 s'inscrit dans la fourchette des rendements observés pour les 16 variétés commerciales de référence intégrées aux différents essais (*Annex 11*, p. 57, *Table 43*).
4. Considérés ensemble, les points 2 et 3 ci-dessus suggèrent qu'il y aurait une incohérence entre les résultats présentés dans le dossier réglementaire et ceux présentés dans l'article Wu *et al.* (2019).
5. Les jeux de données ne sont toutefois pas directement comparables :
 - les 58 essais de l'article de Wu *et al.* (2019) ont été réalisés sur 24 sites d'Amérique du Nord et du Sud (22 aux États-Unis et 2 au Chili), sur 4 années de culture (2014 à 2017). Chaque résultat d'essai regroupe les données de 6 à 12 hybrides différents – l'événement DP202216 a été introgressé dans 2 lignées élites différentes, et chacune des 2 lignées transgéniques résultant de l'introgression a été croisée à différentes lignées testeurs (l'article ne le précise pas mais selon les chiffres totaux, on pourrait supposer que 12 lignées élites testeurs ont été utilisées), pour un total qui pourrait s'élever à 24 hybrides de fonds génétiques différents testés pour l'événement DP202216 (48 hybrides sont mentionnés en tout pour 2 événements différents testés dans l'article, dont DP202216 ; le nombre total d'hybrides testés pour chaque événement n'est pas précisé). On note toutefois l'opacité de l'article en question (pas de données brutes, pas d'information pour chaque résultat d'essai représenté par un point dans la Figure 2 concernant le site, l'année, les hybrides testés, les rendements par hybride et le rendement moyen exact) ;
 - les essais exploités pour réaliser l'évaluation réglementaire des risques du maïs DP202216 sont au nombre de 12, tous réalisés en 2017 sur un hybride transgénique unique, sur 12 sites contrastés d'Amérique du Nord (11 aux États-Unis, 1 au Canada), supposés être représentatifs des conditions de culture commerciale à venir du maïs DP202216 ;
 - en bref, l'évaluation réglementaire a été faite sur 1 année, 12 essais, chacun réalisé sur un site parmi 12 sites différents d'Amérique du Nord, un hybride unique testé relativement à son comparateur non GM (ainsi que 16 variétés commerciales de référence utilisées pour les tests d'équivalence), tandis que l'évaluation de Wu *et al.* (2019) s'est faite sur 4 années, 58 essais répartis sur 24 sites différents d'Amérique du

Nord et du Sud, 24 hybrides différents, chacun testé relativement à son comparateur non GM unique, chaque essai correspondant à la combinaison (non précisée) d'une année, d'un site, et d'un lot indéterminé de 6 à 12 hybrides testés parmi les 24.

6. Le pétitionnaire dispose-t-il de données permettant d'expliquer les résultats divergents de ces deux études par l'un ou plusieurs des facteurs expérimentaux qui diffèrent entre le dossier et l'article (l'année d'expérimentation, les sites d'expérimentation, le fond génétique des hybrides, ou d'éventuelles autres conditions expérimentales non précisées) ?

Par exemple, le pétitionnaire peut-il exclure que le fond génétique influe sur le phénotype de rendement associé à cette modification génétique, et que le fond génétique de l'hybride unique évalué dans le dossier ne permette pas l'expression de rendement augmenté observé dans 79 % des essais décrits dans Wu *et al.* (2019) (chaque essai regroupant les résultats de 6 à 12 hybrides différents), et que par voie de conséquence, ce fond génétique ne serait pas approprié pour conduire une évaluation des risques pertinente de cet événement en tant qu'événement associé à une augmentation de rendement ?

7. En tout état de cause, l'évaluation des risques a été réalisée dans des conditions où le caractère associé à la modification génétique ne s'exprime pas comme attendu. Il ne s'agit pas d'une simple absence de détection en raison d'un seuil de détection trop élevé par rapport à une amplitude d'augmentation de rendement qui serait trop faible, mais de l'observation d'un effet inverse à celui attendu, à savoir d'une diminution de rendement du maïs GM par rapport au comparateur non GM. S'il s'était agi d'une simple absence de détection de l'effet escompté, il aurait déjà été légitime de s'interroger sur la pertinence, pour l'évaluation des risques, de l'absence de détection de différences sur d'autres traits entre le maïs GM et son comparateur. En situation de phénotype opposé à celui escompté, les caractéristiques agronomiques et phénotypiques observées pour le maïs DP202216 relativement au comparateur ont un intérêt limité pour l'évaluation des risques d'un maïs supposé avoir un rendement supérieur au comparateur.
8. Le CS du HCB a jugé ces essais inappropriés pour réaliser l'évaluation des risques associés à ce maïs. En effet, s'il existait une corrélation entre l'expression du trait modifié et d'autres traits associés à des risques, ceux-ci ne pourraient être observés que lorsque la modification attendue est aussi observée.
9. Dans un souci d'assurer la qualité de l'évaluation des risques associés à une PGM exprimant un caractère donné, on serait tenté de demander à ce que l'analyse comparative de cette plante soit réalisée dans des conditions où le caractère associé à la modification génétique, à savoir ici une augmentation de rendement du maïs DP202216 par rapport au comparateur non GM, s'exprime de manière conforme et détectable. Ainsi, l'évaluation des risques prendrait nécessairement en compte les modifications associées à ce caractère. Il n'est cependant pas question d'écarter les essais où le caractère recherché ne s'exprimerait pas comme attendu.
10. Aussi, pour une évaluation plus rigoureuse, le CS du HCB estime que l'analyse comparative de ce maïs devrait être réalisée dans des conditions représentatives des conditions de production à venir de ce maïs. La question étant de définir correctement ces conditions.
- Le pétitionnaire ainsi que les données publiées dans Wu *et al.* (2019) suggèrent que dans des conditions représentatives de culture, la différence positive de rendement devrait être détectable dans une majorité de cas.
 - Or, les résultats des essais du dossier réglementaire ne répondent pas à ces attentes. Cela signifie soit que les conditions de ces essais (incluant potentiellement le fond génétique de l'hybride utilisé) n'étaient pas représentatives des conditions de culture à venir du maïs DP202216, soit qu'il est abusif de revendiquer que dans des conditions

représentatives de culture, le rendement de ce maïs sera plus élevé que celui de son comparateur non GM, auquel cas ce seraient les conditions de culture de l'article Wu *et al.* (2019) qui ne seraient pas représentatives.

11. Par conséquent, dans l'hypothèse où la revendication de potentiel de rendement supérieur de ce maïs en conditions représentatives de culture serait justifiée, le CS du HCB estime que l'analyse comparative de ce maïs devrait être réalisée dans des conditions qui seraient à la fois représentatives des conditions de production à venir de ce maïs, et dans lesquelles cette différence de rendement attendue serait détectable dans une majorité de cas.

1.3.6. Effects of processing

Conformément au décret n° 2014-992 du 1^{er} septembre 2014 (Article 6), l'évaluation de cette partie du dossier repose sur l'analyse de l'Anses.

1.4. Toxicology

Conformément au décret n°2014-992 du 1^{er} septembre 2014 (Article 6), l'évaluation de cette partie du dossier repose sur l'analyse de l'Anses.

1.5. Allergenicity

Conformément au décret n°2014-992 du 1^{er} septembre 2014 (Article 6), l'évaluation de cette partie du dossier repose sur l'analyse de l'Anses.

1.6. Nutritional assessment

Conformément au décret n°2014-992 du 1^{er} septembre 2014 (Article 6), l'évaluation de cette partie du dossier repose sur l'analyse de l'Anses.

2. Exposure assessment – anticipated intake or extent of use

Conformément au décret n°2014-992 du 1^{er} septembre 2014 (Article 6), l'évaluation de cette partie du dossier repose sur l'analyse de l'Anses.

3. Risk characterisation

Conformément au décret n°2014-992 du 1^{er} septembre 2014 (Article 6), l'évaluation de cette partie du dossier repose sur l'analyse de l'Anses.

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

Conformément au décret n°2014-992 du 1^{er} septembre 2014 (Article 6), l'évaluation de cette partie du dossier repose sur l'analyse de l'Anses.

5. Environmental assessment

5.3. Specific areas of risk

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

La possibilité d'établissement de plantes de maïs DP202216 à partir de semences dispersées accidentellement n'est pas examinée en rapport avec la littérature existante, qui rapporte l'observation de repousses de maïs dans plusieurs pays de l'Union européenne (Czarnak-Kłos and Rodriguez-Cerezo, 2010; Gruber *et al.*, 2008; Palau-delmas *et al.*, 2009), repousses dont la fréquence devrait augmenter du fait du changement climatique. L'Union européenne comprend par ailleurs des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales d'ores et déjà plus propices à la persistance du maïs. Des semences dispersées accidentellement dans les milieux agricoles pourraient donc survivre et s'établir. Ceci pourrait conduire à une dispersion du transgène par flux de gènes vers des maïs cultivés ou vers des populations de téosintes dans les régions où elles sont présentes.

Les affirmations suivantes (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, p. 103) sont en partie inexactes. Elles mériteraient d'être prolongées par un raisonnement concernant les populations de téosintes implantées dans l'Union européenne.

“b) There are no indigenous sexually compatible wild relatives of maize in the EU, therefore no cross-hybridization or introgression is expected.

“(…)

“Cross-hybridisation with wild indigenous relatives cannot occur in the EU due to the lack of wild relatives.”

Ce n'est pas parce que les téosintes ne sont pas indigènes qu'elles ne devraient pas être considérées dans l'évaluation des risques. La présence de populations établies de téosintes en Europe devrait amener le pétitionnaire à considérer de façon plus explicite le risque de dispersion par flux de gènes vers ces populations de plantes sauvages appartenant à la même espèce que le maïs cultivé, même si ce risque ne peut se réaliser que suite à une chaîne d'événements *a priori* peu probables telle que : dispersion accidentelle des semences, établissement de plantes férales à proximité d'une population de téosintes, hybridation produisant des descendants viables. Le transfert du caractère de rendement augmenté chez les téosintes amplifierait le problème agronomique constitué par ces populations.

5.3.2. Plant to micro-organisms gene transfer

Le CS du HCB s'accorde avec le raisonnement et les conclusions du pétitionnaire sur le niveau négligeable de probabilité de transfert horizontal des transgènes du maïs DP202216 à des microorganismes du sol, et, s'il venait à se réaliser, sur le niveau négligeable du risque qui y serait associé. Il signale toutefois les points suivants dans la formulation du problème.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 105 :

“Current scientific knowledge indicates that horizontal gene transfer of non-mobile DNA fragments between unrelated organisms (such as plants to micro-organisms) is extremely unlikely to occur under natural conditions (EFSA, 2015; Keese, 2008). In line with current scientific knowledge on frequency rates, double homologous recombination scenarios are considered the most relevant for the assessment of potential HGT (EFSA, 2009a, 2015; Keese, 2008). Several studies report that with decreasing sequence identity between donor and recipient there is a log-linear decline in the integration of donor DNA by homologous

recombination (EFSA, 2009a; Pontiroli et al., 2007). Non-homologous recombination scenarios are therefore not further considered in this risk assessment.”

Les éléments développés ci-dessus sont exacts mais ne sont pas pertinents ici. La transgénése permet d'intégrer dans le génome de la plante des séquences de bactéries présentant une très forte similarité (sinon totale) avec celles de bactéries indigènes de l'environnement avec lesquelles pourront se réaliser la recombinaison homologue et le transfert de gènes. Cependant, les séquences procaryotes utilisées pour la transformation de plantes sont en général modifiées pour permettre une expression optimale des gènes dans la plante, ce qui diminue le niveau d'homologie de séquence, qui peut devenir non significatif pour ce qui concerne la recombinaison homologue. Par ailleurs, ce n'est pas parce que le transfert n'a pas été détecté dans l'environnement qu'il est improbable, considérant l'incapacité à distinguer entre un gène indigène et un gène transféré en termes de fonction, et la taille infime d'un échantillon par rapport au volume de sol dans un champ.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 107 :

“Soil bacteria could be exposed through the accidental release of viable plant material or through by-products of industrial processes. However these routes of exposure would represent very low levels of exposure to the proteins expressed in DP202216 maize which would be limited temporally and spatially (EFSA, 2010a).”

Ceci est correct à ceci près que c'est l'exposition à l'ADN et non aux protéines qu'il faudrait prendre en compte.

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

Le CS du HCB juge que cette section n'est pas suffisamment développée.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 112 :

“Given the reproductive biology of maize, it is highly unlikely that accidental spillage of viable plant material would result in feral populations in the EU (See Section 1.1). Therefore an assessment of potential direct effects of DP202216 maize on NTO populations is not relevant for this application. However, the assessment considers potential indirect adverse effects on NTO populations due to exposure through faeces of animals fed with DP202216 maize.”

Outre l'exposition via les fèces d'animaux de rente nourris par le maïs DP202216, l'évaluation de l'impact sur les organismes non-cibles devrait également considérer la possibilité d'une consommation directe de grains par d'autres animaux.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 112 :

“The newly expressed proteins are expressed at low levels in grain and PAT is readily degraded by enzymatic activity in the gastro-intestinal tract of animals (See Sections 1.2 and 1.5 of this application). Only minimal amounts of these proteins will be present in animal faeces.”

L'exposition à ZMM28 serait négligeable considérant les très faibles niveaux détectés dans les grains. Ce n'est pas le cas concernant la protéine PAT, présente à des niveaux plus élevés dans les grains.

Un raisonnement basé sur la dégradation de la protéine dans le tractus digestif de pH acide (le tractus intestinal humain) est développé, en accord avec les études de Hérouet *et al.* (2005) et Wehrmann *et al.* (1996). Cependant, il n'y a pas d'informations sur la stabilité de PAT dans des milieux de pH neutre ou alcalins, typiques d'autres systèmes digestifs (bovin, insectes). Le pH chez les bovins varie entre 5,8 et 7 (Enemark *et al.*, 2003) alors que chez de nombreuses espèces

d'insectes le pH varie entre 5,8 et 10 (Engel and Moran, 2013; Koehler *et al.*, 2012). L'innocuité de PAT sur les organismes non-cibles, notamment sur les animaux (autres que les animaux d'élevage) pouvant se nourrir de grains de maïs DP202216, devrait être davantage documentée.

Cette section devrait également considérer la possibilité de résidus de glufosinate dans les grains. Les teneurs résiduelles de glufosinate dans les grains devraient être indiquées et, le cas échéant, les effets éventuels du glufosinate résiduel pour des organismes non-cibles devraient être évalués.

6. Environmental monitoring plan

Le CS du HCB s'accorde avec l'approche de surveillance générale proposée par le pétitionnaire, conforme aux exigences réglementaires de l'Union européenne. Il recommande toutefois au pétitionnaire de se rapprocher des autorités en charge de la biosurveillance dans les États membres, afin d'harmoniser avec elles et sous leur contrôle les mesures de surveillance à mettre en œuvre.

On note que le pétitionnaire a pris en compte la nécessité de mettre en œuvre des mesures appropriées pour éviter ou limiter le risque d'un échappement accidentel, sachant que des traitements mécaniques ou chimiques autres que les herbicides à base de glufosinate d'ammonium devront être utilisés pour y répondre.

Les mesures de surveillance devront être adaptées au contexte spécifique de chaque État membre, prenant notamment en compte les régions où des populations de téosintes ont été signalées.

La période de surveillance proposée par le pétitionnaire couvre la période d'autorisation. Une surveillance plus longue que la durée de l'autorisation d'importation et de la période de transformation industrielle ne s'impose pas si l'ensemble des cargaisons importées ont été transformées à cette échéance et qu'un examen des voiries ait été effectué à la fin de l'autorisation indiquant qu'il n'y a pas eu d'échappement récent. Toutefois, si l'écoulement des lots importés en circulation dans la filière n'était pas achevé à la fin de l'autorisation, il serait nécessaire alors que le suivi soit prolongé au-delà de la durée de l'autorisation.

3. Bibliographie

Baltazar, B.M., Sanchez-Gonzalez, J.D., de la Cruz-Larios, L., and Schoper, J.B. (2005). Pollination between maize and teosinte: an important determinant of gene flow in Mexico. *Theor Appl Genet* 110, 519-526.

Czarnak-Kłós, M., and Rodriguez-Cerezo, E. (2010). Best Practice Documents for coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming. 1. Maize crop production. EUR 24509 EN In JRC scientific and technical reports European Coexistence Bureau, EcoB, ed. (Spain: JRC-IPTS), pp. 72.

Devos, Y., Ortiz-Garcia, S., Hokanson, K.E., and Raybould, A. (2018). Teosinte and maize x teosinte hybrid plants in Europe — Environmental risk assessment and management implications for genetically modified maize. *Agric Ecosyst Environ* 259, 19-27.

EC (2003). Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed. *Official Journal of the European Union* L268, 1-23.

- EFSA (2013). EFSA guidance on the submission of applications for authorisation of genetically modified plants under Regulation (EC) No 1829/2003. *EFSA Journal* 11(12):3491, 21 pp.
- EFSA (2016). Relevance of new scientific evidence on the occurrence of teosinte in maize fields in Spain and France for previous environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations on the cultivation of maize events MON810, Bt11, 1507 and GA21. EFSA supporting publication 2016:EN-1094.
- Ellstrand, N.C., Garner, L.C., Hegde, S., Guadagnuolo, R., and Blancas, L. (2007). Spontaneous hybridization between maize and teosinte. *Journal of Heredity* 98, 183-187.
- Enemark, J.M.D., Peters, G., and Jorgensen, R.J. (2003). Continuous monitoring of rumen pH - A case study with cattle. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine* 50, 62-66.
- Engel, P., and Moran, N.A. (2013). The gut microbiota of insects - diversity in structure and function. *Fems Microbiology Reviews* 37, 699-735.
- EU (2013). Commission Implementing Regulation (EU) No 503/2013 of 3 April 2013 on applications for authorisation of genetically modified food and feed in accordance with Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council and amending Commission Regulations (EC) No 641/2004 and (EC) No 1981/2006. *Official Journal of the European Union L157*, 1-48.
- Gruber, S., Colbach, N., Barbottin, A., and Pekrun, C. (2008). Post-harvest gene escape and approaches for minimizing it. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 3, 17.
- Hérouet, C., Esdaile, D.J., Mallyon, B.A., Debruyne, E., Schulz, A., Currier, T., Hendrickx, D., van der Klis, R.J., and Rouan, D. (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the *pat* and *bar* sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 41, 134-149.
- Koehler, T., Dietrich, C., Scheffrahn, R.H., and Brune, A. (2012). High-resolution analysis of gut environment and bacterial microbiota reveals functional compartmentation of the gut in wood-feeding higher termites (*Nasutitermes* spp.). *Applied and Environmental Microbiology* 78, 4691-4701.
- Martinez, Y., Cirujeda, A., Gomez, M.I., Mari, A.I., and Pardo, G. (2018). Bioeconomic model for optimal control of the invasive weed *Zea mays* subsp. (teosinte) in Spain. *Agricultural Systems* 165, 116-127.
- Palau-delmas, M., Penas, G., Mele, E., Serra, J., Salvia, J., Pla, M., Nadal, A., and Messeguer, J. (2009). Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Res* 18, 583-594.
- Wehrmann, A., VanVliet, A., Opsomer, C., Botterman, J., and Schulz, A. (1996). The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology* 14, 1274-1278.
- Wu, J.R., Lawit, S.J., Weers, B., Sun, J.D., Mongar, N., Van Hemert, J., Melo, R., Meng, X., Rupe, M., Clapp, J., *et al.* (2019). Overexpression of *zmm28* increases maize grain yield in the field. *Proc Natl Acad Sci USA* 116, 23850-23858.

Annexe 1 : Saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Direction générale de
l'alimentation

Service des actions
sanitaires en production
primaire

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

Bureau des semences et
de la protection intégrée
des cultures

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Monsieur Jean-Christophe PAGES
Président du Haut conseil des
biotechnologies par intérim
244, boulevard Saint-Germain
75007 PARIS

- 1 OCT. 2019

Paris, le

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

Références : saisine HCB – dossier 2019-159

Affaire suivie par : Anne Grevet

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

courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

Monsieur le Président,

Dans le cadre du règlement 1829/2003 relatif aux denrées alimentaires et aliments pour animaux génétiquement modifiés, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est confiée à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). Lorsqu'un dossier est considéré comme valide par l'EFSA, le dossier est mis à disposition des États membres qui disposent de 3 mois pour faire des commentaires.

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

- dossier **EFSA-GMO-NL-2019-159**, concernant la mise sur le marché du maïs DP-202216-6 pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Les États membres peuvent transmettre leurs commentaires à l'EFSA jusqu'au 3 janvier 2020.

Dans cette perspective, j'ai l'honneur de vous demander, par la présente saisine, de bien vouloir procéder à une évaluation de ce dossier afin de proposer des commentaires à transmettre à l'EFSA au plus tard **le 20 décembre 2019**.

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

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

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

Anne-Cécile COTILLON

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

Cet avis a été élaboré par le CS du HCB à partir de la discussion de rapports d'expertise et d'un projet d'avis en séance du 21 novembre 2019¹⁰ 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 :

Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, Elie Dassa, Barbara Demeneix (démissionnaire), Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Valérie Le Corre, François Lefèvre, Olivier Lemaire, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Nadia Naffakh, Didier Nègre, Jean-Louis Noyer (démissionnaire), Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Xavier Raynaud, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Tristan Renault, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Bernard Vaissière, Hubert de Verneuil, Jean-Luc Vilotte¹¹.

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

Les membres du CS du HCB remplissent annuellement une déclaration publique d'intérêts. Ils sont également interrogés sur l'existence d'éventuels conflits d'intérêts avant l'examen de chaque dossier. Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec l'élaboration de cet avis.

¹⁰ Membres du CS présents et représentés lors de la discussion du projet d'avis en séance du 21 novembre 2019 : Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Pascal Boireau, Bruno Chauvel, Elie Dassa, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjkowski, Valérie Le Corre, François Lefèvre, Olivier Lemaire, Didier Lereclus (l'après-midi), Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Didier Nègre, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Bernard Vaissière, Hubert de Verneuil, Jean-Luc Vilotte.

¹¹ Composition du CS en vigueur suite au décret de nomination des membres du HCB du 30 décembre 2014, à la loi du 2 décembre 2015, et à l'arrêté du 10 avril 2017 portant nomination des membres du HCB.

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

Cette annexe est une compilation des commentaires du HCB sur le dossier EFSA-GMO-NL-2019-159 traduits en anglais à destination de l'EFSA, prêts à être postés en ligne de manière indépendante par section dans les formulaires du site de l'EFSA.

A3.1. General comments

Preliminary remark

Two assessment bodies are responsible for studying this type of application in France: the High Council for Biotechnology (HCB), which receives a referral from the Ministry of Agriculture and Food (MAA), and the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (Anses), which receives a referral from the Ministry for the Economy and Finance (MEF). Comments on the application's environmental risk assessment are sent by HCB through MAA, and comments on its health risk assessment are sent by Anses through MEF. The two sets of comments are complementary.

Main comments

1. Regarding the molecular characterisation

The HCB Scientific Committee was concerned about the absence of certain key data from the application.

In particular, the application refers to a paper submitted to PNAS (Wu *et al.*, 2019) and supposed to contain a number of data not appearing in the application. The HCB Scientific Committee is surprised that this regulatory application was declared valid in the absence of the data contained in an unpublished paper and not included in the application. It also believes that all the raw data should appear in the application quite apart from the applicant's papers. Lastly, the HCB Scientific Committee finds it surprising that this paper, with an amended title, seems to have been published during assessment of the application by Member States without the applicant having drawn attention to this fact.

To complete the data still lacking after consideration of the published paper by Wu *et al.* (2019), the HCB Scientific Committee requests the applicant to supply the sequencing data for the insertion site in the recipient variety, together with data on expression levels of the ZMM28 protein at the V2 stage.

2. Regarding the comparative analysis

Scrutiny of the comparative analysis of the agronomic and phenotypic characteristics of DP202216 maize has led the HCB Scientific Committee to question the validity of the risk assessment in the application.

The applicant claims an increased yield potential for DP202216 maize. This phenotype is reported to have been recorded in the majority of the trials studied in the paper by Wu *et al.* (2019). This is not generally recorded in the analysis of the trials for this application; on the contrary, the mean DP202216 maize yield was significantly lower than the mean yield for the non-GM comparator. The HCB Scientific Committee considered these trials to be inappropriate for assessment of the risks associated with this maize.

If the claim of increased yield potential for this maize in representative growing conditions is justified, the HCB Scientific Committee believes that the comparative analysis for this maize and the ensuing risk assessment should be carried out in conditions that are representative of future growing conditions and in which the expected yield difference is also detectable in a majority of cases.

3. Regarding the environmental risk assessment

The application is confined to import into temperate regions of the European Union. Yet the European Union also includes outermost regions situated in tropical zones more conducive to persistence of maize. This is the case for some French overseas departments and regions.¹ The HCB Scientific Committee wishes the specific environmental characteristics of these regions to be taken into consideration in safety assessments and monitoring plans for applications for placing on the market of seed from genetically modified plants in the European Union. One alternative would be to exclude these particular regions from the marketing area.

The application does not take sufficient account of the presence in the European Union of populations of teosinte compatible with cultivated maize and the risk associated with potential gene transfer from DP202216 maize to teosinte plants.

The HCB Scientific Committee considers the section dealing with non-target organisms to be insufficiently elaborated: assessment of exposure should be extended to animals other than farm animals, that might consume DP202216 maize grain; the safety assessment for PAT ought to consider gastric acidity conditions representative of a wider range of animals; potential glufosinate residues in grain should also be considered.

4. Regarding the post-market monitoring plans

The HCB Scientific Committee agrees with the applicant's approach to general surveillance, which meets EU regulatory requirements. It nevertheless advises the applicant to contact the authorities in charge of biomonitoring in Member States to agree a standard approach, under their supervision, to the monitoring measures required. These measures must be adapted to the specific context in each Member State, taking particular account of areas where teosinte populations have been reported. Lastly, the HCB Scientific Committee recommends that general surveillance be continued for as long as necessary to take account of any volunteers connected with disposal of stocks of grain still in the supply chain by the end of the consent period for placing on the market of DP202216 maize.

Additional comment

Some members of the HCB Scientific Committee raised the ethical issue of authorising import into the European Union of a commodity whose production in the exporting countries will entail operators' exposure to a plant protection product (containing glufosinate-ammonium) that has been withdrawn from the French market on health grounds.

Wu, J.R., Lawit, S.J., Weers, B., Sun, J.D., Mongar, N., Van Hemert, J., Melo, R., Meng, X., Rupe, M., Clapp, J., *et al.* (2019). Overexpression of *zmm28* increases maize grain yield in the field. *Proc Natl Acad Sci USA* *116*, 23850-23858.

¹ The outermost regions (OMRs) are the areas of the European Union situated outside the continent of Europe. EU decisions apply there. The French OMRs comprise all the overseas departments and regions (French Guiana, Guadeloupe, Martinique, Mayotte and Réunion) and the overseas collectivity of Saint Martin

A3.2. Comments per section

1. Hazard identification and characterisation

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

E. Additional information relating to the recipient or parental plants required for the environmental safety aspects

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

The application does not clearly take into account the presence of teosinte plants in Europe and the agronomic problem that they represent.

Populations of teosinte plants, which are wild subspecies of *Zea mays* sexually compatible with cultivated maize, have recently been reported in Europe (Devos *et al.*, 2018; EFSA, 2016). These populations are present in two regions: the north-east of Spain (Aragon and Catalonia) and the west of France (Poitou-Charentes), where they are maize crop weeds. The existence of gene flow between teosinte and cultivated maize has been established in the literature, but the incidence is said to be low (Baltazar *et al.*, 2005; Ellstrand *et al.*, 2007).

The paper by Devos *et al.* (2018) and the 2016 EFSA publication on teosinte in Europe are indeed cited but to a very limited extent (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, pp. 12-13):

'As indicated by the EFSA GMO Panel, "Outside its centres of origin, teosinte is not indigenous, but has become naturalised/established in some countries. In these situations, teosinte does not represent an environmental entity of concern that requires protection. Instead, it is occasionally cultivated for its forage potential, or considered a weed that can compete with cultivated maize in agricultural fields, thereby reducing yield and compromising harvest quality. In infested agricultural fields, teosinte is subject to control and/or eradication measures" (Devos et al., 2018; EFSA, 2016a).'

Yet a recent study stresses that the difficulty of controlling teosinte weed populations could be a major agronomic problem in Aragon and Catalonia (Martinez *et al.*, 2018).

Baltazar, B.M., Sanchez-Gonzalez, J.D., de la Cruz-Larios, L., and Schoper, J.B. (2005). Pollination between maize and teosinte: an important determinant of gene flow in Mexico. *Theor Appl Genet* 110, 519-526.

Devos, Y., Ortiz-Garcia, S., Hokanson, K.E., and Raybould, A. (2018). Teosinte and maize x teosinte hybrid plants in Europe — Environmental risk assessment and management implications for genetically modified maize. *Agric Ecosyst Environ* 259, 19-27.

EFSA (2016). Relevance of new scientific evidence on the occurrence of teosinte in maize fields in Spain and France for previous environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations on the cultivation of maize events MON810, Bt11, 1507 and GA21. EFSA supporting publication 2016:EN-1094.

Ellstrand, N.C., Garner, L.C., Hegde, S., Guadagnuolo, R., and Blancas, L. (2007). Spontaneous hybridization between maize and teosinte. *Journal of Heredity* 98, 183-187.

Martinez, Y., Cirujeda, A., Gomez, M.I., Mari, A.I., and Pardo, G. (2018). Bioeconomic model for optimal control of the invasive weed *Zea mays* subspp. (teosinte) in Spain. *Agricultural Systems* 165, 116-127.

1.2. Molecular Characterisation

1.2.1. Information relating to the genetic modification

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

It is stated that further details of the mode of action of the ZMM28 protein are given in a paper by 'Wu *et al.* (2019)' (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, Figure 3, p. 20):

'Further details on the mode-of-action of ZMM28 can be found in section 1.5 and in the Wu et al. (2019) scientific paper.'

The 'References' section of Main text DP202216 includes the following reference (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, p. 132):

'Wu J, Lawit SJ, Weers B, Sun J, Mongar N, Van Hemert J, Melo R, Meng X, Rupe M, Clapp J, Haug Collet K, Trecker L, Roesler K, Thomas J, Hunt J, Zhou W, Hou Z, Wimmer M, Jantes J, Mo H, Liu L, Wang Y, Walker C, Danilevskaya O, Lafitte R, Schussler JR, Shen B and Habben JE, 2019. Transgenic zmm28 Maize Creates a Significant Improvement in Broadacre Grain Yield. submitted to PNAS.'

Since the reference is marked 'submitted to PNAS', it is hardly surprising not to find the corresponding paper in the file with all the papers cited (*Part II Scientific info CI, References CopyRight*). On the other hand, it is not acceptable that the application should refer to an unavailable paper as the only source of information for several aspects of the application. The HCB Scientific Committee is surprised that this regulatory application was declared valid in the absence of the data contained in this unpublished paper.

In the meantime the HCB Scientific Committee has taken note of the following paper, published in PNAS on 4 November 2019:

Wu J, Lawit SJ, Weers B, Sun J, Mongar N, Van Hemert J, Melo R, Meng X, Rupe M, Clapp J, Haug Collet K, Trecker L, Roesler K, Thomas J, Hunt J, Zhou W, Hou Z, Wimmer M, Jantes J, Mo H, Liu L, Wang Y, Walker C, Danilevskaya O, Lafitte R, Schussler JR, Shen B, and Habben JE (2019). Overexpression of *zmm28* increases maize grain yield in the field. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1902593116.

Could the applicant clarify whether this paper has replaced the above-mentioned paper, cited in the application as 'Wu *et al.* (2019), submitted to PNAS'?

The HCB Scientific Committee also believes that all the raw data should appear in the application quite apart from the applicant's papers.

1.2.2. Information relating to the genetically modified plant

1.2.2.2. Information on the sequences actually inserted/deleted

3. Size and function of any deleted region(s)

The applicant's conclusions concerning a 6 bp deletion after insertion of the T-DNA in the genome of the PH17AW maize variety are based on a comparison with the sequence of the B73 maize variety produced in the data for the maize public genome assembly (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, p. 34):

'The bioinformatic analysis of the DP202216 insertion flanking borders (Annex 6) using the maize (B73) Public Genome Assembly revealed, that there is a very high likelihood that the DP202216 maize insert is located on chromosome 1 and that 6 bp (representing

positions 27324148 bp – 27324153 bp in chromosome 1 of the B73 maize genome) are deleted during the integration process.'

The pre-insertion locus does not seem to have been sequenced in the maize variety used for the genetic transformation. Could the applicant supply the sequencing data for the insertion locus in the PH17AW maize variety to determine any reorganisations or deletions at this locus in the DP202216 maize more precisely?

1.2.2.3. Information on the expression of the insert(s)

This section refers to Annex 8 (*Part II Scientific info CI, Annexes CI, Annex 8 PHI-2017-005011 expression*) concerning expression data for the ZMM28 protein. It is noted that this annex does not contain all the data for the assays performed, in particular those for the earliest growth stages (Annex 8 reports protein assay data for V6, V9, R1, R4 and R6, summarised in Table 4 of the main text). Yet the applicant states that the ZMM28 protein is present from the V2 stage in DP202216 maize, without supplying the corresponding data (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, p. 38):

'DP202216 maize contains a gene cassette with a constitutive maize promoter (zm-gos2), which drives expression of the maize gene (zmm28) and initiates expression of the ZMM28 protein at an earlier growth stage in leaf (V2), and expresses the protein for a more extended period of time in grain (including the R6 growth stage) (Wu et al., 2019).'

The HCB Scientific Committee notes that the expression analysis for the *zmm28* gene in the paper by Wu *et al.* (2019) published in November 2019 in PNAS (and not the paper cited in the application's references) shows the differential for *zmm28* gene expression between DP202216 maize and the control maize at the V2 to R5 stages (Fig. 1.C-D, Fig. S1. A-B). The paper also provides data for protein concentrations at the V4 stage (in addition to the V6, V9, R1, R4 and R6 stages supplied in the application). By contrast, data for protein concentrations at the V2 stage do not appear in any document. Could the applicant supply data for ZMM28 protein expression at the V2 stage?

1.3. Comparative Analysis

1.3.5. Comparative analysis of agronomic and phenotypic characteristics

Scrutiny of the comparative analysis of the agronomic and phenotypic characteristics of DP202216 maize has led the HCB Scientific Committee to question the validity of the risk assessment in the application.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 61:

'DP202216 maize contains a trait which results in plants with enhanced grain yield potential across a wide range of genotypes and environments.'

The yield data collected in the application (see below) do not support this claim. Even though this regulatory application is not required to provide evidence of this, it is surprising that the data generated for the risk assessment are not consistent with the yield phenotype claimed by the applicant. The questions that are more specific to risk assessment are treated at greater length below.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 61 (ctd):

'The 2017 regulatory science agronomic characteristic study described in Annex 11 did not reveal a statistical difference in yield in comparison with the non-GM near-isoline control maize.'

This is incorrect: the data show a statistically significant difference between the mean yields for DP202216 maize and the mean yields for the non-GM comparator recorded at the various test sites in the application (Annex 11, p. 56, Table 42). Moreover, contrary to what might have been expected considering that the genetic modification is supposed to increase DP202216 maize yield, this difference indicates a lower yield for DP202216 maize than for the non-GM comparator (Annex 11, p. 56, Table 42).

As for the risk assessment, this difference was not studied in greater detail, and rightly so, since the DP202216 maize yield was within the yield range recorded for the commercial reference varieties included in the various trials. This phenotype nevertheless raises the question of the relevance of these trials to risk assessment for this GM plant (see below).

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, pp. 61-62:

'This agronomic regulatory study was statistically designed to evaluate and assess the safety of the DP202216 maize event across a representative and diverse set of environments for a single genotype in a single year.'

This was the choice of the applicant, who was not in any way obliged to limit these trials to one year. Since the conditions were seemingly sufficiently diverse and representative of future commercial crop sites, the limitation to one year is deemed acceptable. However, the yield results should have been a warning to the applicant concerning the relevance of these trials for the risk assessment for this GM plant (see below).

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 62 (ctd):

'The commercial evaluation of the maize event(s) is designed to detect small but economically valuable yield difference. Although the yield effects are consistent on average, as one would expect, within these large data sets there are instances where the trait does not demonstrate a statistically significant grain yield improvement for individual environments or genotypes.'

This comment makes no sense for the data in the regulatory application. It seems to apply to the data published in the Wu *et al.* paper in November 2019, in which the DP202216 maize yield was higher than that of the non-GM comparator in 79% of the 58 trials considered. It is noted that according to Figure 2 of this paper, this yield increase is statistically significant for approximately a third of the sites.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 62 (ctd):

'Thus, the lack of statistically significant yield improvement in the 2017 regulatory science agronomic characteristic study is consistent with the development data.'

The preceding paragraphs fail to justify such a conclusion. There is seemingly a lack of consistency between the regulatory application and the data reported in the paper by Wu *et al.* (2019).

Thus:

1. The applicant claims an increased yield potential for DP202216 maize.
2. This phenotype is reported to have been found in 79% of the field trials (46 out of 58) studied in the paper by Wu *et al.* (2019), in both high-yielding and low-yielding conditions. This difference was significant in 20 trials. The converse difference was significant in 2 out of 12 trials.
3. The increased yield phenotype is not generally found in the analysis of the trials for the regulatory application. Despite what is stated by the applicant in the main text, which indicates that no statistically significant differences were detected between the yield of DP202216 maize and that of its non-GM comparator, the mean DP202216 maize yield was significantly lower than the mean yield for the non-GM comparator (Annex 11, p. 56, Table 42). The per-site data for the same (conventional herbicide) treatment conditions show that the DP202216 maize yield was lower than non-GM maize yield in 75% of cases (9 out of 12); this difference was significant in two of them (Annex 11, p. 61, Table 44). In only one case was the yield of GM maize with glufosinate-ammonium treatment (as well as conventional herbicide treatment) higher than that of the non-GM comparator with conventional herbicide treatment. Yield from the DP202216 maize was within the yield range recorded for the 16 commercial reference varieties across sites (Annex 11, p. 57, Table 43).
4. Taken together, Points 2 and 3 above suggest that there is a lack of consistency between the results presented in the regulatory application and those presented in the paper by Wu *et al.* (2019).
5. However, the data sets are not directly comparable:
 - The 58 trials in Wu *et al.* (2019) were conducted on 24 sites in North and South America (22 in the United States and 2 in Chile) over 4 crop years (2014 to 2017). Each data point represents the difference in yield of DP202216 maize to its non-GM comparator across 6 to 12 hybrids – the DP202216 event was introgressed into 2 different elite lines, and each of the 2 transgenic lines ensuing was crossed with different test lines (the paper does not specify, but, taking the totals, it might be assumed that 12 elite test lines were used), to give a putative total of 24 hybrids from different genetic backgrounds being tested for event DP202216 (48 hybrids in all are mentioned for the 2 different events tested in the paper, one of which is DP202216; the total number of hybrids tested for each event is not specified). Attention is nevertheless drawn to the lack of clarity in this paper (no raw data, no information for the individual trial results represented by points in Figure 2 concerning site, year, hybrids tested, yields per hybrid and exact mean yield);
 - Twelve trials were used for the regulatory risk assessment for DP202216 maize, all conducted in 2017 on a single transgenic hybrid on 12 diverse sites in North America (11 in the United States and 1 in Canada) that were supposed to be representative of future commercial growing conditions for DP202216 maize;
 - In short, the regulatory assessment was conducted over 1 year and 12 trials, each on one of 12 different sites in North America, with a single hybrid being tested against its non-GM comparator (as well as the 16 commercial reference varieties used for the equivalence tests), while the assessment by Wu *et al.* (2019) was conducted over 4 years and 58 trials spread over 24 different sites in North and South America, with 24 different hybrids, each tested against its own non-GM comparator, and each test representing the (unspecified) combination of a year, a site and an undefined lot of 6 to 12 hybrids tested out of the 24.

6. Does the applicant have data explaining the divergent results of these two studies by one or more experimental factors differing between the application and the paper (trial year, trial sites, genetic background of hybrids, or any other unspecified experimental conditions)?

For example, can the applicant rule out the possibility that the genetic background has influenced the yield phenotype associated with this genetic modification and that the genetic background of the only hybrid assessed in the application did not allow expression of the increased yield recorded in 79% of the trials described in Wu *et al.* (2019) (each trial comprising the results of 6 to 12 different hybrids) and that, consequently, this genetic background is not appropriate for conducting a relevant risk assessment for this event as an event associated with a yield increase?

7. However that may be, the risk assessment was conducted in conditions in which the trait associated with the genetic modification was not expressed as expected. This was not a simple failure of detection because of a detection threshold that was too high in relation to a yield increase range that was too small but the observation of an effect that was the opposite of what was expected: a reduced yield for the GM maize in comparison with the non-GM comparator. If this had just been a failure to detect an expected effect, it would in any case have been legitimate to ask whether a failure to detect other trait differences between the GM maize and its comparator might be relevant to the risk assessment. If the phenotype is the opposite of that expected, the agronomic and phenotypic characteristics recorded for DP202216 maize in relation to the comparator are of limited value for risk assessment of a maize that is supposed to have a higher yield than the comparator.
8. The HCB Scientific Committee considered these trials to be inappropriate for assessment of the risks associated with this maize because if there was a correlation between expression of the modified trait and of other traits associated with risks, the latter could be observed only if the expected modification was also observed.
9. In the interests of ensuring the quality of risk assessment for a GM plant expressing a given trait, we would be inclined to ask that the comparative analysis for this plant should be carried out in conditions in which the trait associated with the genetic modification, in this case increased yield of DP202216 maize in relation to its non-GM comparator, is expressed consistently and detectably. The risk assessment would then necessarily take account of changes associated with this trait. However, there is no question of excluding trials in which the desired trait might not be expressed as expected.
10. Thus, to ensure a rigorous assessment, the HCB Scientific Committee believes that the comparative analysis for this maize ought to be carried out in conditions representative of its future growing conditions, the question being to determine these conditions accurately.
 - The applicant and the data published in Wu *et al.* (2019) suggest that in representative growing conditions the positive yield difference ought to be detectable in a majority of cases.
 - Yet the results of the regulatory application trials do not fulfil these expectations. This means either that the trial conditions (possibly including the genetic background of the hybrid used) were not representative of future growing conditions for DP202216 maize or that it is unwarranted to claim that in representative growing conditions the yield from this maize will be higher than that from its non-GM comparator, in which case the growing conditions in Wu *et al.* (2019) would not be representative.
11. Consequently, if the claim of increased yield potential for this maize in representative growing conditions is justified, the HCB Scientific Committee believes that the comparative analysis for this maize should be carried out in conditions that are representative of future

growing conditions and in which the expected yield difference is detectable in a majority of cases.

Wu, J.R., Lawit, S.J., Weers, B., Sun, J.D., Mongar, N., Van Hemert, J., Melo, R., Meng, X., Rupe, M., Clapp, J., *et al.* (2019). Overexpression of *zmm28* increases maize grain yield in the field. *Proc Natl Acad Sci USA* *116*, 23850-23858.

1.3.6. Effects of processing

As required by Decree 2014-992 of 1 September 2014 (Article 6), assessment of this section of the application is the responsibility of Anses.

1.4. Toxicology

As required by Decree 2014-992 of 1 September 2014 (Article 6), assessment of this section of the application is the responsibility of Anses.

1.5. Allergenicity

As required by Decree 2014-992 of 1 September 2014 (Article 6), assessment of this section of the application is the responsibility of Anses.

1.6. Nutritional assessment

As required by Decree 2014-992 of 1 September 2014 (Article 6), assessment of this section of the application is the responsibility of Anses.

2. Exposure assessment – anticipated intake or extent of use

As required by Decree 2014-992 of 1 September 2014 (Article 6), assessment of this section of the application is the responsibility of Anses.

3. Risk characterisation

As required by Decree 2014-992 of 1 September 2014 (Article 6), assessment of this section of the application is the responsibility of Anses.

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

As required by Decree 2014-992 of 1 September 2014 (Article 6), assessment of this section of the application is the responsibility of Anses.

5. Environmental assessment

5.3. Specific areas of risk

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

The possibility of DP202216 maize plants becoming established from escaped seed has not been considered with respect to the existing literature, which reports observation of maize volunteers

in several countries of the European Union (Czarnak-Kłos and Rodriguez-Cerezo, 2010; Gruber *et al.*, 2008; Palauelmas *et al.*, 2009), the frequency of these volunteers being set to increase with climate change. The European Union also includes outermost regions situated in tropical zones already more conducive to persistence of maize. Seed accidentally released in agricultural environments could therefore survive and become established. This could lead to transgene dispersal through gene flow to cultivated maize or to teosinte populations in areas where they are present.

The following statements (*Part II Scientific info CI, Main text DP202216*, p. 103) are in part incorrect. They ought to be extended with an argument concerning teosinte populations established in the European Union.

'b) There are no indigenous sexually compatible wild relatives of maize in the EU, therefore no cross-hybridization or introgression is expected.

'[...]

'Cross-hybridisation with wild indigenous relatives cannot occur in the EU due to the lack of wild relatives.'

Just because teosinte plants are not indigenous does not mean that they should not be considered in the risk assessment. The presence of established teosinte populations in Europe ought to prompt the applicant to consider more clearly the risk of dispersal by gene flow to these populations of wild plants belonging to the same species as cultivated maize, even if this risk can occur only following a seemingly unlikely chain of events, such as: seed escape, establishment of feral plants close to a teosinte population, and hybridisation producing viable offspring. Transfer of the increased yield trait to teosinte plants would exacerbate the agronomic problem created by these populations.

Czarnak-Kłos, M., and Rodriguez-Cerezo, E. (2010). Best Practice Documents for coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming. 1. Maize crop production. EUR 24509 EN In JRC scientific and technical reports European Coexistence Bureau, EcoB, ed. (Spain: JRC-IPTS), pp. 72.

Gruber, S., Colbach, N., Barbottin, A., and Pekrun, C. (2008). Post-harvest gene escape and approaches for minimizing it. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 3, 17.

Palauelmas, M., Penas, G., Mele, E., Serra, J., Salvia, J., Pla, M., Nadal, A., and Messeguer, J. (2009). Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Res* 18, 583-594.

5.3.2. Plant to micro-organisms gene transfer

The HCB Scientific Committee agrees with the applicant's arguments and conclusions as to the negligible likelihood of horizontal gene transfer from DP202216 maize to soil micro-organisms, and, if such transfer did occur, the negligible risk ensuing. It nevertheless draws attention to the following points in the problem formulation.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 105:

'Current scientific knowledge indicates that horizontal gene transfer of non-mobile DNA fragments between unrelated organisms (such as plants to micro-organisms) is extremely unlikely to occur under natural conditions (EFSA, 2015; Keese, 2008). In line with current scientific knowledge on frequency rates, double homologous recombination scenarios are considered the most relevant for the assessment of potential HGT (EFSA, 2009a, 2015; Keese, 2008). Several studies report that with decreasing sequence identity between donor and

recipient there is a log-linear decline in the integration of donor DNA by homologous recombination (EFSA, 2009a; Pontiroli et al., 2007). Non-homologous recombination scenarios are therefore not further considered in this risk assessment.'

The above points are correct but not relevant here. Transgenesis makes it possible to insert in a plant's genome bacteria sequences showing substantial (if not complete) similarity with indigenous environmental bacteria sequences with which homologous recombination and gene transfer can take place. However, the prokaryotic sequences used for plant transformation are usually modified to allow optimal expression of the genes in the plant, thus reducing the degree of sequence homology, which can become insignificant for homologous recombination. Moreover, just because a transfer has not been detected in the environment does not mean that it is unlikely, considering that it is not possible to distinguish between an indigenous gene and a transferred gene in terms of function and given the minuscule size of a sample in relation to the volume of soil in a field.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 107:

'Soil bacteria could be exposed through the accidental release of viable plant material or through by-products of industrial processes. However these routes of exposure would represent very low levels of exposure to the proteins expressed in DP202216 maize which would be limited temporally and spatially (EFSA, 2010a).'

This is correct apart from the fact that it is exposure to DNA rather than to proteins that should be taken into account.

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

The HCB Scientific Committee considers this section to be insufficiently elaborated.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 112:

'Given the reproductive biology of maize, it is highly unlikely that accidental spillage of viable plant material would result in feral populations in the EU (See Section 1.1). Therefore an assessment of potential direct effects of DP202216 maize on NTO populations is not relevant for this application. However, the assessment considers potential indirect adverse effects on NTO populations due to exposure through faeces of animals fed with DP202216 maize.'

In addition to exposure through faeces of food-producing animals fed with DP202216 maize, the impact assessment for non-target organisms should also consider the possibility of direct consumption of grain by other animals.

Part II Scientific info CI, Main text DP202216, p. 112:

'The newly expressed proteins are expressed at low levels in grain and PAT is readily degraded by enzymatic activity in the gastro-intestinal tract of animals (See Sections 1.2 and 1.5 of this application). Only minimal amounts of these proteins will be present in animal faeces.'

Exposure to ZMM28 would be negligible considering the very low levels detected in grain. This is not the case for the PAT protein, which is present at higher levels in grain.

The argument put forward is based on degradation of the protein in a low-pH (acidic) gastrointestinal tract (the human intestinal tract), consonant with the studies by Hérouet *et al.* (2005) and Wehrmann *et al.* (1996). However, there is no information on the stability of PAT in a pH-neutral or high-pH (alkaline) environment such as that found in other digestive systems (bovine, insect). The pH for bovines varies between 5.8 and 7 (Enemark *et al.*, 2003), while for many insect species pH varies between 5.8 and 10 (Engel and Moran, 2013; Koehler *et al.*, 2012).

The safety of the PAT protein for non-target organisms, including animals (other than farm animals) that could eat DP202216 maize grain, ought to be further documented.

This section should also consider potential glufosinate residues in grain. Residual glufosinate concentrations in grain ought to be indicated, and, where appropriate, any effects of residual glufosinate on non-target organisms should be assessed.

Enemark, J.M.D., Peters, G., and Jorgensen, R.J. (2003). Continuous monitoring of rumen pH - A case study with cattle. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine* 50, 62-66.

Engel, P., and Moran, N.A. (2013). The gut microbiota of insects - diversity in structure and function. *Fems Microbiology Reviews* 37, 699-735.

Hérouet, C., Esdaile, D.J., Mallyon, B.A., Debruyne, E., Schulz, A., Currier, T., Hendrickx, D., van der Klis, R.J., and Rouan, D. (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the *pat* and *bar* sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 41, 134-149.

Koehler, T., Dietrich, C., Scheffrahn, R.H., and Brune, A. (2012). High-resolution analysis of gut environment and bacterial microbiota reveals functional compartmentation of the gut in wood-feeding higher termites (*Nasutitermes* spp.). *Applied and Environmental Microbiology* 78, 4691-4701.

Wehrmann, A., VanVliet, A., Opsomer, C., Botterman, J., and Schulz, A. (1996). The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology* 14, 1274-1278.

6. Environmental monitoring plan

The HCB Scientific Committee agrees with the applicant's approach to general surveillance, which meets EU regulatory requirements. It nevertheless advises the applicant to contact the authorities in charge of biomonitoring in Member States to agree a standard approach, under their supervision, to the monitoring measures required.

It is noted that the applicant has taken account of the need to take appropriate steps to prevent or limit accidental release, bearing in mind that mechanical treatment or chemical treatment other than with herbicides containing glufosinate-ammonium must be used in that event.

Monitoring measures must be adapted to the specific context in each Member State, taking particular account of areas where teosinte populations have been reported.

The applicant's proposed monitoring period covers the consent period. Surveillance beyond the duration of the consent period for import and industrial processing is not required if all shipments imported have been processed by this time and if the road monitoring carried out at the end of the consent period shows that there has been no recent release. However, if any imported consignments were still in the supply chain by the end of the consent period, it would then be necessary to extend monitoring beyond the duration of this period.