

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 19 février 2024

## **AVIS**

### **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail**

**relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du  
Règlement (CE) n° 1829/2003, du maïs génétiquement modifié MON94804  
développé pour avoir une teneur réduite en acide gibbérélique afin de limiter la  
hauteur des plants de maïs, pour l'importation, la transformation ainsi que  
l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM  
(dossier n° GMFF-2022-10651)**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses a été saisie le 4 mai 2023 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) pour la réalisation de l'expertise suivante : « Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du maïs génétiquement modifié MON94804 développé pour avoir une teneur réduite en acide gibbérélique afin de limiter la hauteur des plants de maïs, pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° GMFF-2022-10651) ».

## 1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Conformément au Règlement (CE) n° 1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments – *European Food Safety Authority* (EFSA) – est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés et de rendre un avis à la Commission européenne. L'EFSA permet cependant aux États membres de faire connaître leurs observations sur les dossiers initiaux. Dans ce cadre, la DGAI a sollicité l'Anses pour participer à cette consultation par l'EFSA dans un délai de 90 jours et pour émettre un avis sur ce dossier initial, vis-à-vis des exigences de la réglementation applicable sur ce dossier.

Le règlement d'exécution (UE) n°503/2013 s'applique pour ce dossier.

## 2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie », réuni les 11 mai, 7 juin, 12 juillet et 23 novembre 2023 sur la base de rapports initiaux rédigés par six rapporteurs. Elle a été conduite en se basant sur les documents guides de l'EFSA et du panel GMO de l'EFSA ainsi que sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT « Biotechnologie ». Les commentaires du GT sur le dossier initial ont été validés en séance du 12 juillet 2023 et transmis à la DGAI le 25 juillet 2023 (annexe) afin de permettre aux autorités françaises de participer à la consultation des États membres organisée par l'EFSA.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT

Les sections telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA sont utilisées ci-dessous.

### A. Informations générales

Le maïs est une culture des zones tempérées à tropicales. En 2021, les dix premiers pays producteurs étaient les États-Unis, la Chine, le Brésil, l'Argentine, l'Ukraine, l'Inde, le Mexique, l'Indonésie, l'Afrique du Sud et la France, qui représentaient environ 80% de la production mondiale (FAOStat<sup>1</sup>). Cette production était de 1 210 235 135 tonnes pour une surface cultivée de 205 870 016 hectares (dont 72 987 920 tonnes pour une surface cultivée de

<sup>1</sup> <http://www.fao.org/faostat/en/#home>

9 247 050 hectares dans l'Union européenne). En 2019, 31% du maïs cultivé était génétiquement modifié (ISAAA<sup>2</sup>, 2019).

Les plantes de maïs sont récoltées entières avant la maturité complète des grains pour produire du fourrage ou de l'ensilage destiné à l'alimentation animale, ou bien à maturité pour une utilisation des grains mûrs en alimentation animale ou humaine. Le maïs est également utilisé pour la production de biocarburants, de biogaz ou de bioplastique. Il est pauvre en protéines et la teneur des grains en deux acides aminés essentiels, la lysine et le tryptophane, est faible. Le grain contient également des substances anti-nutritionnelles (acide phytique, DIMBOA<sup>3</sup>, inhibiteurs de trypsine et de chymotrypsine, raffinose).

Le maïs MON94804 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome, la cassette d'expression portant la séquence *GAox20\_SUP* codant le micro-ARN GA20ox\_SUP (miRNA GA20ox\_SUP). Ce dernier cible les ARNm endogènes GA20ox3 et GA29ox5 de la plante (ARNm codant des oxydases de la biosynthèse des gibbérellines), entraînant alors une diminution de l'expression de ces enzymes (*down-regulation*). Cette modification génétique vise ainsi à diminuer le niveau d'acides gibbérelliques/gibbérellines dans la tige du maïs, dans le but de réduire la longueur des entre-nœuds et, par conséquent, la hauteur de la plante.

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs MON94804. Il ne concerne pas sa mise en culture.

Si le maïs MON94804 venait à être importé, comme toutes les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et les aliments destinés à l'alimentation animale dans l'Union européenne (UE), ce maïs et ses produits dérivés seraient, entre autres, soumis à une limite maximale pour les résidus (LMR) de produits phytopharmaceutiques afin de protéger la santé animale et humaine (Règlement (CE) n° 396/2005).

## B. Informations scientifiques

### B.1. Identification et caractérisation des dangers

#### B.1.1. Informations concernant les plantes réceptrices ou (le cas échéant) parentales

La modification génétique a été réalisée sur la variété de maïs (*Zea mays*) non transgénique HCL301.

Le pétitionnaire mentionne que le flux de gènes par l'intermédiaire du pollen, c'est-à-dire la pollinisation croisée, n'est possible qu'à faible distance, considérant qu'il est le plus important dans les premiers mètres puis décroît rapidement avec la distance.

Le GT « Biotechnologie » note néanmoins que certaines études ont montré la possibilité de flux de gènes par le pollen à longue distance, en particulier selon la direction des vents dominants et lorsque la surface du champ de maïs d'origine est importante (Lu et al., 2019).

<sup>2</sup> International service for the acquisition of agri-biotech applications

<sup>3</sup> 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one

La distance maximale rapportée dans la littérature pour le flux de gènes entre parcelles de maïs est de 4,45 km (Hofmann et al., 2014).

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire prenne en compte la littérature scientifique disponible concernant les conditions d'occurrence de flux de gènes par l'intermédiaire du pollen à longue distance chez le maïs.**

La téosinte (*Zea mays ssp mexicana*) est une espèce végétale considérée comme adventice, sexuellement compatible avec le maïs, présente en Europe (Espagne, France). Le pétitionnaire mentionne sa présence en Europe au niveau des parcelles agricoles, en citant la problématique de gestion qu'elle génère en tant que plantes adventices, mais estime toutefois que sa localisation limitée ne permet pas de la considérer comme un parent sauvage indigène du maïs. Il indique également que les hybrides entre la téosinte et le maïs cultivé ont un phénotype intermédiaire, ce qui réduirait substantiellement le risque d'établissement de populations de plantes adventices avec un stock semencier. Par conséquent, il considère l'introgression de gènes de maïs dans la téosinte comme improbable.

Le GT « Biotechnologie » relève que la littérature citée par le pétitionnaire est incomplète. Des populations de téosintes considérées comme adventices sont observées dans les parcelles de maïs en France et en Espagne, où elles se maintiennent depuis plusieurs années (plus de 30 ans en France) (Trtikova et al., 2017 ; Diaz et al., 2019 ; Le Corre et al., 2020). La possibilité de croisement et d'introgression de gènes du maïs dans les populations de téosintes considérées comme adventices est documentée (EFSA, 2016 et 2022). L'introgression de gènes de maïs a été démontrée pour les populations de téosintes présentes en France, celles-ci ayant introgressé spontanément un gène de résistance à un herbicide présent dans des variétés de maïs cultivées en France (Le Corre et al., 2020).

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire prenne davantage en compte l'existence de populations de téosintes considérées comme adventices dans l'Union européenne et analyse la possibilité d'introgression de gènes du maïs MON94804 dans la téosinte, documentée dans la littérature scientifique.**

### B.1.2. Caractérisation moléculaire

#### B.1.2.1. Informations concernant la modification génétique

L'évènement de transformation MON94804 a été obtenu par transformation génétique d'embryons immatures de la lignée de maïs HCL301 par la souche désarmée d'*Agrobacterium tumefaciens* ABI portant le vecteur binaire PV-ZMAP527892 contenant un ADN-T. Cet ADN-T porte les cassettes d'expression du gène *GA20ox\_SUP* et du gène *cp4 epsps* (marqueur de sélection).

Après cette co-culture, les embryons transformés ont été sélectionnés sur milieu sélectif contenant du glyphosate. Les cals transformés ont ensuite été transférés sur milieu permettant l'initiation des racines et des pousses afin d'aboutir à la différenciation de plantules (plantes R0). Les plantules sont mises en culture en sol. Les plantes R1 issues d'autopollinisation des R0 ont été sélectionnées sur la présence de l'ADN-T et l'absence de régions du vecteur non

destinées au transfert, dans leur génome. Leur descendance R2 a été soumise à une caractérisation moléculaire et phénotypique approfondie.

Les plantes R2 sélectionnées ont été croisées avec une seconde lignée de maïs génétiquement modifiée (GM) exprimant la recombinaise Cre. Cette lignée de maïs GM a été développée également par transformation de la variété HCL301 en utilisant le plasmide PV-ZMOO513642 qui contient un ADN-T portant les cassettes d'expression des séquences codantes d'une recombinaise Cre et du gène *neo* (néomycine phosphotransférase II) dont l'activité n'est pas utilisée.

Les plantes F1 issues de ce croisement sont des maïs hybrides hétérozygotes portant les deux ADN-T provenant chacun d'un des parents. L'expression de la recombinaise Cre dans les plantes F1 génère une double cassure de l'ADN au niveau des sites cibles loxP conduisant à l'excision de la cassette d'expression du gène *cp4epsps*. Les hybrides F1 sont autofécondés et les plantes F2 ne portant pas les gènes *cre* et *cp4epsps* sont conservées. Des autofécondations successives sont ensuite réalisées. Les plantes F4 sélectionnées sont les plantes homozygotes pour l'insert. Les descendants ont ensuite fait l'objet de sélection sur leurs caractéristiques moléculaires et phénotypiques pour retenir une lignée génétiquement modifiée MON94804.

#### **Concernant l'ADN-T présent dans le plasmide PV-ZMAP527892 :**

La cassette d'expression du gène *GA20ox\_SUP* contient les séquences inversées-répétées dérivées des gènes *GA20ox3* et *GA20ox5* du maïs (*Zea mays*), codant respectivement les oxydases *GA20ox3* et *GA20ox5*. Ces deux séquences sont flanquées et séparées par trois fragments *Osa-miR1425* issus du riz (*Oryza sativa*).

Le gène *GA20ox\_SUP* est placé sous le contrôle :

- de la séquence promotrice du virus RTBV (*rice tungro bacilliform virus*),
- de la séquence intronique du gène *hsp70* de *Zea mays*,
- et de la région 3' terminale non codante développée à partir de plusieurs séquences 3' de *Zea mays*.

La cassette d'expression du gène *cp4epsps* contient une séquence codante du gène *aroA* de la bactérie *Agrobacterium sp.* souche CP4, codant la protéine CP4 EPSPS. La protéine CP4EPSPS synthétisée confère la tolérance au glyphosate. Cette séquence codante est placée sous le contrôle :

- de 2 sites de recombinaison *loxP* du bactériophage P1 reconnaissables par la recombinaise Cre, en amont et en aval de la cassette d'expression,
- de la séquence promotrice du gène *act1* du riz (*Oryza sativa*),
- de la séquence intronique du gène *act1* du riz (*Oryza sativa*),
- de la séquence de ciblage du gène *shkG* correspondant au peptide de localisation de la protéine EPSPS d'*Arabidopsis thaliana* permettant l'adressage de la protéine CP4 EPSPS dans le chloroplaste,
- et de la région 3' terminale non codante du gène *nopaline synthase (nos)* de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* pTI.

### Concernant l'ADN-T présent dans le plasmide PV-ZMOO513642 :

La cassette d'expression du gène *cre* contient les séquences codantes partielles des deux exons du gène de la recombinase Cre du bactériophage P1. Ces séquences codantes sont placées sous le contrôle :

- de la séquence promotrice 5'UTR du gène *act1* du riz (*Oryza sativa*),
- de la séquence intronique du gène *light inducible gene (LS1)* de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*),
- et de la région 3' terminale du gène *hsp17* du blé (*Triticum aestivum*).

La protéine Cre permet la cassure double-brin de l'ADN et la recombinaison au niveau des sites *loxP* conduisant alors à l'excision de la cassette d'expression du gène *cp4 epsps*.

La cassette d'expression du gène *neo* contient la séquence codante du gène *neo* issu du transposon Tn5 de la bactérie *Escherichia coli*, codant la néomycine phosphotransférase II. Cette enzyme confère une résistance à la néomycine et à la kanamycine. Cette séquence codante est placée sous le contrôle :

- de la séquence promotrice du transcrite 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV, *Cauliflower Mosaic Virus*),
- et de la région 3' terminale non codante du gène *nopaline synthase (nos)* de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* pTi.

L'insert situé dans le maïs GM exprimant la recombinase Cre est présent sous forme hétérozygote dans les plantes hybrides F1. Après plusieurs générations et sélections des plantes, sont conservées les plantes portant uniquement l'insert d'intérêt avec la cassette d'expression de *GA20ox\_SUP*. La lignée génétiquement modifiée MON94804 ne porte pas l'insert contenant les gènes *cre* et *neo* et n'exprime donc ni la recombinase, ni la néomycine phosphotransférase II.

#### B.1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

La caractérisation moléculaire du maïs MON94804 par des techniques de séquençage à haut débit a mis en évidence un site d'insertion unique d'une copie de l'ADN-T d'intérêt, et l'absence de séquences plasmidiques et de l'ADN-T issu du plasmide PV-ZMOO513642 dans le génome du maïs MON94804.

Des techniques plus spécifiques (amplification du locus d'insertion par PCR puis séquençage et analyses moléculaires) ont permis de caractériser la région d'insertion de l'ADN-T dans le maïs MON94804, démontrant que la séquence effectivement insérée est identique à celle de l'ADN-T présent dans le vecteur PV-ZMAP527892, à l'exception de la délétion de la cassette d'expression du gène *cp4 epsps*, en dehors du maintien d'un site *loxP*, comme attendu.

L'organisation génomique au site d'insertion a été évaluée en comparant les séquences flanquantes de l'insert dans le maïs MON94804 à la séquence génomique du maïs témoin quasi-isogénique HCL301. Cette analyse a mis en évidence chez le maïs MON94804, une délétion de 41 pb dans le génome du maïs au niveau du site d'insertion. Les analyses bioinformatiques FASTA des séquences flanquantes de l'insert ont montré que l'insertion de

l'ADN-T n'avait pas interrompu de gènes endogènes et qu'elle avait eu lieu sur le chromosome 1 du génome du maïs.

La stabilité génétique de l'insert du maïs MON94804 a été confirmée par NGS (Next generation sequencing) sur cinq générations (F4, F5, F6, F4F1 et F5F1).

L'analyse de ségrégation du maïs MON94804 a été effectuée sur trois générations (F4F2, F4F3, F4F4) par PCR en temps réel, et permet de conclure à une insertion unique à hérédité mendélienne.

L'analyse bioinformatique des ORFs (cadres ouverts de lecture) potentiels créés aux sites de jonctions de l'insert avec l'ADN génomique et au sein de l'insert a porté sur les six cadres possibles de lecture. Des analyses *in silico* ont été effectuées dans des bases de données actualisées en 2022 à la recherche d'homologie avec des allergènes (AD\_2022), des toxines (TOX\_2022) et des protéines avec une activité biologique potentiellement néfaste (PRT\_2022). Ces analyses ne révèlent pas d'identité biologiquement significative totale, globale ou locale.

La cassette *GA20ox\_SUP* insérée dans le maïs MON94804 permet l'expression du miRNA *GA20ox\_SUP*, ciblant des ARNm codant les oxydases impliquées dans la biosynthèse des gibbérellines, *GA20ox3* et *GA20ox5*.

Les analyses moléculaires relatives à l'expression du miRNA *GA20ox-SUP*, des ARNm ciblés par ce dernier (*ZmGA20ox3* et *ZmGA20ox5*) et le dosage de deux gibbérellines, *GA1* et *GA4*, ont été effectuées par le pétitionnaire à partir d'échantillons de tissus et de grains de maïs MON94804 récoltés lors d'essais en serre, à différents stades de développement.

Le GT « Biotechnologie » considère que les essais en serre sont réalisés dans des conditions environnementales contrôlées. Dans ce cadre, l'expression des gènes, la synthèse du miRNA *GA20ox\_SUP* et des gibbérellines par le maïs MON94804 pourraient ne pas être représentatives des conditions de culture au champ de ce maïs. De plus, le fond génétique dans lequel a été placé l'événement MON94804 et celui du témoin ne sont pas indiqués dans les rapports d'analyse du dossier.

**Le GT « Biotechnologie » demande que les analyses moléculaires et le dosage de gibbérellines soient également effectués sur des échantillons de maïs MON94804 cultivés au champ sur différents sites, et ainsi réalisés de façon similaire aux analyses de composition présentées dans le dossier, afin d'augmenter la variabilité des conditions environnementales auxquelles peut être contraint le maïs MON94804 en conditions de culture. Il demande également que le pétitionnaire renseigne le fond génétique utilisé pour le maïs MON94804 et celui du témoin utilisé, afin de pouvoir vérifier la validité des études.**

L'expression du miRNA *GA20ox\_SUP* a été analysée par northern Blot dans des échantillons de tissus et de grains du maïs MON94804, récoltés lors d'essais en serre (2021) à différents stades de développement, et comparée à des échantillons issus de la lignée témoin HCL301+HCL617.

Les analyses ont montré une expression du miRNA *GA20ox\_SUP* mature dans l'ensemble des tissus et grains du maïs MON94804 testés, à l'exception du pollen.

L'expression des gènes ciblés par le miRNA GA20ox\_SUP, *ZmGA20ox3* et *ZmGA20ox5* a également été analysée par PCR quantitative en temps réel dans les 9 échantillons de tissus et grains du maïs MON94804 récoltés lors d'essais en serre, en comparaison des échantillons issus du maïs témoin HCL301+HCL617.

Les analyses ont montré la diminution significative du niveau des ARNm de *ZmGA20ox3* et de *ZmGA20ox5* dans les feuilles, la tige, et les grains du maïs MON94804.

Le GT « Biotechnologie » considère qu'en dehors de l'effet du miRNA GA20ox\_SUP sur l'expression des deux gènes *ZmGA20ox3* et *ZmGA20ox5*, la teneur réduite en gibbérellines recherchée dans le maïs MON94804 est aussi susceptible d'avoir des effets sur l'expression du transcriptome du maïs MON94804. En conséquence, la seule recherche de la diminution d'expression des deux gènes ciblés par le miRNA GA20ox\_SUP est jugée insuffisante.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire présente une analyse du transcriptome du maïs MON94804 afin d'identifier des régulations potentielles des gènes associées à la teneur réduite en gibbérellines dans la plante. Cette recherche devra se faire dans toutes les parties du maïs MON94804, dont celles où le miRNA GA20ox\_SUP s'exprime (tige notamment).**

Enfin, le niveau de gibbérellines actives GA1 et GA4 a été mesuré dans les tissus du maïs MON94804, en comparaison des tissus du maïs témoin HCL301+HCL617.

Les échantillons de tissus utilisés pour l'analyse ont été prélevés sur des maïs MON94804 et maïs témoin, récoltés lors d'essais en serre à différents stades de développement.

Le niveau de gibbérellines GA1 était significativement plus faible dans les feuilles et le fourrage du maïs MON94804 par rapport aux mêmes échantillons du maïs témoin HCL301+HCL617, et le niveau de gibbérellines GA4 était significativement plus faible dans les feuilles, la tige, le fourrage et les grains du maïs MON94804 par rapport à ceux du maïs témoin.

Le GT « Biotechnologie » relève l'absence d'un dosage de certains précurseurs de la voie de biosynthèse des gibbérellines actives GA1 et GA4 par le pétitionnaire (par exemple les gibbérellines GA12, GA53, GA3, GA7 et GA44, et d'autres métabolites précurseurs, tel que l'acide kaurénoïque), qui permettrait de mettre en évidence une modification de composition ou une modification métabolique consécutive à la diminution de l'expression des GA 20-oxidases codées par les gènes *ZmGA20ox3* et *ZmGA20ox5*. La connaissance d'une bioaccumulation d'un composé dans les tissus végétaux ou d'un avantage donné à une autre voie métabolique pourraient informer sur des dosages à effectuer afin de compléter l'analyse de composition du maïs MON94804 par la recherche de composés spécifiques en plus de ceux présents dans le document consensus de l'OCDE (OCDE, 2002).

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire complète son étude comparative du dosage des gibbérellines GA1 et GA4 dans les tissus du maïs MON94804 et de son témoin isogénique par un dosage des gibbérellines GA12, GA53, GA3, GA7 et GA44, de l'acide kaurénoïque et d'autres précurseurs potentiellement bioaccumulés à identifier.**



Pour identifier tout potentiel effet hors cible (off-target) du miRNA GA20ox\_SUP, la séquence de 21 nucléotides de ce dernier a été comparée par bioinformatique (méthode STELLAR, *Swift Exact Local Aligner* version 1.3) à une base de données transcriptomique de maïs, en suivant les conditions suivantes :

- les premières analyses ont identifié des alignements de 21 nucléotides ou plus qui affichaient un minimum de 16 identités dans une fenêtre de 21 nucléotides,
- Puis ce pool initial d'alignements a été traité à l'aide des 7 filtres suivants afin de tenir compte des nucléotides non appariés dans le duplex miRNA/cible potentielle :
  - o Pas plus de 4 mis-appariements sans *gap* (écart), ou 3 mis-appariements avec un *gap* ;
  - o Les appariements G:U doivent être considérés comme un demi-mis-appariement ;
  - o Un seul *gap* peut être présent dans la cible ou le miRNA ;
  - o Les *gaps* ne peuvent pas dépasser 1 nucléotide ;
  - o Aucun mis-appariement ou *gap* ne peut être autorisé aux positions 10 ou 11 de la séquence du miRNA ;
  - o Pas plus de 2 mis-appariements (ou un mis-appariement et un *gap*) peuvent exister dans les 12 premiers nucléotides à l'extrémité 5' du miRNA ;
  - o L'énergie libre maximale calculée du duplex divisée par l'énergie libre minimale du complément parfait doit être supérieure à 0,75.

Les résultats de ces analyses ont révélé qu'outre les alignements attendus avec *ZmGA20ox3* et *ZmGA20ox5*, aucune autre homologie de séquence qui pourrait suggérer un potentiel effet hors cible n'a été observée entre la séquence du miRNA GA20ox\_SUP et les séquences du transcriptome du maïs.

**En considérant que le miRNA pourrait résister aux processus de transformation alimentaire et aux barrières gastro-intestinales de l'Homme ou de l'animal consommateur de ce maïs (del Pozo-Acebo et al., 2021) ou encore de l'insecte qui y serait exposé (Wang et al., 2017 ; Jia et al., 2015 ; Sattar et al., 2012), le GT « Biotechnologie » demande une analyse complémentaire des effets hors-cible (off-targets) par alignement de séquences du miRNA GA20ox\_SUP ou de sa séquence cible, avec des bases de données de transcriptomes de l'Homme, des insectes et de l'animal consommateur de maïs (fourrage et/ou grains). Les analyses *in silico* (marque nucléotide par nucléotide) devront tenir compte d'identités partielles (de 1 à 4 mis-appariements). En cas d'identification de cibles potentielles, le pétitionnaire devra présenter les identités et les fonctions biologiques potentielles des cibles.**

#### B.1.2.3. Conclusions de la caractérisation moléculaire

**Le GT « Biotechnologie » considère que les informations disponibles ne permettent pas de conclure sur la caractérisation moléculaire du maïs MON94804.**

**Le GT « Biotechnologie » demande les informations complémentaires suivantes :**

- **une analyse du transcriptome du maïs MON94804, afin d'identifier des régulations potentielles des gènes associées à la teneur réduite en gibbérellines dans la plante,**

- les dosages des gibbérellines GA12, GA53, GA3, GA7 et GA44, de l'acide kaurénoïque et d'autres précurseurs potentiellement bioaccumulés à identifier dans les tissus du maïs MON94804 et de son témoin,
- une analyse moléculaire et un dosage de gibbérellines sur des échantillons de maïs MON94804 cultivés au champ sur différents sites, réalisés de façon similaire aux analyses de composition présentées dans le dossier,
- le renseignement du fond génétique utilisé pour le maïs MON94804 et celui du témoin utilisé, afin de pouvoir vérifier la validité des études,
- une analyse complémentaire des effets hors-cible (off-targets) par alignement de séquences du miRNA GA20ox\_SUP ou de sa séquence cible, avec des bases de données de transcriptomes de l'Homme, des insectes et de l'animal consommateur de maïs (fourrage et/ou grains).

### B.1.3. Évaluation comparative

#### B.1.3.1. Choix de l'équivalent non transgénique et des comparateurs supplémentaires

Le maïs MON94804 est comparé à l'hybride isogénique non transgénique HCL301+HCL617. Au total, dix-neuf variétés commerciales conventionnelles non transgéniques ont été utilisées comme témoins dans les essais au champ réalisés en 2020.

Les semences du maïs MON94804 et du témoin isogénique utilisés pour les essais ont été produites à Hawaï, dans des conditions environnementales similaires.

#### B.1.3.2. Dispositif expérimental et analyse statistique des données issues des essais au champ pour l'analyse comparative

Le maïs MON94804, la variété hybride témoin isogénique non transgénique HCL301+HCL617 et les variétés commerciales (4 variétés par site) ont été cultivées sur 8 sites en 2020, aux États-Unis.

Ces sites expérimentaux sont indiqués par le pétitionnaire comme représentatifs de la production de maïs aux États-Unis. Chaque modalité (variété témoin, variétés commerciales et variété génétiquement modifiée) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés. Les caractéristiques de ce plan d'expérience respectent les recommandations du Panel OGM de l'EFSA (2011a).

Des échantillons de grains et de fourrage ont été récoltés sur les 8 sites d'essais. Les analyses phénotypiques et agronomiques et les analyses de composition ont été réalisées sur tous les sites.

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition ont fait l'objet d'une analyse statistique. Le maïs MON94804 est comparé à la variété témoin isogénique par des tests de différences et aux variétés commerciales de référence par des tests d'équivalence. L'erreur de type 1 retenue par le pétitionnaire est de 10 % pour les tests de différence et de 5 % pour les tests d'équivalences.

Le modèle statistique utilisé est un modèle linéaire à effets mixtes incluant :

- un effet fixe « génotype » distinguant le maïs MON94804, la variété témoin isogénique non transgénique ou les variétés commerciales de référence.
- des effets aléatoires : « sites », « bloc dans le site » et « variété commerciale ».

Un modèle est également utilisé pour étudier l'interaction génotype/site.

Les résultats des tests statistiques sont interprétés selon l'approche décrite par le Panel OGM de l'EFSA (2010) en classant les variables en quatre catégories selon les résultats des tests d'équivalence et sept types après combinaison avec les résultats des tests de différence.

L'ensemble des modèles et méthodes est décrit. Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont fournis.

#### B.1.3.3. Sélection du matériel et des composés pour analyse

L'analyse de la composition a été réalisée sur les grains matures et le fourrage. Les composés analysés correspondent à ceux recommandés dans le document consensus de l'OCDE (2002). Le GT « Biotechnologie » estime que cette analyse est complète.

#### B.1.3.4. Analyse comparative de la composition

Les mesures de 63 composés sur 78 analysés (69 dans le grain et 9 dans le fourrage) ont été utilisables pour l'analyse statistique, 15 composés ayant été considérés comme non-utilisables car plus de 50 % des données obtenues pour chacun de ces paramètres étaient inférieures à la limite de quantification : 13 acides gras, le sodium et le furfural.

Sur la base de ces résultats, l'analyse combinée de l'ensemble des 8 sites d'expérimentation montre que la composition des grains et du fourrage du maïs MON94804 est équivalente à celle des grains et du fourrage de variétés de référence de maïs.

Seule l'équivalence de la composition en ADF (*Acid Detergent Fiber*) dans le grain n'a pas pu être affirmée par le pétitionnaire, en raison de l'absence de variation naturelle observable dans les variétés commerciales conventionnelles de référence. Toutefois, le GT « Biotechnologie » observe que les teneurs moyennes en ADF dans les grains de maïs MON94804 (3,31 % de masse sèche) sont dans les intervalles de variation obtenus avec les variétés de référence et la variété isogénique non transgénique HCL301+HCL617. Il considère que ces différences de composition du grain sont faibles et n'ont pas de signification biologique.

#### B.1.3.5. Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 11 paramètres dont dix sont utilisables pour les analyses statistiques, le nombre d'épis par plante ne présentant pas de variabilité dans cette étude.

Le maïs MON94804 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence sur le plan agronomique et phénotypique et n'est pas différent de son témoin isogénique non transgénique, à l'exclusion des deux paramètres d'intérêt pour le pétitionnaire : hauteur de la plante et hauteur des épis sur la plante (significativement réduites pour le maïs MON94804 par rapport au témoin isogénique non transgénique). Ces différences phénotypiques correspondent à celles recherchées suite à la modification génétique de la plante.

Les dommages associés à différents stress biotiques et abiotiques ont également été évalués, selon leur occurrence sur les différents sites, de façon qualitative (4 classes) et à 4 stades de croissance des plantes. Cette évaluation montre une différence en termes de résistance aux dommages causés par le vent (sur un seul site) et aux symptômes de la rouille (sur un seul

site) pour le maïs MON94804 par rapport à son témoin isogénique. Le maïs MON94804 apparaît toutefois équivalent en termes de résistance à l'ensemble des stress biotiques et abiotiques évalués par rapport aux variétés commerciales de référence.

Le maïs MON94804 apparaît également équivalent en terme de capacité de germination par rapport aux variétés commerciales de référence et n'est pas différent de son témoin isogénique non transgénique.

#### B.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du maïs MON94804 ne devraient pas être différents de ceux issus de maïs conventionnels et ne présente aucune analyse des produits transformés.

#### B.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

**Sur la base des éléments présentés dans le dossier initial, le GT « Biotechnologie » conclut que le maïs MON94804 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence pour la composition de ses grains et de son fourrage et sur le plan agronomique. De plus, le GT constate que ce maïs présente bien les caractéristiques phénotypiques recherchées par la modification génétique concernant la diminution de la hauteur de la plante (et en conséquence de la hauteur de ses épis).**

### B.1.4. Toxicologie

#### B.1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Le maïs MON94804 n'exprime pas de nouvelle protéine exogène.

#### B.1.4.2. Analyse des nouveaux constituants autre que les protéines

L'évaluation des risques de potentiels effets hors cible du miRNA GA20ox\_SUP sur le transcriptome du maïs MON94804, de l'Homme, des insectes et de l'animal consommateur de maïs est traitée en section B.1.2.2.

Le pétitionnaire ne fournit pas d'information sur la présence éventuelle de nouveaux constituants. Il estime avoir démontré que la composition du maïs MON94804 est équivalente à celle de variétés de maïs conventionnelles et qu'il n'y a donc pas lieu d'analyser d'autres constituants.

#### B.1.4.3. Informations sur les constituants naturels de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux

Aucune analyse n'a été réalisée sur des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux issus du maïs MON94804.

#### B.1.4.4. Analyse de l'aliment (denrée alimentaire ou aliment pour animaux) génétiquement modifié entier

Une étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat a été menée en 2021-2022 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (2018) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

Trois groupes de 16 rats mâles et 16 rats femelles, souche Sprague-Dawley (CrI :CD(SD)) ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant :

- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée MON94804,
- 33 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée MON94804 auxquels s'ajoutent 17 % de maïs isogénique non GM (HCL301+HCL617),
- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs isogénique non GM (HCL301+HCL617).

Les analyses réalisées sur les aliments distribués aux différents groupes d'animaux montrent qu'ils sont équivalents sur le plan nutritionnel et en termes de teneurs en contaminants. Les données individuelles de l'étude sont présentées.

Les résultats de cette étude montrent une très grande variabilité des teneurs en thyroïdostimuline (TSH), notamment chez les femelles, avec des valeurs de dosage comprises entre 208 pg/ml et 3409 pg/ml.

Le GT « Biotechnologie » constate que la comparaison des valeurs moyennes en TSH chez les mâles et chez les femelles entre les différents régimes et la mise en évidence, non discutée par le pétitionnaire, de kystes thyroïdiens chez 3 mâles et 4 femelles nourris avec la dose de 50 % de grains moulus de maïs MON94804 (contre 2 mâles et 3 femelles du groupe contrôle), peuvent laisser suspecter un effet dose-dépendant du régime à base de maïs MON94804.

De plus, le GT « Biotechnologie » considère que l'absence des résultats de dosage en TSH chez 5 rats mâles et 5 rats femelles, non argumentée par le pétitionnaire, diminue la puissance statistique de cette étude et ne permet pas l'interprétation de ces résultats.

Enfin, les données historiques présentées par le pétitionnaire concernant les dosages en TSH portent seulement sur une année et les dosages obtenus pour les animaux des deux sexes sont regroupés. Le GT considère que ces données historiques sont incomplètes et ne permettent pas de s'y référer.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire :**

- **explique la variation biologique interindividuelle des teneurs en TSH,**
- **précise les caractéristiques de la méthode de dosage « Luminex Bead-Based (TSH) assay » (sensibilité, répétabilité, variabilité et standard de référence),**
- **explique la présence de kystes thyroïdiens observés chez plusieurs rats,**
- **justifie l'absence des résultats de dosages de TSH pour 10 rats,**
- **complète les données historiques relatives au dosage en TSH en distinguant les valeurs moyennes pour les mâles et pour les femelles d'une part, et en élargissant la période de recueil des données à 5 ans d'autre part.**

Le pétitionnaire mentionne, au niveau du résultat des observations macroscopiques réalisées à l'issue de l'étude, la présence de kystes ovariens retrouvés chez 1 femelle sur 16 du groupe « forte dose » (50 % de grains moulus de maïs MON94804) et 2 femelles sur 16 du groupe « faible dose » (33 % de grains moulus de maïs MON94804). Il argumente la présence de ces derniers comme un résultat accidentel justifié par une incidence de 1,12 % à 16,67 % pour les études individuelles au niveau des données historiques de cette même souche de rats, et non lié à l'administration du régime contenant le maïs GM. Il indique également l'absence d'autres effets observés sur les ovaires au niveau macroscopique ou microscopique, et l'absence de résultats cliniques indiquant des effets sur la reproduction.

En contradiction avec les arguments du pétitionnaire, le GT « Biotechnologie » relève, en complément de ces observations macroscopiques, la présence de kystes folliculaires retrouvés au niveau des observations microscopiques sur une seconde femelle du groupe « forte dose » ainsi que sur une autre femelle du groupe témoin.

**Afin d'écartier toute suspicion d'un dysfonctionnement hormonal qui pourrait être induit par l'exposition alimentaire des rongeurs au maïs MON94804 dans l'étude de toxicité présentée, le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire :**

- réalise des dosages hormonaux : œstradiol, tel que recommandé au cas par cas par l'OCDE (ligne directrice 408) et progestérone ;
- précise les valeurs d'incidence indiquées concernant les données historiques.

Le calcul de puissance présenté par le pétitionnaire est de plus considéré non valide par le GT « Biotechnologie » : il s'appuie sur seulement huit paramètres biologiques et les tailles d'effets cibles ne sont pas jugées appropriées (par exemple 200 % pour le cholestérol, 100 % pour la phosphatase alcaline ou 50 % pour la créatinine). Pour information, l'US EPA (2002) indique que de manière générale, les tailles d'effets doivent être comprises entre 10 et 25 %.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire présente un calcul de puissance approprié.**

#### B.1.4.5. Conclusions de l'évaluation toxicologique

**Le GT « Biotechnologie » considère que les informations disponibles ne permettent pas de se prononcer sur la sécurité sanitaire du maïs MON94804.**

**Le GT « Biotechnologie » demande les informations suivantes concernant l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat :**

- l'interprétation de la variation biologique interindividuelle des teneurs en TSH,
- les caractéristiques de la méthode de dosage « Luminex Bead-Based (TSH) assay » (sensibilité, répétabilité, variabilité et standard de référence),
- l'interprétation de la présence de kystes thyroïdiens observés chez plusieurs rats,
- la justification de l'absence des résultats de dosages de TSH pour 10 rats,
- un complément aux données historiques relatives au dosage en TSH, en distinguant les valeurs moyennes pour les mâles et pour les femelles d'une part, et en élargissant la période de recueil des données à 5 ans d'autre part ;

- les dosages hormonaux (oestradiol et progestérone) des rongeurs, afin d'écartier toute suspicion d'un dysfonctionnement hormonal qui pourrait être induit par l'exposition alimentaire des rongeurs au maïs MON94804 dans l'étude de toxicité présentée,
- les valeurs d'incidence indiquées concernant les données historiques,
- un calcul de puissance statistique approprié.

#### **B.1.5. Évaluation de l'allergénicité**

B.1.5.1. Évaluation de l'allergénicité de la (des) protéine(s) nouvellement exprimée(s)

Le maïs MON94804 n'exprime pas de nouvelle protéine exogène.

B.1.5.2. Évaluation de l'allergénicité de la plante génétiquement modifiée entière

Aucune information disponible ne laisse supposer que le maïs transgénique MON94804 puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de maïs non génétiquement modifiées.

B.1.5.3. Propriété d'adjuvant

Le maïs MON94804 n'exprime pas de nouvelle protéine exogène qui pourrait présenter des propriétés adjuvantes.

B.1.5.4. Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

**Sur la base de l'analyse présentée par le pétitionnaire, et compte tenu de l'absence de nouvelle protéine exogène, le GT « Biotechnologie » conclut que l'allergénicité du maïs MON94804 est probablement similaire à celle des variétés de maïs non génétiquement modifié.**

#### **B.1.6. Évaluation nutritionnelle**

Le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation nutritionnelle, estimant avoir démontré l'équivalence de composition entre le maïs MON94804 et des variétés de maïs de référence.

#### **B.2. Évaluation de l'exposition – Prévion de la quantité consommée ou de l'étendue de l'utilisation**

Le maïs MON94804 n'exprimant pas de nouvelle protéine exogène à laquelle les consommateurs animaux ou humains puissent être exposés, le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation de l'exposition.

### B.3. Caractérisation des risques

Le pétitionnaire indique qu'il n'identifie pas de risques pour la santé animale ou pour la santé humaine.

### B.4. Surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié(e) consécutive à sa mise sur le marché

Le pétitionnaire ne propose pas de plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié consécutive à sa mise sur le marché.

### B.5. Évaluation des risques pour l'environnement (ERE)

#### B.5.1. Introduction

La présente demande concerne l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs MON94804. La culture de ce maïs dans l'Union européenne est exclue de cette demande.

#### B.5.2 Approche globale de l'ERE

Les seuls dangers à considérer sont ceux liés à l'expression du miRNA GA20ox\_SUP dans le maïs MON94804, et au phénotype associé. L'effet de la hauteur réduite sur la survie et la performance du maïs est probablement très dépendant des conditions environnementales. Une hauteur réduite peut être associée, par exemple, à un moindre risque de verse en présence de vents forts. Inversement, elle peut aussi être associée à une moindre aptitude à la compétition pour la lumière en présence d'autres plantes de plus grande taille.

S'agissant d'un dossier de demande d'importation, l'exposition de l'environnement de l'Union européenne ne peut résulter selon le guide de l'EFSA que d'une dispersion accidentelle des grains importés, d'une exposition aux fèces d'animaux ayant consommé le maïs MON94804, ou aux produits issus de l'utilisation ou de la transformation de ce maïs. Concernant la caractérisation de l'exposition, le pétitionnaire affirme, sur la dispersion involontaire des grains importés sur les sites d'importation, de stockage et de transport, qu'il est peu probable que les conditions environnementales de ces sites soient propices à la germination, à la croissance et à la reproduction du maïs destiné à l'alimentation humaine et animale.

Le GT « Biotechnologie » considère que l'analyse du risque de dispersion involontaire lors de l'importation, du déchargement, et du transport de grains de maïs entre les ports d'importation et les sites de stockage ou de transformation devrait être davantage détaillée en prenant en compte les données de la littérature. Des plants de maïs transgéniques issus de la dispersion involontaire de grains lors de leur transport depuis les ports d'importation ont été observés en Corée du Sud (Lee et al., 2009 ; Park et al., 2009 ; Han et al. ; 2014) ainsi que dans une zone portuaire en Autriche (Pascher, 2016).

**Le GT « Biotechnologie » demande au pétitionnaire de mieux prendre en compte le risque de dispersion involontaire de grains de maïs MON94804 suite à une importation, en particulier lors des opérations de transport et de stockage, en s'appuyant sur la littérature scientifique existante.**



### B.5.3. Domaines spécifiques de risque

#### B.5.3.1. Persistance et caractère envahissant y compris le « flux de gènes » de plante à plante

Le pétitionnaire 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 français.

**Le GT « Biotechnologie » demande 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, dans l'Union européenne, de grains issus de plantes génétiquement modifiées.**

Le risque de dispersion des transgènes par un croisement avec des populations européennes de téosintes aurait dû être abordé de façon plus détaillée par le pétitionnaire sur la base de la littérature existante. La distribution géographique des populations de téosintes européennes se situe actuellement au niveau de deux régions (Aragon et Catalogne en Espagne et nord de la région Nouvelle-Aquitaine en France) (EFSA 2016 ; 2022).

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire considère le risque de flux de gènes du maïs MON94804 vers des populations de téosintes présentes dans les environnements récepteurs de l'Union européenne.**

#### B.5.3.2. Transfert de gènes de la plante à des micro-organismes

Concernant le risque de transfert de gènes à des micro-organismes, le pétitionnaire fournit des études bio-informatiques démontrant l'absence d'ADN inséré chez le maïs et homologue à celui de bactéries capables de permettre une recombinaison homologue. Dans le cas où une recombinaison pourrait se produire, sa stabilisation serait uniquement possible après une forte pression de sélection. Dans ce contexte, aucun avantage sélectif n'est attendu pour des micro-organismes accueillant des séquences transgéniques du maïs MON94804.

**Le GT « Biotechnologie » estime que le risque de transfert de gène de la plante génétiquement modifiée vers des micro-organismes est négligeable et non préoccupant.**

#### B.6. Plan de surveillance des effets sur l'environnement consécutive à la mise sur le marché

Les risques d'effets indésirables potentiels sur la santé humaine et animale ou l'environnement étant négligeables dans le contexte des utilisations prévues du maïs MON94804, le pétitionnaire estime qu'il n'est pas nécessaire de procéder à une surveillance spécifique.

**Le GT « Biotechnologie » estime par ailleurs que le plan de surveillance générale proposé dans le dossier suit les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2011).**

B.7. Informations complémentaires sur l'innocuité de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifiés

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2012-2022, dont il détaille les modalités et les résultats dans un rapport. La question formulée est la suivante : *“Does MON 94804 maize, derived food/feed products and the introduced short stature trait have adverse effects on human and animal health and the environment?”*. Suite à la recherche dans les bases de données, aucune publication n'est retenue parmi les 975 identifiées (302 issues de base de données et 673 de sites internet d'organisation évaluées comme pertinentes). Les critères d'inclusion pour la sélection des articles ne sont pas décrits.

**Le GT « Biotechnologie » demande que la recherche bibliographique appliquée pour cette analyse de la littérature soit moins restrictive et que les articles concernant le trait recherché (taille raccourcie chez les céréales) soient retenus pour analyse.**

**C. Conclusions du groupe de travail « Biotechnologie »**

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'importation, la transformation et l'alimentation humaine et animale du maïs MON94804. Il ne concerne pas sa mise en culture.

Considérant notamment,  
sur le volet sanitaire :

- le manque de données concernant l'analyse des effets hors-cible potentiels du miRNA GA20ox\_SUP, le dosage des gibbérélines, et les effets de la modification génétique sur le transcriptome du maïs MON94804,
- le manque de données relatives à l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat avec un aliment contenant du maïs MON94804 (paramètres endocriniens notamment).

sur le volet environnemental :

- la non prise en compte de la téosinte dans l'évaluation des risques environnementaux,

le GT « Biotechnologie » estime ne pas pouvoir se prononcer sur la sécurité sanitaire et environnementale du maïs MON94804.

Les commentaires émis par le GT « Biotechnologie », lors de la période de consultation des États membres par l'EFSA et relatifs à ces aspects, sont disponibles en annexe de cet avis.

#### 4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions du GT « Biotechnologie », qui considère qu'en l'absence de certaines données déterminantes, il ne peut se prononcer sur les risques sanitaires et environnementaux relatifs à l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs MON94804.

Considérant que des études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier par le pétitionnaire à la demande de l'EFSA, le présent avis ne préjuge pas de conclusions finales qui pourraient être rendues ultérieurement par l'Anses au vu d'un dossier complété.

Pr. Benoît VALLET

## MOTS-CLÉS

OGM, PGM, maïs, MON94804, modification phénotypique, hauteur des plants de maïs, acide gibbérelliques, gibbérellines, micro-ARN.

GMO, GMP, maize, MON94804, phenotypic modification, maize plant height, gibberellic acid, gibberellin, microRNA.

## BIBLIOGRAPHIE

Del Pozo-Acebo L, López de Las Hazas MC, Margollés A, Dávalos A, García-Ruiz A. Eating microRNAs: pharmacological opportunities for cross-kingdom regulation and implications in host gene and gut microbiota modulation. *Br J Pharmacol.* 2021 Jun;178(11):2218-2245. doi: 10.1111/bph.15421

Díaz A Taberner A, Vilaplan L (2020) The emergence of a new weed in maize plantations: characterization and genetic structure using microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 67, 225–239. doi.org/10.1007/s10722-019-00828

Directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil – Déclaration de la Commission. JO L 106 du 17 avril 2001, pp. 1-39.

EFSA. 2011. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific Opinion on guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 9, 2316, 40 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

EFSA. 2022. Statement on the update of environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations of EFSA (2016) on EU teosinte. *EFSA Journal* 20(4):7228, 40pp. doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7228

Han SM, Kim DY, Uddin MR, Hwang KS, Lee B, Kim CG, Park KW (2014). Appearance/instance of genetically modified maize at grain receiving harbors and along transportation routes in Korea. *Weed Turfgrass Science* 3, 221–224. doi:10.5660/WTS.2014.3.3.221

Hofmann F, Otto M, Wosniok W (2014) Maize pollen deposition in relation to distance from the nearest pollen source under common cultivation-results of 10 years of monitoring (2001 to 2010). *Environ. Sci. Eur.* 26, 24. doi.org/10.1186/s12302-014-0024-3

ISAAA. 2019. "Global status of commercialized biotech/GM crops in 2019: Biotech crops drive socio-economic development and sustainable environment in the new frontier." ISAAA brief N° 55. ISAAA:Ithaca, NY.

Jia, L.; Zhang, D.; Xiang, Z.; He, N. (2015) Nonfunctional ingestion of plant miRNAs in silkworm revealed by digital droplet PCR and transcriptome analysis. *Sci. Rep.*, 5, 12290. doi: 10.1038/srep12290

Le Corre V, Siol M, Vigouroux Y, Tenailon MI, Délye C (2020) Adaptive introgression from maize has facilitated the establishment of teosinte as a noxious weed in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 117, 25618–25627. doi.org/10.1073/pnas.2006633117

- Lee B, Kim CG, Park JY, Park KW, Kim HJ, Yi H, et al. (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified soybean and maize in cultivated fields and along the transportation routes of the Incheon Port in South Korea. *Food Control* 20, 250–254. doi: 10.1016/j.foodcont.2008.05.006
- Lu J, Lu J, He L (2019) Modeling and estimation of pollen-mediated gene flow at the landscape scale. *Ecological Indicators* 106, 105500. doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105500
- NF X50-110:2003 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).
- OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development). 2018. Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, Éditions OCDE, Paris, doi.org/10.1787/9789264070707-en
- OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development), 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, ENV/JM/MONO (2002)25, 1-42
- Park KW, Lee B, Kim CG, Kim DY, Park JY, Ko EM, Jeong SC, Choi KH, Yoon WK, Kim HM (2009) Monitoring the occurrence of genetically modified maize at a grain receiving port and along transportation routes in the Republic of Korea. *Food Control* 21, 456–461. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.07.006
- Pascher K (2016) Spread of volunteer and feral maize plants in Central Europe: recent data from Austria. *Environmental Sciences Europe* 28 : 30. DOI 10.1186/s12302-016-0098-1
- 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. JO L 268 du 18.10.2003, pp. 1-23.
- Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. JO L 70 du 16.3. 2005, pp. 1-16.
- 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. JO L 157 du 8.6.2013, pp. 1-48.
- Sattar, S.; Addo-Quaye, C.; Song, Y.; Anstead, J.A.; Sunkar, R.; Thompson, G.A. (2012) Expression of small RNA in *Aphis gossypii* and its potential role in the resistance interaction with melon. *PLoS ONE*, 7, e48579. doi.org/10.1371/journal.pone.0048579
- Trtikova M, Lohn A, Binimelis R, Chapela I, Oehen B, Zemp N, Widmer A, Hilbeck A (2017) Teosinte in Europe—searching for the origin of a novel weed. *Scientific Reports* 7, 1560. doi.org/10.1038/s41598-017-01478
- US EPA (U.S Environmental Protection Agency). 2002. Guidelines for Ensuring and Maximizing the Quality, Objectivity, Utility, and Integrity of Information Disseminated by the Environmental Protection Agency
- Wang, H.; Zhang, C.; Dou, Y.; Yu, B.; Liu, Y.; Heng-Moss, T.M.; Lu, G.; Wachholtz, M.; Bradshaw, J.D.; Twigg, P.; et al. (2017) Insect and plant-derived miRNAs in greenbug (*Schizaphis graminum*) and yellow sugarcane aphid (*Sipha flava*) revealed by deep sequencing. *Gene*, 599, 68–77. doi.org/10.1016/j.gene.2016.11.014

## CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2023). Avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du maïs génétiquement modifié MON94804 développé pour avoir une teneur réduite en acide gibbérellique afin de limiter la hauteur des plants de maïs, pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° GMFF-2022-10651). Maisons-Alfort : Anses, 30 p.



## Annexe

# Commentaires de l'Anses à destination de la DGAI pour transmission à l'EFSA

concernant la demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, du maïs génétiquement modifié MON94804 développé pour avoir une teneur réduite en acide gibbérellique afin de limiter la hauteur des plants de maïs, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM

Dossier n° GMFF-2022-10651

### 1. Identification et caractérisation des dangers

#### 1.1. Informations concernant les plantes réceptrices ou (le cas échéant) parentales

Le pétitionnaire mentionne que le flux de gènes par l'intermédiaire du pollen n'est possible qu'à courte distance, considérant qu'il est le plus important dans les premiers mètres puis décroît rapidement avec la distance ; la distance d'isolement utilisée habituellement étant de 200 mètres.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses note néanmoins que certaines études ont montré la possibilité de flux de gènes par l'intermédiaire du pollen à longue distance, en particulier selon la direction des vents dominants et lorsque la surface du champ de maïs d'origine est importante (Lu, 2019). La distance maximale rapportée dans la littérature pour le flux de gènes par l'intermédiaire du pollen entre parcelles de maïs est de 4,45 km (Hofmann, 2014).

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire prenne en compte la littérature scientifique disponible concernant les conditions d'occurrence de flux de gènes par l'intermédiaire du pollen à longue distance du maïs.**

Le pétitionnaire estime que la téosinte ne peut pas être considérée comme un parent sauvage indigène du maïs dans l'Union européenne, en raison d'une présence limitée de cette plante dans les parcelles agricoles. Il indique que les hybrides entre la téosinte et le maïs cultivé ont un phénotype intermédiaire, ce qui réduirait substantiellement le risque d'établissement de populations de plantes adventices avec un stock semencier ; et considère donc l'introggression de gènes de maïs dans la téosinte comme improbable.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses relève que la littérature citée par le pétitionnaire est incomplète. Des populations de téosintes considérées comme adventices sont observées dans les parcelles de maïs en France et en Espagne, où elles se maintiennent depuis plusieurs années (plus de 30 ans en France) (Trtikova et al., 2017 ; Diaz et al., 2019 ; Le Corre et al., 2020). L'introggression de gènes de maïs a été démontrée pour les populations de téosintes françaises, celles-ci ayant introgressé spontanément un gène de résistance à un herbicide présent dans des variétés de maïs cultivées en France (Le Corre et al., 2020).

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire prenne davantage en compte l'existence de populations de téosintes considérées comme adventives dans l'Union européenne et analyse la possibilité d'introggression de gènes du maïs MON94804 dans la téosinte, documentée dans la littérature scientifique.**

## **1.2. Caractérisation moléculaire**

### **1.2.1. Informations concernant la modification génétique**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

### **1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée**

Les analyses moléculaires relatives à l'expression du micro-ARN GA20ox-SUP (miRNA), des ARNm ciblés par ce dernier (ZmGA20ox3 et ZmGA20ox5) et le dosage de deux gibbérellines, GA1 et GA4, ont été effectuées par le pétitionnaire à partir d'échantillons de tissus et de grains de maïs MON94804 récoltés lors d'essais en serre, à différents stades de développement.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que les essais en serre sont réalisés dans des conditions environnementales contrôlées. Dans ce cadre, l'expression des gènes et la synthèse du miRNA et des gibbérellines par le maïs MON94804 pourraient ne pas être représentatives des conditions de culture au champ de ce maïs. De plus, le fond génétique dans lequel a été placé l'événement MON94804 et celui du témoin isogénique ne sont pas indiqués dans les rapports d'analyse du dossier.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que les analyses moléculaires et le dosage de gibbérellines soient également effectués sur des échantillons de maïs MON94804 cultivés au champ sur différents sites, et ainsi réalisés de façon similaire aux analyses de composition présentées dans le dossier, afin d'augmenter la variabilité des conditions environnementales auxquelles peut être contraint le maïs MON94804 en conditions de culture. Il demande également que le pétitionnaire renseigne le fond génétique utilisé pour le maïs MON94804 et celui du témoin utilisé, afin de pouvoir vérifier la validité des études.**

Le pétitionnaire présente une étude des effets « off-targets » potentiels du miRNA, exclusivement sur le transcriptome du maïs, par analyse bio-informatique.

**En considérant que le miRNA pourrait résister aux processus de transformation alimentaire et aux barrières gastro-intestinales de l'Homme ou de l'animal consommateur de ce maïs (del Pozo-Acebo et al., 2021) ou encore de l'insecte qui y serait exposé, (Wang et al., 2017 ; Jia et al., 2015 ; Sattar et al., 2012) le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande une analyse complémentaire des effets hors-cibles (off-targets) par alignement de séquences du miRNA ou de sa séquence cible, avec des bases de données de transcriptomes de l'homme, des insectes et de l'animal consommateur de maïs (fourrage et/ou grains). Les analyses *in silico* (marche nucléotide par nucléotide) devront tenir compte d'identités partielles (de 1 à 4 mis-appariements). En cas d'identification de cibles potentielles, le pétitionnaire devra présenter les identités et les fonctions biologiques potentielles des cibles.**

Le pétitionnaire argumente l'efficacité du miRNA par une étude en northern blot qui identifie la diminution d'expression des deux gènes ciblés, ZmGA20ox3 et ZmGA20ox5, dans le maïs MON94804.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère qu'en dehors de l'effet du miRNA sur l'expression des deux gènes, la teneur réduite en gibbérellines recherchée dans le maïs MON94804 est aussi susceptible d'avoir des effets sur l'expression du transcriptome du maïs. En conséquence, la seule recherche de la diminution d'expression des deux gènes ciblés est jugée insuffisante.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire présente une analyse du transcriptome du maïs MON94804 afin d'identifier des régulations potentielles des gènes**



Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-10651  
Saisine n° 2023-SA-0096

**associées à la teneur réduite en gibbérellines dans la plante. Cette recherche devra se faire dans toutes les parties du maïs MON94804, dont celles où le miRNA est exprimé (tige notamment).**

Le pétitionnaire présente une étude comparative du dosage des gibbérellines actives GA1 et GA4 dans les tissus du maïs MON94804 et de son témoin isogénique HCL301 x HCL617.

Le GT « Biotechnologie » relève l'absence d'un dosage de certains précurseurs de la voie de biosynthèse des gibbérellines actives GA1 et GA4 par le pétitionnaire (par exemple les gibbérellines GA12, GA53, GA3, GA7 et GA44 et d'autres métabolites précurseurs, tel que l'acide kaurénoïque), qui permettrait de mettre en évidence une modification de composition ou une modification métabolique consécutive à la diminution de l'expression des GA 20-oxidases codées par les gènes ZmGA20ox3 et ZmGA20ox5. La connaissance d'une bioaccumulation d'un composé dans les tissus végétaux ou d'un avantage donné à une autre voie métabolique pourraient informer sur des dosages à effectuer afin de compléter l'analyse de composition du maïs MON94804 par la recherche de composés spécifiques en plus de ceux présents dans le document consensus de l'OCDE (OCDE, 2002).

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire complète son étude comparative du dosage des gibbérellines GA1 et GA4 dans les tissus du maïs MON94804 et de son témoin isogénique par un dosage des gibbérellines GA12, GA53, GA3, GA7 et GA44, de l'acide kaurénoïque et d'autres précurseurs potentiellement bioaccumulés à identifier.**

1.2.3. Informations complémentaires concernant la plante génétiquement modifiée vis-à-vis des aspects de sécurité environnementale  
Autres informations (par exemple informations complémentaires sur les événements simples ou les sous-combinaisons dans le cadre des dossiers sur des PGM à événements empilés)

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §1.2 concernant la caractérisation moléculaire.**

### **1.3. Analyse comparative**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

### **1.4. Toxicologie**

1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Le maïs MON94804 n'exprime pas de nouvelles protéines.

1.4.2. à 1.4.3.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.4.4. Analyse de l'aliment (denrée alimentaire ou aliment pour animaux) génétiquement modifié entier

Une étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat a été menée en 2021-2022 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (2018) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), sur trois groupes de 16 rats mâles et 16 rats femelles, avec deux doses de maïs GM dans l'aliment testé (33% et 50% de grains moulus de maïs MON94804) et un régime alimentaire témoin qui contient 50 % de maïs isogénique non GM.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-10651  
Saisine n° 2023-SA-0096

Les résultats de cette étude montrent une très grande variabilité des teneurs en TSH, notamment chez les femelles, avec des valeurs de dosage comprises entre 208 pg/ml et 3409 pg/ml.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses constate que la comparaison des valeurs moyennes en TSH chez les mâles et chez les femelles entre les différents régimes et la mise en évidence, non discutées par le pétitionnaire, de kystes thyroïdiens chez 3 mâles et 4 femelles nourris avec la dose à 50 % de grains moulus de maïs MON94804 (contre 2 mâles et 3 femelles du groupe contrôle et aucun animal du groupe faible dose), laissent suspecter un effet dose-dépendant du régime à base de maïs MON94804.

De plus, le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que l'absence des résultats de dosage en TSH chez 5 rats mâles et 5 rats femelles, non argumentée par le pétitionnaire, diminue la puissance statistique de cette étude et ne permet pas l'interprétation de ces résultats.

Enfin, les données historiques présentées par le pétitionnaire concernant les dosages en TSH portent seulement sur une année et les dosages obtenus pour les animaux des deux sexes sont regroupés. Le GT considère que ces données historiques sont incomplètes et ne permettent pas de s'y référer.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire :**

- explique la variation biologique interindividuelle des teneurs en TSH,
- précise les caractéristiques de la méthode de dosage « Luminex Bead-Based (TSH) assay » (sensibilité, répétabilité, variabilité et standard de référence) ;
- explique la présence de kystes thyroïdiens observés chez plusieurs rats ;
- justifie l'absence des résultats de dosages de TSH pour 10 rats ;
- complète les données historiques relatives au dosage en TSH en distinguant les valeurs moyennes pour les mâles et pour les femelles d'une part, et en élargissant la période de recueil des données à 5 ans d'autre part.

Le pétitionnaire mentionne, au niveau du résultat des observations macroscopiques réalisées à l'issue de l'étude, la présence de kystes ovariens retrouvés chez 1/16 femelles du groupe forte dose (50 % de grains moulus de maïs MON94804) et 2/16 femelles du groupe faible dose (33 % de grains moulus de maïs MON94804). Il argumente la présence de ces derniers comme un résultat accidentel justifié par une incidence de 1,12 % à 16,67 % pour les études individuelles au niveau des données historiques de cette même souche de rats, et non lié à l'administration du régime contenant le maïs GM. Il indique également l'absence d'autres effets observés sur les ovaires au niveau macroscopique ou microscopique, et l'absence de résultats cliniques indiquant des effets sur la reproduction.

En contradiction avec les arguments du pétitionnaire, le GT « Biotechnologie » relève, en complément de ces observations macroscopiques, la présence de kystes folliculaires retrouvés au niveau des observations microscopiques sur une seconde femelle du groupe « forte dose » ainsi que sur deux autres femelles du groupe témoin.

**Afin d'écartier toute suspicion d'un dysfonctionnement hormonal qui pourrait être induit par l'exposition alimentaire des rongeurs au maïs MON94804 dans l'étude de toxicité présentée, le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire :**

- réalise des dosages hormonaux : œstradiol, tel que recommandé au cas par cas par l'OCDE (ligne directrice 408) et progestérone.
- précise les valeurs d'incidence indiquées concernant les données historiques

Le calcul de puissance présenté par le pétitionnaire est de plus considéré non valide par le «GT « Biotechnologie » : il s'appuie sur seulement huit paramètres biologiques et les tailles d'effets cibles ne sont pas jugées appropriées (par exemple 200% pour le cholestérol, 100% pour la phosphatase alcaline ou 50% pour la créatinine). Pour information, l'US EPA (2002) indique que de manière générale, les tailles d'effets doivent être comprises entre 10 et 25%.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire présente un calcul de puissance approprié.**

1.4.5. Conclusion de l'évaluation toxicologique

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §1.4 concernant l'évaluation toxicologique.**

**1.5. Évaluation de l'allergénicité**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses

**1.6. Évaluation nutritionnelle**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses

**2. Évaluation de l'exposition - Préviation de la quantité consommée ou de l'étendue de l'utilisation**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

**3. Caractérisation des risques**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

**4. Surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié(e) consécutive à sa mise sur le marché**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

**5. Évaluation des risques pour l'environnement (ERE)**

5.1. Introduction

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

5.2. Approche globale de l'ERA

Le pétitionnaire affirme, concernant la dispersion involontaire des grains importés sur les sites d'importation, de stockage et de transport, qu'il est peu probable que les conditions environnementales de ces sites soient propices à la germination, à la croissance et à la reproduction du maïs destiné à l'alimentation humaine et animale.

Le GT « Biotechnologie » considère que l'analyse du risque de dispersion involontaire lors de l'importation, du déchargement, et du transport de grains de maïs entre les ports d'importation et les sites de stockage ou de transformation devrait être davantage détaillée en prenant en compte les données de la littérature. Des plants de maïs transgéniques issus de la dispersion involontaire de grains lors de leur transport depuis les ports d'importation ont été observés en Corée du Sud (Lee et al., 2009 ; Park et al., 2009 ; Han et al. ; 2014) ainsi que dans une zone portuaire en Autriche (Pascher, 2016).

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de mieux prendre en compte le risque de dispersion involontaire de grains de maïs MON94804 suite à une importation, en particulier lors des opérations de transport et de stockage, en s'appuyant sur la littérature scientifique existante.**

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-10651  
Saisine n° 2023-SA-0096

### 5.3. Domaines spécifiques de risque

#### 5.3.1. Persistance et caractère envahissant y compris le « flux de gènes » de plante à plante

Le pétitionnaire 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 français.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande 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, dans l'Union européenne, de grains issus de plantes génétiquement modifiées.**

Le risque de dispersion des transgènes par un croisement avec des populations européennes de téosintes aurait dû être abordé de façon plus détaillée par le pétitionnaire sur la base de la littérature existante. La distribution géographique des populations de téosintes européennes se situe actuellement au niveau de deux régions (Aragon et Catalogne en Espagne et nord de la région Nouvelle-Aquitaine en France) (EFSA 2016 ; 2022).

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire considère le risque de flux de gènes du maïs MON94804 vers des populations de téosintes présentes dans les environnements récepteurs de l'Union européenne.**

#### 5.3.2. Transfert de gènes de plante à micro-organisme

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

#### 5.3.3. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes cibles

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

#### 5.3.4. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes non-cibles

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

#### 5.3.5 à 5.3.7.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

#### 5.3.8. Evaluation globale du risque et conclusions

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande de se référer aux conclusions des sections précédentes concernant l'évaluation du risque environnemental.**

## 6. Plan de surveillance des effets sur l'environnement

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

## 7. Informations complémentaires sur l'innocuité de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifiés

### 7.1. Études publiées dans la littérature scientifique

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2012-2022, dont il détaille les modalités et les résultats dans un rapport. La question formulée est la suivante : "Does MON 94804

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-10651  
Saisine n° 2023-SA-0096

*maize, derived food/feed products and the introduced short stature trait have adverse effects on human and animal health and the environment?*". Suite à la recherche dans les bases de données, aucune publication n'est retenue parmi les 975 identifiées (302 issues de base de données et 673 de sites internet d'organisation évaluées comme pertinentes). Les critères d'inclusion pour la sélection des articles ne sont pas décrits.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que la recherche bibliographique appliquée pour cette analyse de la littérature soit moins restrictive et que les articles concernant le trait recherché (taille raccourcie chez les céréales) soient retenus pour analyse.**

### 7.2. Autres informations complémentaires

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

### Références

Del Pozo-Acebo L, López de Las Hazas MC, Margollés A, Dávalos A, García-Ruiz A. Eating microRNAs: pharmacological opportunities for cross-kingdom regulation and implications in host gene and gut microbiota modulation. *Br J Pharmacol.* 2021 Jun;178(11):2218-2245. doi: 10.1111/bph.15421

Díaz A Taberner A, Vilaplán L (2020) The emergence of a new weed in maize plantations: characterization and genetic structure using microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 67, 225–239. doi.org/10.1007/s10722-019-00828

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

EFSA (2022) Statement on the update of environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations of EFSA (2016) on EU teosinte. *EFSA Journal* 20(4):7228, 40pp. doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7228

Han SM, Kim DY, Uddin MR, Hwang KS, Lee B, Kim CG, Park KW (2014). Appearance/instance of genetically modified maize at grain receiving harbors and along transportation routes in Korea. *Weed Turfgrass Science* 3, 221–224. doi:10.5660/WTS.2014.3.3.221

Hofmann F, Otto M, Wosniok W (2014) Maize pollen deposition in relation to distance from the nearest pollen source under common cultivation—results of 10 years of monitoring (2001 to 2010). *Environ. Sci. Eur.* 26, 24. doi.org/10.1186/s12302-014-0024-3

Jia, L.; Zhang, D.; Xiang, Z.; He, N. (2015) Nonfunctional ingestion of plant miRNAs in silkworm revealed by digital droplet PCR and transcriptome analysis. *Sci. Rep.*, 5, 12290. doi: 10.1038/srep12290

Le Corre V, Siol M, Vigouroux Y, Tenaillon MI, Délye C (2020) Adaptive introgression from maize has facilitated the establishment of teosinte as a noxious weed in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 117, 25618–25627. doi.org/10.1073/pnas.2006633117

Lee B, Kim CG, Park JY, Park KW, Kim HJ, Yi H, et al. (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified soybean and maize in cultivated fields and along the transportation routes of the Incheon Port in South Korea. *Food Control* 20, 250–254. doi: 10.1016/j.foodcont.2008.05.006

Lu J, Lu J, He L (2019) Modeling and estimation of pollen-mediated gene flow at the landscape scale. *Ecological Indicators* 106, 105500. doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105500

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-10651  
Saisine n° 2023-SA-0096

OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development). 2018. Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, Éditions OCDE, Paris, doi.org/10.1787/9789264070707-en

OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development), 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, ENV/JM/MONO (2002)25, 1-42

Park KW, Lee B, Kim CG, Kim DY, Park JY, Ko EM, Jeong SC, Choi KH, Yoon WK, Kim HM (2009) Monitoring the occurrence of genetically modified maize at a grain receiving port and along transportation routes in the Republic of Korea. Food Control 21, 456–461. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.07.006

Pascher K (2016) Spread of volunteer and feral maize plants in Central Europe: recent data from Austria. Environmental Sciences Europe 28 : 30. DOI 10.1186/s12302-016-0098-1

Sattar, S.; Addo-Quaye, C.; Song, Y.; Anstead, J.A.; Sunkar, R.; Thompson, G.A. (2012) Expression of small RNA in *Aphis gossypii* and its potential role in the resistance interaction with melon. PLoS ONE, 7, e48579. doi.org/10.1371/journal.pone.0048579

Trtikova M, Lohn A, Binimelis R, Chapela I, Oehen B, Zemp N, Widmer A, Hilbeck A (2017) Teosinte in Europe—searching for the origin of a novel weed. Scientific Reports 7, 1560. doi.org/10.1038/s41598-017-01478

US EPA (U.S Environmental Protection Agency). 2002. Guidelines for Ensuring and Maximizing the Quality, Objectivity, Utility, and Integrity of Information Disseminated by the Environmental Protection Agency

Wang, H.; Zhang, C.; Dou, Y.; Yu, B.; Liu, Y.; Heng-Moss, T.M.; Lu, G.; Wachholtz, M.; Bradshaw, J.D.; Twigg, P.; et al. (2017) Insect and plant-derived miRNAs in greenbug (*Schizaphis graminum*) and yellow sugarcane aphid (*Sipha flava*) revealed by deep sequencing. Gene, 599, 68–77. doi.org/10.1016/j.gene.2016.11.014