

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 16 avril 2020

**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 MON87429  
développé pour être tolérant à plusieurs herbicides (glufosinate-ammonium, dicamba,  
quizalofop, 2,4-D et glyphosate) et comporter un système de stérilité mâle inductible  
par le glyphosate afin de faciliter l'obtention d'hybrides, pour l'importation, la  
transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM  
(dossier n° EFSA-GMO-NL-2019-161)**

---

*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 22 janvier 2020 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) 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 MON87429 développé pour être tolérant à plusieurs herbicides (glufosinate-ammonium, dicamba, quizalofop, 2,4-D et glyphosate) et comporter un système de stérilité mâle inductible par le glyphosate afin de faciliter l'obtention d'hybrides, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2019-161).

## **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 issus de plantes génétiquement modifiées et de rendre un avis à la Commission Européenne. L'EFSA a cependant offert la possibilité aux États membres de faire connaître leurs observations sur les dossiers initiaux. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

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 effectuée par le Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie », réuni les 19 février et 9 avril 2020, sur la base de rapports initiaux rédigés par cinq rapporteurs. Elle a été conduite en se basant sur les documents guides du panel GMO de l'EFSA (2006, 2011) ainsi que sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT « Biotechnologie ».

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 de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT

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

### PARTIE I - INFORMATIONS GÉNÉRALES

Le maïs est une culture des zones tempérées à tropicales. En 2017 (FAOStat<sup>1</sup>), les dix premiers pays producteurs étaient les USA, la Chine, le Brésil, l'Argentine, l'Inde, l'Indonésie, le Mexique, l'Ukraine, l'Afrique du Sud et la Roumanie, qui représentaient environ 81 % de la production mondiale. Cette production était de 1 134 746 667 tonnes pour une surface cultivée de 197 185 936 hectares (dont 64 706 588 tonnes pour une surface cultivée de 8 439 542 hectares dans l'Union européenne, FAOStat<sup>1</sup>) et 29 % du maïs cultivé était génétiquement modifié (ISAAA<sup>2</sup>, 2018).

Les plantes sont récoltées entières avant la maturité complète des grains pour produire du fourrage ou de l'ensilage destiné à l'alimentation animale, ou bien sous forme de grains mûrs utilisés 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 de maïs contient des substances antinutritionnelles (acide phytique, DIMBOA<sup>3</sup>, inhibiteurs de trypsine et de chymotrypsine, raffinose).

Le maïs MON87429 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes *pat*, *dmo*, *ft-t* et *cp4 epsps* codant respectivement :

- une phosphotransférase N-acétyltransférase (protéine PAT). Elle confère à la plante la tolérance au glufosinate-ammonium en l'acétylant en N-acétyl-glufosinate (NAG), métabolite non phytotoxique,
- une dicamba O-déméthylase (protéine DMO). Elle catalyse la déméthylation du dicamba<sup>4</sup> en 3,6-dichlorosalicylic acid (DCSA) et formaldéhyde. Le DCSA n'est pas phytotoxique,
- une R-2,4-dichlorophenoxypropionate dioxygénase modifiée (protéine FT-T). Elle catalyse une réaction de dioxygénation en présence d'alpha-cétoglutarate et d'oxygène pour métaboliser soit le quizalofop (FOP) en pyruvate et quizalofop phénol (forme inactive de

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

<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

<sup>4</sup> 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid

l'herbicide), soit le 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) en acide glyoxylique et 2,4-dichlorophénol (2,4-DCP) (forme inactive de l'herbicide). Du succinate et du CO<sub>2</sub> sont également produits par cette réaction d'oxygénation.

- une 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase d'*Agrobacterium sp.* souche CP4 (protéine CP4 EPSPS). En comparaison de l'EPSPS endogène du maïs, la CP4 EPSPS présente une affinité réduite pour le glyphosate, conférant à la plante son caractère de tolérance à cet herbicide. L'ajout d'une séquence de régulation dans la cassette d'expression *cp4epsps* conduit à une dégradation tissu-spécifique des transcrits CP4 EPSPS et de ce fait, à l'absence de la protéine dans les tissus mâles du maïs. Le maïs MON87429 devient alors mâle stérile suite à un traitement avec du glyphosate. La production d'hybrides est ainsi facilitée.

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs MON87429. Il ne concerne pas sa mise en culture. Si ce maïs venait à être importé, il devrait satisfaire à la réglementation européenne relative aux limites maximales de résidus de produits phytopharmaceutiques.

## PARTIE II - INFORMATIONS SCIENTIFIQUES

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

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

La transformation génétique a été réalisée sur la variété de maïs (*Zea mays*) non transgénique LH244.

#### II.1.2. Caractérisation moléculaire

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

La transformation génétique a été effectuée à l'aide d'*Agrobacterium tumefaciens* sur des embryons de maïs.

Des embryons immatures de maïs ont été récoltés après pollinisation et co-cultivés avec la souche AB1 d'*Agrobacterium tumefaciens*, souche désarmée de son pouvoir pathogène, portant le vecteur PV-ZMHT519224 qui contient l'ADN-T et à l'extérieur de ce dernier, les gènes de virulence d'*A. tumefaciens* nécessaires au transfert de l'ADN-T dans les cellules végétales. Aucun plasmide assistant (helper) ni ADN entraîneur (carrier) n'a été utilisé pour la transformation.

Après cette co-culture, les embryons ont été transférés sur milieu sélectif contenant de la carbénicilline (élimination des *A. tumefaciens* résiduelles) et du glyphosate (sélection des cellules végétales transformées). Les cals transformés ont ensuite été transférés sur milieu germinatif puis dans un milieu permettant l'initiation des racines et des pousses afin d'aboutir à la différenciation de plantules (plantes R<sub>0</sub>). Enfin, la présence de l'ADN-T et l'absence de séquences du squelette plasmidique ont été démontrées dans les plantules R<sub>1</sub>, par analyses PCR et Southern blot.

Le plasmide PV-ZMHT519224 utilisé pour la transformation porte les quatre cassettes d'expression des gènes *pat*, *dmo*, *ft-t* et *cp4 epsps* entre les bordures gauche et droite d'un même ADN-T.

Le gène *pat* est une séquence codante d'une phosphinothricine N-acétyltransférase de *Streptomyces viridochromogenes*. La protéine PAT exprimée confère la tolérance au glufosinate-ammonium. Le gène *pat* est placé sous le contrôle de séquences promotrices du gène de l'ubiquitine d'*Erianthus ravennae Ubq* (promoteur, 5' UTR et séquences introniques) et de la région terminatrice du gène de la fructose-biphosphate aldolase (*Fba*) de *Setaria italica*.

Le gène *dmo* est une séquence codante d'une dicamba mono-oxygénase de *Stenotrophomonas maltophilia*. La protéine DMO exprimée confère une tolérance au dicamba. Le gène *dmo* dont la séquence codante a été optimisée pour l'expression chez le maïs, est placé sous le contrôle :

- de séquences promotrices du gène de l'ubiquitine de *Coix lacryma-jobi Ubq* (promoteur, 5' UTR et séquences introniques),
- de la séquence peptidique optimisée issue du gène d' « Albino and pale green 6 » (APG6) d'*Arabidopsis thaliana* permettant l'adressage de la protéine DMO dans le chloroplaste et
- de la région terminatrice du gène d'une protéine metallothionein-like (*OsMt*) de riz.

L'ajout d'une séquence peptidique d'adressage au chloroplaste est destiné à co-localiser la DMO avec des enzymes endogènes libérant les électrons nécessaires à l'activité de déméthylation.

Le gène *ft-t* est une séquence codante modifiée du gène codant une R-2,4-dichlorophenoxypropionate dioxygénase d'une bactérie du sol *Sphingobium herbicidovorans* (*Rdpa*). Des modifications génétiques génèrent une substitution de 30 acides aminés et cette nouvelle protéine est nommée FT-T. La protéine FT-T exprimée confère une tolérance au quizalofop (FOP) et au 2,4-D. Le gène *ft-t* est placé sous le contrôle :

- de séquences promotrices du gène de l'ubiquitine d'*Arundo donax Ubq* (promoteur, 5' UTR et séquences introniques),
- de la séquence peptidique du gène de la malate déshydrogénase (*Mdh*) d'*Arabidopsis thaliana* permettant l'adressage de la protéine FT-T dans le chloroplaste et
- de la région terminatrice du gène de la protéine « no apical meristem » (*Nam*) de riz.

Le gène *cp4 epsps* contient une séquence codante optimisée d'une 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase d'*Agrobacterium sp.* souche CP4. La protéine CP4 EPSPS produite confère la tolérance au glyphosate. Le gène *cp4 epsps* est placé sous le contrôle :

- de séquences promotrices de l'ARN 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV),
- d'une séquence 5' UTR du gène de la protéine de liaison à la chlorophylle a/b du blé (*cab*),
- de séquences introniques du gène de l'actine 1 du riz (*act1*),
- de la séquence 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,
- d'une séquence 3' UTR modifiée d'un ADNc de maïs (201 pb) contenant une séquence cible de certains ARN interférents exprimés de façon endogène spécifiquement dans les tissus mâles et
- de la région terminatrice du gène de la protéine « glycine-rich RNA binding » (*Grp3*) du riz.

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

Le locus d'insertion et les séquences insérées présentes dans le génome du maïs MON87429 (génération R<sub>3</sub>) ont été caractérisés par séquençage de nouvelle génération et analyse des séquences de jonction (NGS/JSA). L'analyse des résultats obtenus montre une insertion unique de l'ADN-T dans le génome du maïs, sans séquence hors ADN-T.

Le séquençage ciblé des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert (environ 1000 pb de chaque côté) pour le maïs MON87429 et pour son témoin négatif LH244, lignée parentale non transgénique, mettent en évidence une identité de séquence de l'ADN-T en dehors des délétions de 31 pb de la bordure droite et de 29 pb de la bordure gauche au niveau du site d'insertion de l'ADN-T ainsi qu'une délétion de 54 pb du génome de maïs. L'absence de séquences issues du vecteur plasmidique (hors ADN-T) est confirmée.

Les analyses bioinformatiques des cadres ouverts de lecture (ORF) potentiels au niveau des jonctions et de l'ADN-T ne mettent en évidence aucune identité totale, globale ou locale avec des protéines toxiques ou allergéniques connues (2019). Ces analyses bioinformatiques localisent l'insertion de l'ADN-T sur le chromosome 8. Une séquence codante semble potentiellement

présente chez le maïs en 3' du site d'insertion mais les résultats d'analyses montrent que l'insertion de l'ADN-T ne conduit pas à une interruption de gène. L'insertion ne devrait donc pas avoir de conséquence physiologique.

La séquence 3' UTR de 201 pb issue du maïs, ajoutée à la séquence codante du gène *cp4 epsps*, est un élément régulateur (séquence cible) permettant la fixation sur les transcrits comportant cette séquence cible, de petits ARN interférents (ARNsi) synthétisés de façon endogène spécifiquement dans les tissus mâles de maïs et à partir d'un stade de développement donné. Dans le maïs MON87429, au-delà d'un stade de développement de la plante, cette fixation conduit donc à la dégradation des transcrits CP4 EPSPS uniquement dans les tissus mâles. Le pollen est alors non viable suite à un traitement avec du glyphosate. Le maïs MON87429 est tolérant au glyphosate et devient mâle stérile. Ces plantes sont destinées à des pollinisations croisées pour obtenir des hybrides plus aisément (Yang *et al.*, 2018).

La recherche d'effets non attendus liés à cette régulation d'expression endogène de la protéine CP4 EPSPS a été documentée par trois éléments :

- La recherche de petits ARN issus de la dégradation des transcrits CP4 EPSPS a été faite par northern blot à partir d'ARN de petites tailles isolés de différents tissus et à différents stades de développement du maïs MON87429 et d'un maïs témoin. Ces northern blot ont été hybridés avec différentes sondes couvrant la séquence *cp4epsps* (sauf la séquence cible des ARNsi de 201 pb). Cette étude n'identifie pas de petits ARN issus de la dégradation des transcrits CP4 EPSPS quel que soit l'échantillon testé.
- Une recherche bioinformatique a été réalisée avec la séquence de 201 pb (séquence cible des ARNsi ajoutée à *cp4 epsps*) afin d'identifier les transcrits endogènes « cibles potentielles » de ces ARNsi. Les transcrits présentant une identité de séquences sur 21 pb consécutives à la cible de 201 pb codent des « Serine-domain containing serine and sphingolipid biosynthesis proteins ».
- Le niveau d'expression de ces transcrits endogènes a été évalué par « transcription inverse PCR » dans le maïs MON87429, le maïs témoin et dans 4 variétés conventionnelles afin de savoir si l'utilisation de la séquence de 201 pb pour réguler spécifiquement l'expression du gène *cp4 epsps* impacte l'expression des gènes cibles des ARNsi. Cette étude fonctionnelle montre que le niveau d'expression des gènes endogènes « cibles potentielles » des ARNsi varie entre les différentes variétés témoins et reste dans cette gamme de variation chez le maïs MON87429.

Les caractéristiques des 4 protéines nouvellement exprimées sont :

- En dehors du clivage post-traductionnel de la méthionine en N terminal, la protéine PAT produite dans le maïs MON87429 est identique à la protéine PAT de *Streptomyces viridochromogenes*.
- La séquence peptidique issue du gène *Agp6* est clivée au moment de l'adressage dans le chloroplaste ce qui permet de libérer la protéine DMO. Le clivage des séquences de localisation aux chloroplastes ou CTP (Chloroplast Transit Peptide) peut conduire à l'existence de plusieurs isomorphes d'une protéine. Les données de séquençage des extrémités N terminales des protéines DMO présentes dans le maïs MON87429 révèlent l'existence de deux isomorphes de DMO différant d'un seul acide aminé, une cystéine issue du peptide APG6. Les deux protéines DMO du maïs MON87429 possèdent également une leucine supplémentaire en position 2 par rapport à la DMO de *Stenotrophomonas maltophilia*. Ces ajouts d'un ou de deux acides aminés à l'extrémité N terminale sont localisés en dehors du site catalytique de l'enzyme et sont probablement sans conséquence sur l'activité des enzymes DMO produites dans le maïs MON87429. Le terme « protéine DMO » regroupe les deux isomorphes.
- La protéine FT-T présente dans le maïs MON87429 est identique à la séquence en acides aminés correspondante au gène synthétique *ft-t* à laquelle s'ajoute en N terminale, une alanine, le dernier acide aminé de la séquence MDH.

- La protéine CP4 EPSPS est présente sous deux isomorphes dans le maïs MON87429. Un isomorphe est identique à la protéine EPSPS d'*Agrobacterium sp.* souche CP4 et le second est identique sauf pour la méthionine initiale qui est clivée. Le terme « protéine CP4 EPSPS » regroupe les deux isomorphes.

Les teneurs en protéines PAT, DMO, FT-T et CP4EPSPS ont été quantifiées dans les grains et le fourrage qui sont à l'origine des produits consommés en alimentation animale et humaine. Les maïs MON87429 ont été cultivés sur 5 sites aux USA en 2017 avec ou sans traitement avec 4 des herbicides d'intérêt (glufosinate-ammonium, dicamba, quizalofop, 2,4-D). Le glyphosate n'a pas été utilisé dans ces essais. Le fourrage est obtenu avec des plantes de la génération F<sub>1</sub> (LH244 x HCL617) au stade R5 (stade pâteux) et les grains des plantes de la génération F<sub>2</sub> (LH244 x HCL617) au stade R6 (stade mature). Les teneurs mesurées pour les 2 matrices sont corrigées en tenant compte d'un facteur d'efficacité d'extraction pour les 4 protéines.

**Tableau 1 : Teneurs en protéines exogènes dans le fourrage et les grains de maïs MON87429 traité ou non avec 4 herbicides d'intérêt (exprimées en µg/g de matière sèche)**

	Protéine exogène	PAT	DMO	FT-T	CP4EPSPS
Grains	Maïs non traité Moyenne (écart type)	0,97 (0,11)	2,5 (0,19)	55 (5,2)	0,62 (0,030)
	Maïs traité Moyenne (écart type)	0,86 (0,068)	2,4 (0,15)	51 (4,0)	0,67 (0,030)
Fourrage	Maïs non traité Moyenne (écart type)	1,5 (0,11)	23 (2,30)	110 (8,9)	8,6 (0,76)
	Maïs traité Moyenne (écart type)	1,3 (0,069)	21 (1,6)	100 (5,5)	8,2 (0,54)

Ces résultats ne vont pas dans le sens d'un effet du traitement avec les 4 herbicides sur le niveau d'expression des protéines exogènes. Néanmoins, à l'exception de CP4EPSPS dans les grains, la moyenne pour chaque protéine est inférieure pour les plantes traitées par comparaison avec les non traitées et surtout la variabilité est diminuée.

L'analyse de ségrégation de l'insert réalisée par PCR quantitative sur 3 générations (BC<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub> et BC<sub>3</sub>) permet de conclure que l'insertion est unique et à hérédité mendélienne. La stabilité génétique du locus GM du maïs MON87429 a été confirmée par NGS sur 5 générations (R<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>F<sub>1</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>4</sub>F<sub>1</sub> et R<sub>5</sub>).

#### II.1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

Les éléments présentés dans le dossier concernant la caractérisation moléculaire du maïs MON87429 ne soulèvent pas de question particulière liée à l'utilisation de ce maïs en alimentation animale ou humaine.

### II.1.3. Evaluation comparative

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

Le maïs MON87429 est comparé à l'hybride témoin isogénique (LH244 x HCL617). Dix-neuf maïs hybrides commerciaux non transgéniques ont été utilisés comme témoins dans les différents essais.

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

Le maïs MON87429, la variété témoin isogénique et les variétés commerciales (4 variétés par site) ont été cultivés en 2017 sur 8 sites aux USA pour l'analyse de composition et pour les caractéristiques phénotypiques et agronomiques. Ces sites sont indiqués comme représentatifs des zones de production de maïs. Chaque modalité (variété isogénique, variétés commerciales et variété génétiquement modifiée) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés. Pour la variété génétiquement modifiée, deux modalités sont réalisées : soit les plantes subissent les mêmes traitements que les variétés témoins, soit elles reçoivent en plus un traitement avec 4 des herbicides d'intérêt (glufosinate-ammonium, dicamba, quizalofop, 2,4-D). Le glyphosate n'a pas été utilisé dans ces essais. Le pétitionnaire indique que le traitement au glyphosate n'est mis en œuvre que pour la production d'hybrides. Les caractéristiques de ce plan d'expérience respectent les recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2011).

Des échantillons de grains et de fourrage ont été récoltés sur les 8 sites d'essais.

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition sont comparées à l'aide d'analyses de variance (ANOVA) réalisées avec un modèle linéaire à effets mixtes incluant :

- un effet fixe "génotype" (indiquant s'il s'agit du maïs MON87429 traité ou non avec 4 herbicides d'intérêt, de la variété témoin ou des variétés commerciales de référence),
- des effets aléatoires : "site", "bloc dans le site" et "variété commerciale".

Le modèle statistique utilisé, qui inclut un effet fixe "génotype" et un effet aléatoire "variété commerciale" correspond à celui proposé par le Panel GMO de l'EFSA (2010).

Les interactions génotype/site sont également analysées.

Le maïs MON87429 (traité ou non avec 4 des herbicides d'intérêt) est comparé à la variété témoin isogénique par des tests de différence 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'équivalence. Les résultats des tests statistiques sont interprétés selon l'approche décrite par le Panel GMO de l'EFSA (2010), en classant les variables en 4 catégories selon les résultats des tests d'équivalence et 7 types après combinaison avec les résultats des tests de différence.

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

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

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

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

Les mesures de 63 composés sur les 78 analysés sur les grains et le fourrage sont utilisables pour les analyses statistiques. Sur la base de ces résultats, l'analyse combinée de l'ensemble des 8 sites d'expérimentation montre que le maïs MON87429 (grains et fourrage) traité ou non avec 4 herbicides d'intérêt, est équivalent aux variétés commerciales de référence.

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

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 10 paramètres dont 9 sont utilisables pour les analyses statistiques.

A l'exception de la tolérance aux herbicides d'intérêt, le maïs MON87429 traité ou non apparaît équivalent aux variétés commerciales sur le plan agronomique et phénotypique.

#### II.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du maïs MON87429 ne devraient pas être différents de ceux issus de maïs conventionnels et ne présente aucune analyse des produits transformés.

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

Sur la base des éléments présentés dans le dossier, à l'exception de la tolérance aux 4 herbicides d'intérêt, le maïs MON87429 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence pour la composition des grains et du fourrage, ainsi que sur le plan agronomique et phénotypique.

### II.1.4. Toxicologie

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

Les quatre protéines exogènes PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS sont exprimées dans le maïs MON87429. Elles ne présentent pas d'identité de séquences globale ou locale avec des protéines toxiques ou allergiques avérées et répertoriées dans des bases de données actualisées (2019). Elles sont rapidement dégradées en conditions de protéolyse digestive simulées *in vitro*.

Les protéines PAT et DMO sont totalement inactivées à 55°C et les protéines FT-T et CP4 EPSPS à partir de 75°C. La dénaturation thermique de ces 4 protéines n'a pas été documentée à l'aide d'anticorps spécifiques par le pétitionnaire. Le GT « Biotechnologie » estime que ces informations devraient être fournies, en particulier pour la FT-T qui est une protéine qui n'a pas été évaluée précédemment.

Les teneurs en protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS dans les grains et le fourrage issus du maïs MON87429 traité ou non avec les herbicides d'intérêt figurent au chapitre II.1.2.1. Les protéines PAT, DMO et CP4 EPSPS sont présentes en faible quantité sauf dans le fourrage où la teneur en protéine DMO est de 21 ou 23 µg/g de matière sèche. Dans le maïs MON87429 traité ou non, les teneurs en protéine FT-T sont respectivement de 51 et 55 µg/g de matière sèche dans les grains et de 100 et 110 µg/g de matière sèche dans le fourrage.

Pour les protéines PAT, DMO et CP4 EPSPS, le pétitionnaire se base aussi sur un historique de consommation sûre. La présentation d'une synthèse des principaux résultats toxicologiques de ces 3 protéines serait souhaitable.

La protéine PAT présente dans le maïs MON87429 est semblable à celles présentes dans d'autres plantes génétiquement modifiées ayant fait l'objet d'autorisations de mise sur le marché. Le pétitionnaire renvoie aux évaluations réalisées par l'EFSA sur ces plantes et cite la référence Hérouet *et al.* (2005) pour documenter la sécurité de la protéine PAT.

La protéine DMO présente dans le maïs MON87429 est semblable à celles présentes dans d'autres plantes génétiquement modifiées ayant fait l'objet d'autorisations de mise sur le marché sauf au niveau de sa séquence N terminale (Wang *et al.*, 2016). La variabilité des séquences N terminales serait sans conséquence car en dehors des sites catalytiques de cette enzyme. La protéine DMO possède également des séquences et des structures de domaine catalytique communs avec des oxygénases bactériennes ou végétales.

Les protéines EPSPS sont présentes de façon ubiquitaire dans les plantes. Tout en conservant une structure et une fonction similaires à celles des enzymes EPSPS végétales endogènes, la protéine CP4 EPSPS possède une affinité réduite pour le glyphosate, conférant à la plante son caractère de tolérance à cet herbicide. La protéine CP4 EPSPS présente dans le maïs MON87429 est semblable à celles présentes dans d'autres plantes génétiquement modifiées ayant fait l'objet d'autorisations de mise sur le marché.



La protéine FT-T est une nouvelle protéine. Elle n'a jamais été utilisée dans la transformation de plantes génétiquement modifiées. La protéine RdpA (R-2,4-dichlorophenoxypropionate dioxygénase) dont la séquence a été modifiée pour conduire à une substitution de 30 acides aminés à l'origine de la protéine FT-T, fait partie de la superfamille de dioxygénases dépendantes de l'alpha-cétoglutarate. Cette famille de dioxygénases se retrouve dans de nombreux organismes vivants. Le pétitionnaire présente des recherches *in silico* et *in vitro* de molécules endogènes de maïs, potentiels substrats de l'enzyme FT-T. Ces études n'en identifient pas et confirment l'activité de l'enzyme FT-T sur les herbicides de type quizalofop et 2,4-D. Le GT « Biotechnologie » considère que la protéine FT-T étant une nouvelle protéine, une étude de toxicité par administration orale répétée pendant 28 jours chez le rongeur est nécessaire pour renseigner sa sécurité et doit être fournie par le pétitionnaire.

Le pétitionnaire indique que les activités et les cibles biologiques différentes des 4 protéines exogènes ne conduisent pas à supposer un mécanisme d'interactions potentielles entre ces protéines pouvant aboutir à des effets néfastes chez l'Homme ou l'animal. Le GT « Biotechnologie » juge insuffisant l'argumentaire présenté dans le dossier et estime que l'absence d'interactions doit être argumentée de manière plus approfondie. A défaut, une étude de toxicité répétée pendant 28 jours chez le rongeur avec le mélange des 4 protéines exogènes pourrait être réalisée.

#### II.1.4.2. Analyse des nouveaux constituants autres que les protéines

Le pétitionnaire ne fournit pas d'information sur la présence éventuelle de nouveaux constituants. Le pétitionnaire estime avoir démontré que la composition du maïs MON87429 est équivalente à celle de variétés de maïs conventionnelles et qu'il n'y a donc pas lieu d'analyser d'autres constituants.

#### II.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 MON87429.

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

Une étude de toxicité sub-chronique pendant 90 jours chez le rat a été menée en 2014 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (1998) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL). Les données brutes sous format électronique et le programme de calcul sont fournis.

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

- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée MON87429,
- 33 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée MON87429 auquel s'ajoute 17 % de maïs isogénique non génétiquement modifié LH244 x HCL617,
- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs isogénique non génétiquement modifié, LH244 x HCL617.

Le maïs MON87429 utilisé dans cette étude a été traité avec 4 des herbicides d'intérêt (glufosinate-ammonium, dicamba, quizalofop, 2,4-D). Le glyphosate n'a pas été utilisé pour produire les grains de maïs utilisés dans cette étude. 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 et les données historiques du centre investigateur sont présentées.

L'étude de toxicité subchronique conduite avec l'aliment complet chez le rat n'a pas permis de mettre en évidence d'effets toxiques imputables au traitement, dans les conditions de l'étude, ni de modifications macroscopiques ou histologiques imputables au traitement.

Le GT « Biotechnologie » considère que le calcul de puissance proposé par le pétitionnaire n'est pas valide. En effet, ce calcul n'est effectué que pour huit paramètres et les tailles d'effets choisies par le pétitionnaire sans qu'il les justifie (par exemple 200 % pour le cholestérol, 100 % pour la phosphatase alcaline ou 50 % pour la créatinine) ne sont pas considérées comme appropriées. Pour information, l'US EPA (2002) indique que de manière générale, les tailles d'effets doivent être comprises entre 10 et 25 %.

De plus, le GT « Biotechnologie » note une plus grande variabilité pour certains paramètres dans cette étude en comparaison des données historiques du centre investigateur, ce qui limite d'autant plus la puissance statistique de cette étude.

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

L'évaluation des éléments présentés sur la sécurité des protéines PAT, DMO et CP4 EPSPS ne met pas en évidence d'informations conduisant à suspecter un effet toxique sur la santé humaine et animale. Le GT « Biotechnologie » considère que la protéine FT-T étant une nouvelle protéine, une étude de toxicité par administration orale répétée pendant 28 jours chez le rongeur est nécessaire pour documenter sa sécurité et devrait être fournie par le pétitionnaire.

Le GT « Biotechnologie » n'est pas en mesure de se prononcer sur la sécurité du maïs MON87429 sur la base de l'étude de toxicité orale subchronique pendant 90 jours présente dans le dossier.

### II.1.5. Allergénicité

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

Le potentiel allergénique des protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS exprimées dans le maïs MON87429 a été évalué selon les critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'EFSA (2017), à savoir :

- l'innocuité de la source des protéines exprimées dans la plante génétiquement modifiée (*Streptomyces viridochromogenes* pour PAT, *Stenotrophomonas maltophilia* pour DMO, *Sphingobium herbicidovorans* pour FT-T et *Agrobacterium sp.* souche CP4 pour CP4 EPSPS),
- l'absence d'homologies de séquences entre les protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS avec des allergènes connus lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et 8 résidus,
- la dégradation des protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS par la pepsine et la trypsine dans des tests de digestions gastrique et intestinale simulées *in vitro*,
- la thermosensibilité des protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS. Toutefois, la dénaturation thermique de ces 4 protéines devrait être davantage documentée, en particulier pour FT-T,
- la faible teneur en protéines PAT, DMO et CP4 EPSPS exprimées dans le maïs MON87429.

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'identité de séquence entre les protéines PAT, DMO, FT-T, CP4 EPSPS et des toxines ou des protéines adjuvantes confirmées. Par ailleurs, les teneurs de ces protéines dans le maïs MON87429 et leur sensibilité aux protéases digestives sont *a priori* incompatibles avec un effet adjuvant significatif dans le cadre d'un apport alimentaire modéré en maïs génétiquement modifié MON87429.

La recherche de peptides immunotoxiques potentiels (non IgE-mediated adverse immune reactions to foods) ne met pas en évidence d'identité de séquence avec les peptides identifiés expérimentalement comme épitopes restreints capables de s'ancrer dans la corbeille du CMH-II des groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 et de déclencher une réponse immunotoxique. Toutefois, en introduisant des mis-appariements dans la recherche bioinformatique, deux peptides de la protéine PAT possédant la séquence ELPA homologue de la séquence ELPY de certains peptides DQ2-spécifiques sont identifiés. L'analyse du docking moléculaire de ces deux peptides dans la

corbeille des groupes HLA-DQ2 (code PDB 1S9V) et HLA-DQ8 (code PDB 4GG6) effectuée par le GT « Biotechnologie » montre que l'ancrage de ces peptides n'est que partiel et n'est pas susceptible de déclencher une réponse immunotoxique.

Les quatre protéines exprimées dans le maïs MON87429, PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS, satisfont globalement aux différents critères d'évaluation de l'allergénicité proposés par l'EFSA et peuvent donc être considérées comme étant peu allergéniques.

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

Le pétitionnaire rappelle, à juste titre, que le maïs n'est pas considéré comme un aliment allergénique majeur. Il ne figure pas dans la liste des allergènes dont l'étiquetage est obligatoire. Par ailleurs, aucune des informations disponibles au sujet du maïs MON87429 ne laisse supposer que ce maïs puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de maïs conventionnelles.

#### II.1.5.3. Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

Sur la base des données et des commentaires fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique des protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS exprimées dans le maïs MON87429 peut être considéré comme faible. Par ailleurs, ces protéines n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes.

Enfin, l'allergénicité du maïs MON87429 reste vraisemblablement identique à celle d'un maïs conventionnel.

#### II.1.6. Evaluation nutritionnelle

Le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation nutritionnelle, estimant avoir démontré l'équivalence de composition entre le maïs MON87429 et les variétés de maïs conventionnelles.

## II.2 Évaluation de l'exposition - Prévision de la quantité consommée ou de l'étendue de l'utilisation

Le pétitionnaire présente des évaluations des expositions alimentaires au maïs MON87429 pour l'animal et l'Homme.

L'estimation de la consommation journalière des protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS chez l'animal est fondée sur les données de l'OCDE (2009) relatives à la consommation de maïs par les animaux d'élevage, les teneurs moyennes et maximales en protéines de tous les aliments issus du maïs MON87429 (grain, « gluten feed », « gluten meal » et ensilage) et un scénario du pire cas. Dans ces conditions, les apports journaliers les plus élevés sont obtenus chez les vaches laitières. Ces scénarios correspondraient à une ingestion maximale de 153 µg/kg p.c./jour de protéine PAT (0,003 % de l'ingéré protéique), 1077 µg/kg p.c./jour de protéine DMO (0,02 % de l'ingéré protéique), 9125 µg/kg p.c./jour de protéine FT-T (0,2 % de l'ingéré protéique) et de 317 µg/kg p.c./jour de protéine CP4 EPSPS (0,006 % de l'ingéré protéique).

Le GT « Biotechnologie » estime que le pétitionnaire aurait dû utiliser les données les plus récentes (OCDE 2013 au lieu d'OCDE 2009).

L'estimation de la consommation maximale des protéines PAT, DMO, FT-T et CP4 EPSPS par l'Homme est fondée sur l'utilisation de données d'exposition alimentaire aiguë présentes dans l'EFSA Comprehensive European Food Consumption Database<sup>5</sup>. Le GT « Biotechnologie » considère que cette démarche n'est pas informative pour estimer le risque associé à une consommation répétée de maïs MON87429.

<sup>5</sup> <http://www.efsa.europa.eu/en/datexfoodcdb/datexfooddb.htm>

### II.3 Caractérisation des risques

En l'absence d'études de toxicité et d'alimentarité réalisées sur des animaux de rente, le risque ne peut pas être caractérisé pour ces animaux.

Pour l'Homme, le pétitionnaire présente des calculs de marge de sécurité en se basant sur les données des études de toxicité aiguë chez la souris par administration orale unique des 4 protéines nouvellement exprimées et de données d'exposition alimentaire aiguë. Le GT « Biotechnologie » considère que cette démarche n'est pas adaptée, car elle ne permet pas d'estimer le risque associé à une consommation chronique de produits issus du maïs MON87429. Il serait plus pertinent de calculer une marge de sécurité à partir de la dose sans effet néfaste observé (NOAEL<sup>6</sup>) pouvant être déduite de l'étude de toxicité orale subchronique chez le rat par administration répétée pendant 90 jours plutôt que de déduire des NOAEL à partir d'études de toxicité aiguë et d'utiliser des données d'exposition alimentaire chronique.

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

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

### II.7 Informations complémentaires sur la sécurité des denrées et des aliments pour animaux génétiquement modifiés

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2009-2019, dont il détaille les modalités et les résultats dans un rapport. Il indique avoir suivi les recommandations de l'EFSA (2019) pour procéder à cette revue systématique de la littérature.

La formulation de la question, la recherche par mots clés, les combinaisons des termes et les opérateurs booléens sont appropriés.

Les deux bases de données utilisées par le pétitionnaire sont pertinentes et couvrent les domaines scientifiques nécessaires à la revue systématique du maïs MON87429. La recherche a également porté sur des avis scientifiques provenant de 8 agences sanitaires<sup>7</sup>. La recherche a permis d'identifier 1913 références, parmi lesquelles une seule publication a été jugée pertinente par le pétitionnaire. Les auteurs de cette publication sont affiliés au pétitionnaire. Les critères d'inclusion pour la sélection des articles sont décrits mais jugés trop restrictifs par le GT « Biotechnologie » dans la mesure où ils se limitent au maïs MON87429, événement récent.

Le pétitionnaire a fait appel à 3 « reviewers » (1 « reviewer » interne et deux externes) pour conduire cette analyse de façon indépendante. Le GT « Biotechnologie » regrette que l'organisme d'appartenance des « reviewers » externes ne soit pas renseigné, ce qui ne permet pas de juger de leur niveau d'indépendance par rapport au pétitionnaire. Il n'est pas fait mention d'un test de cohérence d'analyse entre les 3 « reviewers ». Selon le pétitionnaire, cette revue de la littérature n'a pas mis en évidence de risque sanitaire pour la consommation humaine ou animale du maïs MON87429.

<sup>6</sup> No Observed Adverse Effect Level

<sup>7</sup> USDA, US FDA, CFIA, Health Canada, FSANZ, CTNBio, CONABIA, Japan MAFF

### **Conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie »**

La caractérisation moléculaire du maïs MON87429 ne soulève pas de question particulière liée à son utilisation en alimentation animale ou humaine.

A l'exception de sa tolérance aux herbicides (glufosinate-ammonium, dicamba, quizalofop, 2,4-D), le maïs MON87429 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence pour la composition des grains et du fourrage, ainsi que sur le plan agronomique et phénotypique.

Le potentiel allergénique des protéines nouvellement exprimées dans le maïs MON87429 peut être considéré comme faible. Par ailleurs, ces protéines n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes. L'allergénicité du maïs MON87429 reste vraisemblablement identique à celle d'un maïs conventionnel.

Le GT « Biotechnologie » n'est pas en mesure de se prononcer sur la sécurité du maïs MON87429 au regard des données toxicologiques présentées. Une étude de toxicité par administration orale répétée pendant 28 jours chez le rongeur est nécessaire pour renseigner la sécurité de la protéine FT-T et doit être fournie par le pétitionnaire. Concernant l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat, le GT « Biotechnologie » ne juge pas satisfaisant le calcul de puissance statistique. Il ne peut donc pas se prononcer sur cette étude.

## **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 constate ne pas pouvoir se prononcer sur la sécurité du maïs MON8742 compte tenu de l'absence dans le dossier de certaines données toxicologiques au regard des exigences du Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013.

Sachant que des études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier à la demande de l'EFSA, le contenu du présent avis ne préjuge pas des conclusions qui pourraient être rendues ultérieurement par l'Anses au vu d'un dossier complété pour répondre pleinement aux exigences du Règlement européen.

Dr Roger Genet

## MOTS-CLES

OGM, maïs MON87429, tolérance à des herbicides, glufosinate-ammonium, dicamba, quizalofop, 2,4-D, glyphosate, PAT, DMO, FT-T, CP4 EPSPS

*GMO, maize MON87429, tolerance to herbicides, glufosinate-ammonium, dicamba, quizalofop, 2,4-D, glyphosate, PAT, DMO, FT-T, CP4 EPSPS*

## BIBLIOGRAPHIE

EFSA GMO Panel. 2006. "Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed." EFSA Journal 99: 1-100.

EFSA GMO Panel. 2010. "Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs. The EFSA Journal 2010; 8(1): 1250.

EFSA GMO Panel. 2011. "Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants." EFSA Journal 9(5): 2150, 37 pp.

EFSA. 2017. "Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants". EFSA Journal 15: 1–49.

EFSA, 2019. "Explanatory note on literature searching conducted in the context of GMO applications for (renewed) market authorisation and annual post-market environmental monitoring reports on GMOs authorised in the EU market - Note on literature searching to GMO risk assessment guidance". EFSA journal, 2019:EN-1614, 1-62.

Hérouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, Debruyne E, Schultz A, Currier T, Hendrickx K, van der Klis R-J, 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.

ISAAA. 2018. "Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2018: Biotech Crops Continue to Help Meet the Challenges of Increased Population and Climate Change". ISAAA Brief No. 54. ISAAA: Ithaca, NY.

NF X50-110:2003 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

OCDE. 1998. "Essai n° 408: Toxicité orale à doses répétées - rongeurs: 90 jours", Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Editions OCDE, Paris.

OCDE. 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 No. 6. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).

OCDE. 2009. "Guidance Document on overview of Residue chemistry studies (as revised in 2009)." ENV/JM/MONO(2009)31, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France), 1-93.

OCDE. 2013. "Guidance Document on Residues in Livestock." Series on Pesticides, No. 73. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).

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 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.

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

Wang C., Glenn K. C., Kessenich C., Bell E., Burzio L. A., Koch M. S., Li B., Silvanovich A. 2016. "Safety assessment of dicamba mono-oxygenases that confer dicamba tolerance to various crops". *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 81, 171-182.

Yang H, Qi Y, Goley ME, Huang J, Ivashuta S, Zhang Y, Sparks OC, Ma J, van Scoyoc BM, Caruano-Yzermans AL, King-Sitjes J, Li X, Pan A, Stoecker MA, Wiggins BE, Varagona MJ. 2018. "Endogenous tassel-specific small RNAs-mediated RNA interference enables a novel glyphosate-inducible male sterility system for commercial production of hybrid seed in *Zea mays* L." *PLoS One*, 13, 1-17.