

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 14 mars 2025

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 soja génétiquement
modifié MON 94637 développé pour être résistant à certains lépidoptères, pour
l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine
et animale de cet OGM**

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 16 mai 2024 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 (AMM), au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, du soja génétiquement modifié MON 94637 développé pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier de la Commission européenne n° GMFF-2023-21116) ».

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 auprès de la Commission européenne. L'EFSA permet cependant aux États-membres de faire connaître leurs observations sur l'ensemble du dossier de demande d'AMM validé par ses services. Dans ce

cadre, la DGAI en tant qu'autorité compétente nationale sur ces demandes, 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.

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 soja MON 94637. Il ne concerne pas sa mise en culture.

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

Il convient de rappeler que, comme toutes les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et les aliments destinés à l'alimentation animale dans l'Union européenne (UE), ce soja et ses dérivés ou transformés seraient notamment soumis à une limite maximale pour les résidus (LMR) de produits phytopharmaceutiques, afin de protéger la santé humaine et animale (Règlement (CE) n°396/2005).

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 (janvier 2024) ». L'expertise collective a été réalisée par le GT PGM réuni le 13 juin, 9 juillet et 15 octobre 2024, sur la base de rapports initiaux rédigés par neuf 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 PGM.

Dans une première phase, les commentaires et observations retenus par le GT PGM sur le dossier initial ont été validés lors de la réunion du 9 juillet 2024 et transmis à la DGAI le 27 juillet 2024 (voir annexe), afin de permettre aux autorités françaises de participer à la consultation des États-membres organisée par l'EFSA.

Dans une seconde phase, cette synthèse du GT PGM a été examinée et validée lors des réunions du 15 octobre et 21 novembre 2024.

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 PGM

1. Identification et caractérisation des dangers

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

Le soja est une plante protéagineuse annuelle appartenant à la famille des Fabacées. Il est essentiellement cultivé dans les régions tempérées à subtropicales. En 2022, les premiers pays producteurs de soja étaient le Brésil, les USA, l'Argentine, la Chine, l'Inde, le Canada, la

Russie, le Paraguay, la Bolivie et l'Ukraine qui représentaient environ 97 % de la production mondiale. Cette dernière représentait environ 349 millions de tonnes de graines sur une surface récoltée de 134 millions d'hectares (FAOStat¹). En 2019, 74 % du soja cultivé dans le monde était génétiquement modifié (selon le rapport de l'ISAAA²).

La graine de soja est composée (en pourcentage de matière sèche) de protéines (jusqu'à 40 %) et de 20 % de lipides³. Les produits destinés à l'alimentation animale sont la graine après traitement à la chaleur, l'huile ou le tourteau délipidé et toasté. Les produits dérivés du soja destinés à l'alimentation humaine sont la farine, les protéines (isolats et concentrats), des corps gras et notamment de l'huile, de la margarine et des lécithines (émulsifiants utilisés dans de nombreux produits alimentaires). D'autres composés du soja comme les isoflavones et les tocophérols peuvent être utilisés dans des compléments alimentaires. La graine de soja contient des protéines identifiées comme allergènes, ainsi que des substances anti-nutritionnelles comme des facteurs antitrypsiques, des lectines, de l'acide phytique et des glucides de faible masse moléculaire (stachyose et raffinose).

En 2023, dans l'Union européenne, le soja était principalement cultivé en Italie, en Serbie, en France, en Roumanie et en Autriche, par ordre décroissant (Eurostat⁴, 2023). La culture du soja dans l'hémisphère nord se fait à partir du printemps puisqu'une température du sol supérieure à 10°C est nécessaire à la germination de ses graines. Les plantes se développent ensuite rapidement avec des températures entre 25 et 35°C. Un cycle de culture du soja dure entre 100 et 160 jours.

Dans son dossier, le pétitionnaire présente les caractéristiques de survie du soja et de ses graines dans l'environnement. Il indique que si des repousses avaient lieu dans l'Union européenne, elles seraient très probablement détruites par le gel durant l'automne ou l'hiver suivant⁵.

Le GT PGM souligne qu'une étude menée au Canada, dans l'état du Manitoba (climat continental à hivers froids), rapporte la présence de repousses de soja au printemps dans des parcelles cultivées. Ces repousses seraient issues des graines contenues dans les gousses qui restent attachées à la base des plantes ou tombent au sol après la récolte (Barteaux et Lamb, 2022).

Considérant les conclusions de l'étude de Barteaux et Lamb (2022), le GT PGM demande au pétitionnaire de prendre en compte la résistance des graines au froid, en hiver dans des conditions climatiques tempérées et continentales, comme une étape clé pour l'établissement et la propagation de plantes férales de soja génétiquement modifié (GM) sur le continent européen.

Les caractéristiques relatives à la dispersion des graines et du pollen du soja, à la pollinisation et au risque de flux de gènes de plante à plante sont précisées dans le chapitre relatif à l'évaluation des risques pour l'environnement (section 5.3.1) de cet avis.

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

² ISAAA, International service for the acquisition of agri-biotech applications : <https://www.isaaa.org/>

³ Ciqual Anses : <https://ciqual.anses.fr/>

⁴ Database - Eurostat : <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>

⁵ NDSU, North Dakota State University, 2020 : <https://www.ndsu.edu/agriculture/ag-hub/ag-topics/crop-production/crops/soybeans/evaluating-frost-damage-soybean>

1.2 Caractérisation moléculaire

1.2.1 Informations concernant la modification génétique

Le soja MON 94637 est issu d'une variété de l'espèce *Glycine max* (L.) Merr. qui a été génétiquement modifiée afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes :

- *cry1A.2*, issu de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, codant la toxine Cry1A.2. Cette protéine chimère est composée de quatre domaines dérivés des protéines Cry1Ac, Cry1Ah et Cry1Ca ;
- *cry1B.2*, issu de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, codant la toxine Cry1B.2. Cette protéine chimère est composée de quatre domaines dérivés des protéines Cry1Ab, Cry1Be et CryKa2.

Les protéines chimères Cry1A.2 et Cry1B.2 ont des structures tri-dimensionnelles semblables aux autres protéines de la famille Cry (Chen et al., 2021). Après ingestion par les insectes, ces protéines Cry s'associent en tétramères capables de créer des pores au niveau de l'épithélium intestinal des lépidoptères cibles entraînant leur mort. Les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 exprimées dans le soja MON 94637 confèrent donc une résistance à certains lépidoptères ravageurs du soja.

La transformation génétique à l'origine du soja MON 94637 a été réalisée avec le soja récepteur non transgénique de la variété A3555 et par la méthode médiée par *Agrobacterium tumefaciens*. Des méristèmes de soja A3555 ont été co-cultivés avec une souche d'*A. tumefaciens* contenant un vecteur portant deux séquences de transferts (ADN-T I et ADN-T II). L'ADN-T I contient les cassettes d'expression *cry1A.2* et *cry1B.2* et l'ADN-T II contient les gènes marqueurs et rapporteurs. Les explants ont été placés sur un milieu contenant de la spectinomycine, pour sélectionner les explants transgéniques, ainsi que trois antibiotiques (carbénicilline, céfotaxime, et ticarcilline), pour inhiber la croissance des bactéries *A. tumefaciens*. Les plantules transgéniques (R0) sont ensuite transférées en pot pour favoriser leur croissance. Après autopollinisation, les plantes de la génération résultante (nommées R1) ont été analysées pour sélectionner les sojas génétiquement modifiés sans ADN-T II et homozygotes pour l'ADN-T I. Le soja MON 94637 a ensuite été sélectionné pour ses caractéristiques agronomiques et pour son activité insecticide vis-à-vis des lépidoptères cibles.

1.2.2 Informations concernant la plante génétiquement modifiée

Les analyses bio-informatiques du séquençage du génome à haut débit (NGS, *Next Generation Sequencing*) de la plante de la troisième génération d'autofécondation (nommée génération R3) de MON 94637 confirment une insertion unique de l'ADN-T I. L'insertion est stable sur plusieurs générations consécutives (de R3 à R7) et l'analyse de ségrégation a confirmé les prédictions mendéliennes de transfert de caractères correspondant à une insertion unique de l'ADN-T I. Les analyses bio-informatiques n'indiquent pas d'insertion non désirée de séquences plasmidiques en dehors de l'ADN-T I dans le génome du soja MON 94637.

La séquence de l'ADN-T I insérée et ses régions flanquantes dans le génome du soja MON 94637 ont été caractérisées par séquençage d'amplicons produits par PCR. Les séquences des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert ont été comparées avec le génome du soja A3555 et révèlent une délétion de 14 pb d'ADN génomique au site d'insertion de l'ADN-T. Le pétitionnaire démontre qu'aucun gène endogène codant des protéines n'est présent aux sites

d'insertions. La séquence de l'ADN-T I insérée dans le soja MON 94637 est identique à la séquence plasmidique d'origine.

L'analyse de la synthèse des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans le soja MON 94637 a été effectuée à partir de graines, fourrage et fleurs du soja MON 94637 cultivé aux Etats-Unis en 2021. Les analyses par western blot ont identifié les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les fractions protéiques solubles et insolubles extraites du MON 94637.

Le GT PGM note la présence supplémentaire de protéines de masses moléculaires inférieures à la taille attendue des protéines nouvellement exprimées dans les fractions protéiques solubles extraites de fleurs et de fourrage pour Cry1B.2 et de fourrage et graines pour Cry1A.2.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de discuter de l'origine de ces protéines supplémentaires et d'évaluer si leur présence pourrait affecter la quantification des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les différentes parties du soja MON 94637, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2018).

Le pétitionnaire présente les teneurs en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 déterminées à l'aide de tests ELISA, dans différents tissus du soja MON 94637 (feuilles, racines, fourrage, graines et fleurs ouvertes comprenant du pollen de soja) prélevés à différents stades de développement de la plante. Les plantes de soja génétiquement modifié MON 94637 ont été cultivées en 2021 sur cinq sites aux États-Unis.

Les teneurs en protéines Cry1 sont quantifiables dans les cinq tissus analysés du soja MON 94637. Les teneurs moyennes les plus élevées sont trouvées pour le soja MON 94637 dans les fleurs pour les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 avec 260 ± 24 µg/g de matière sèche et $180 \pm 9,8$ µg/g de matière sèche, respectivement. Les graines et le fourrage du soja sont à l'origine des produits consommés en alimentation humaine et animale. Les concentrations des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 issues de ces parties dans le soja MON 94637 figurent dans le Tableau 1.

Tableau 1. Teneurs moyennes en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 mesurées par des tests ELISA dans le fourrage (stade R6⁶) et les graines (stade R8⁷) de soja génétiquement modifié MON 94637.

	Cry1A.2 (µg/g de matière sèche)	Cry1B.2 (µg/g de matière sèche)
Fourrage	$84^* \pm 3,4$ (59 - 120)**	$55^* \pm 3,3$ (36 - 96)**
Graines	$24^* \pm 2,2$ (7,0 - 43)**	$12^* \pm 0,75$ (7,21 - 20)**

*Moyennes des valeurs des cinq sites aux États-Unis exprimées en µg/g de matière sèche ± écart-type. L'efficacité d'extraction minimale était de 86 % pour les deux protéines.

**Gamme de valeurs (minimum - maximum).

⁶ R6 : phase de grossissement des graines de soja

⁷ R8 : graines de soja à pleine maturité

1.2.4 Conclusions de la caractérisation moléculaire

Le GT PGM considère que les résultats présentés dans le dossier démontrent la stabilité héréditaire de l'insertion unique de l'ADN-T I portant les cassettes *cry1A.2* et *cry1B.2* dans le soja MON 94637. Les analyses *in silico* ne mettent pas en évidence la création ou la modification de cadres ouverts de lecture au site d'insertion de l'ADN-T I. Les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 sont détectées dans tous les tissus analysés du soja MON 94637. Néanmoins, le GT PGM demande que le pétitionnaire argumente l'origine des protéines de masses moléculaires inférieures à celles attendues des protéines nouvellement exprimées dans les fractions protéiques solubles des western blots, dans le but d'évaluer les résultats de quantification des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les différentes parties du soja MON 94637.

1.3 Évaluation comparative

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

Les analyses phénotypiques et agronomiques et les analyses de composition ont été réalisées sur la cinquième génération d'autofécondation du soja MON 94637 (R5), son comparateur isogénique non transgénique A3555 et onze variétés commerciales non transgéniques utilisées comme témoins.

Les analyses de dormance et de germination ont été réalisées sur la sixième génération d'autofécondation du soja MON 94637 (R6). Quatre variétés commerciales non transgéniques ont été utilisées comme témoins. Les résultats indiquent un taux de germination proche de 100% pour le soja MON 94637 et pour son comparateur A3555.

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

En 2021, le soja MON 94637, le comparateur isogénique non transgénique A3555 et les variétés commerciales témoins (quatre variétés par site) ont été cultivés sur huit sites aux Etats-Unis. Des traitements avec des herbicides ont été réalisés dans les différents sites de culture. Le pétitionnaire indique que ces sites et traitements reflètent les pratiques agricoles conventionnelles de la culture du soja aux Etats-Unis. Les graines de soja MON 94637 et A3555 utilisées pour les essais au champ ont été récoltées sur le même site d'essai en 2019. Chaque modalité (variété témoin, variétés commerciales et soja génétiquement modifiée MON 94637) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés.

Les analyses comparatives ont été réalisées avec des échantillons récoltés sur les huit sites d'essais. Le soja MON 94637 est comparé à la variété isogénique A3555 par des tests de différence et aux variétés commerciales de référence par des tests d'équivalence. Les résultats des tests statistiques sont interprétés selon l'approche décrite par l'EFSA (EFSA, 2010a ; EFSA, 2010b), 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. Le modèle statistique utilisé, qui inclut un effet fixe "génotype" et un effet aléatoire "variété commerciale" correspond à celui proposé par l'EFSA (EFSA, 2010a). Les interactions génotype/site sont également analysées. L'ensemble des modèles et méthodes est décrit

dans les annexes. Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont fournis par le pétitionnaire.

Le GT PGM estime que le plan expérimental mis en place pour l'analyse comparative est conforme aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2011a ; EFSA, 2015).

1.3.3 Sélection du matériel et des composés pour analyse

L'analyse de composition a été réalisée sur la graine mature et sur le fourrage de soja MON 94637 et de ses témoins. Les composés analysés correspondent à ceux recommandés dans les listes des nutriments et des paramètres de composition suggérés dans les matrices de soja pour l'alimentation humaine et animale du document de l'OCDE (OCDE, 2012).

1.3.4 Analyse comparative de la composition

Soixante-six composants ont été analysés dans la graine mature et le fourrage du soja MON 94637 et de ses témoins : son comparateur non transgénique A3555 et des variétés commerciales. Ces composants incluent notamment les nutriments, les facteurs antinutritionnels et les isoflavones (OCDE, 2012).

Onze des composants ont été exclus des analyses statistiques du pétitionnaire, considérant que leur quantité était inférieure à la limite de quantification. Par ailleurs, le test d'équivalence n'est pas conclusif pour cinq composants par manque de variabilité dans les quantités mesurées chez les témoins. Les cinquante composants restants sont analysés par le pétitionnaire.

En se basant sur les résultats de l'analyse comparative de la composition de la graine mature et du fourrage, le pétitionnaire estime avoir démontré l'équivalence entre la composition du soja MON 94637 et celle des variétés de soja témoins.

1.3.5 Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques des plantes de soja sont évaluées par le pétitionnaire sur dix traits quantitatifs et sont classés selon le guide de l'EFSA (2010b). Les résultats obtenus pour le nombre de gousses par plante sont jugés comparables par le pétitionnaire mais n'ont pas pu faire l'objet d'analyse statistique en raison d'une variation trop faible des mesures obtenues chez les témoins.

En se basant sur les résultats de l'analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques, le pétitionnaire estime avoir démontré que le soja MON 94637 est équivalent aux variétés commerciales de référence pour les caractéristiques agronomiques et phénotypiques.

1.3.6 Effets de la transformation

Le pétitionnaire suppose que les produits issus du soja MON 94637 ne sont pas différents de ceux issus de sojas non génétiquement modifié, sans présenter d'analyse ou d'argumentaire permettant d'appuyer cette conclusion.

Considérant les conclusions du GT PGM sur l'analyse comparative, le GT estime que l'absence d'argumentation du pétitionnaire concernant les effets de la transformation du soja MON 94637 est justifiée.

1.3.7 Conclusions de l'évaluation comparative

Sur la base des éléments présentés dans le dossier initial du pétitionnaire, le GT PGM conclut que l'équivalence du soja MON 94637 avec les variétés commerciales de référence est démontrée pour la composition de ses grains matures et de son fourrage et pour les caractéristiques agronomiques et phénotypiques.

1.4 Toxicologie

1.4.1 Analyse des protéines nouvellement exprimées

Le soja génétiquement modifié MON 94637 exprime deux protéines exogènes : Cry1A.2 et Cry1B.2.

Les données relatives à la sécurité toxicologique des bactéries sources, les recherches bioinformatiques d'identités de séquences entre les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 et des séquences d'allergènes et de toxines connus, la dégradabilité de ces protéines par les enzymes digestives, la thermosensibilité de ces protéines et les teneurs de ces protéines nouvellement exprimées dans les graines et dans le fourrage ainsi que l'analyse faite par le GT PGM de ces données sont détaillées dans les sections sur la caractérisation moléculaire de la plante génétiquement modifiée (section 1.2.2) et sur l'allergénicité de Cry1A.2 et Cry1B.2 dans la soja MON 94637 (section 1.5). La recherche *in silico* des identités de séquences des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 présentes dans le soja MON 94637 avec les toxines des banques Uniprot et NCBI (actualisées en 2023) a été réalisée par le pétitionnaire et est résumée en section 1.2.2.

En 2023, le pétitionnaire a réalisé deux études de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez des souris, avec une alimentation enrichie en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 produites par des bactéries *Escherichia coli* (*E. coli*) génétiquement modifiées, selon la ligne directrice OCDE 407 (OCDE, 2008).

Pour l'étude de la protéine Cry1A.2, cinq groupes de 20 souris mâles et 20 souris femelles, ont reçu par gavage :

- 0 mg/kg p.c.⁸/jour de Cry1A.2 (groupe « véhicule ») ;
- 10 mg/kg p.c./jour de Cry1A.2 (groupe « faible dose ») ;
- 100 mg/kg p.c./jour de Cry1A.2 (groupe « moyenne dose ») ;
- 1000 mg/kg p.c./jour de Cry1A.2 (groupe « forte dose ») ;
- 1000 mg/kg p.c./jour de BSA (Sérum albumine bovine ; groupe « contrôle solvant »).

Les résultats de l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez des souris avec la protéine Cry1A.2 montrent :

- chez les mâles du groupe « forte dose » : une baisse significative de poids au jour 15 de l'étude, une baisse significative du gain cumulatif de poids des jours 1 à 29 ainsi qu'une baisse significative de la consommation de nourriture aux jours 8 à 15 et 15 à 22, par rapport au groupe « véhicule » ;

- chez les femelles du groupe « forte dose » : une baisse significative du gain cumulatif de poids aux jours 1 à 29 par rapport au groupe « véhicule » ;

⁸ p.c. pour poids corporel

- chez les femelles des trois groupes « faible », « moyenne » et « forte » : une baisse significative de la consommation de nourriture aux jours 8 à 15 par rapport au groupe « véhicule ».

Pendant l'étude, un gel nutritif a été administré à neuf souris du groupe « forte dose » et à deux souris du groupe « faible dose ». Les souris des groupes témoins « véhicule » et « contrôle solvant » n'ont pas reçu de gel nutritif.

Le GT PGM considère que les conclusions de l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours avec la protéine Cry1A.2 sont inexactes, en raison de l'ajout non uniforme d'un gel nutritif, comme complément alimentaire, uniquement dans les groupes « faible dose » et « forte dose » et de l'absence de prise en compte de cet ajout dans l'interprétation des résultats. De plus, le GT PGM note que le pétitionnaire ne prend pas en compte la perte de poids significative des souris, observée dans le groupe « forte dose », et ceci, malgré la mise à disposition de gel nutritif.

L'étude relative à toxicité de la protéine Cry1A.2 a conduit à la mort précoce de deux souris mâles du groupe « forte dose » à cause d'accidents de gavage, à la mort d'un mâle du groupe « moyenne dose », sans cause clairement identifiée par le pétitionnaire, et d'une femelle du groupe « contrôle solvant » suite à de mauvaises manipulations. Une amputation de la queue a été réalisée sur une souris femelle du groupe « faible dose », sans justification du pétitionnaire.

La même étude a été réalisée avec la protéine Cry1B.2.

Des accidents de gavage sont rapportés pour sept souris au cours de l'étude relative à la toxicité de la protéine Cry1B.2.

Au vu de ces incidents et de la mortalité observés chez les souris pendant les deux études de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours, le GT PGM s'interroge quant à la conformité aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), lors de ces études.

Enfin, le pétitionnaire n'apporte aucune indication sur les interactions protéiques potentielles entre Cry1A.2 et CryB.2, qui appartiennent à la même famille de protéines.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de discuter des interactions potentielles des deux protéines nouvellement exprimées dans le soja MON 94637.

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 en dehors des protéines Cry1A.2 et CryB.2 dans le soja MON 94637.

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

Aucune analyse n'a été réalisée par le pétitionnaire sur des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux dérivés du soja MON 94637.

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 sur le rat a été menée de janvier 2021 par l'initiation de l'expérimentation animale et s'est terminée en septembre 2022 par la nécropsie. Les protocoles de l'étude sont basés sur la ligne directrice OCDE 408 (OCDE, 2018) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

Trois groupes de 16 rats mâles et 16 rats femelles ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant :

- 30 % de tourteaux toastés déshuilés issus du soja MON 94637 (groupe « forte dose »);
- 15 % de tourteaux toastés déshuilés issus du soja MON 94637 et 15 % de tourteaux toastés déshuilés issus de soja de la variété témoin isogénique non génétiquement modifié A3555 (groupe « moyenne dose ») ;
- 30 % de tourteaux toastés déshuilés issus de soja de la variété témoin isogénique non génétiquement modifié A3555 (groupe « témoin »).

Pour l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours, le centre investigateur a utilisé des tourteaux toastés déshuilés de soja pour l'alimentation des rats.

Le GT PGM demande que de l'huile de soja soit aussi intégrée dans l'alimentation des rats lors de l'étude de toxicité subchronique, conformément au règlement d'exécution (UE) n°503/2013.

Pendant cette étude, le centre investigateur n'a pas fourni de soins vétérinaires particuliers et n'a pas observé de mortalité précoce chez les rats.

Le calcul de puissance de l'étude présenté par le pétitionnaire est considéré non valide par le GT PGM. Ce calcul s'appuie sur seulement huit paramètres biologiques, avec des tailles d'effets cibles non justifiées pour chaque paramètre biologique (par exemple 200 % pour le cholestérol, 100 % pour la phosphatase alcaline ou 50 % pour la créatinine).

Le GT PGM demande au pétitionnaire de justifier les tailles d'effets cibles pour chaque paramètre biologique et son calcul de puissance.

Les résultats de l'étude indiquent une augmentation significative des concentrations sanguines en T3 (triiodothyronine) et en T4 (thyroxine) et une diminution de la concentration en TSH (thyroestimuline) dans le groupe des rats recevant l'alimentation la plus riche en tourteaux toastés déshuilés issus du soja MON 94637 (groupe « forte dose »), en comparaison avec le groupe témoin et sans observation de signes cliniques.

Le GT PGM demande au pétitionnaire d'argumenter l'augmentation significative de la concentration sanguine de l'hormone T3 observée après 90 jours chez les rats du groupe « forte dose ».

À ces éléments s'ajoute le faible nombre de rats par groupe et par régime (16 rats par sexe) alors que l'Anses préconise un nombre de 20 mâles et 20 femelles par groupe (Anses, 2011).

1.4.5 Conclusions de l'évaluation toxicologique

Le GT PGM considère que les conclusions de l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours avec la protéine Cry1A.2 sont inexactes, en raison de l'ajout non uniforme d'un gel nutritif, comme complément alimentaire, uniquement dans les groupes « faible dose » et « forte dose », et de l'absence de prise en compte de cet ajout dans l'interprétation des résultats. De plus, le GT PGM demande que de l'huile de soja soit aussi intégrée dans l'alimentation des rats lors de l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours, conformément au règlement (UE) n°503/2013.

Le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire liée à la consommation du soja MON 94637 pour l'alimentation humaine et animale sans la fourniture des études et informations complémentaires mentionnées précédemment.

1.5 Allergénicité

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

Le potentiel allergénique des protéines nouvellement exprimées dans le soja MON 94637, Cry1A.2 et Cry1B.2, a été évalué selon les quatre critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'EFSA (EFSA, 2017), à savoir :

- l'innocuité de *Bacillus thuringiensis*, dont sont issues les protéines exprimées dans la plante génétiquement modifiée ;
- l'absence d'identités de séquences entre les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 avec des allergènes connus lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et de 8 résidus ;
- la dégradation *in vitro* des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 par la pepsine et la pancréatine ;
- la faible teneur en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 exprimées dans les graines de soja MON 94637.

Les analyses bio-informatiques des cadres ouverts de lecture (ORF) potentiels générés au niveau des jonctions et au niveau de l'insert dans le soja MON 94637 ont porté sur les six cadres de lecture possibles. La recherche *in silico* des identités totales, globales (> 35 % sur une fenêtre glissante de 80 acides aminés) et locales (100 % d'identités sur une fenêtre glissante de 8 acides aminés), des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 avec les allergènes connus et des identités totales avec des toxines connues a été réalisée par le pétitionnaire avec l'algorithme FASTA (E-score < 10⁻⁵). Les analyses *in silico* ont été effectuées avec des bases de données actualisées en 2023 à la recherche d'identité avec des allergènes (des bases de données COMPARE du Health and Environmental Sciences Institute et Crop Life International) et des toxines (des bases de données Uniprot et NCBI). La recherche effectuée par le pétitionnaire indique qu'un peptide potentiel (E-score de 1,6 x 10⁻⁶) généré au niveau de l'insert de l'ADN-T présente un pourcentage d'identité de séquence faible (< 25%) avec une gluténine du blé (Tri a 26). Néanmoins, cet ORF étant interrompu par plusieurs codons STOP, sa traduction dans le soja MON 94637 est estimée relativement peu probable par le pétitionnaire et le GT PGM. Tous les autres ORFs présentent des scores non significatifs. La recherche actualisée par le GT PGM avec la version de la banque COMPARE de 2024 montre également l'absence de résultat positif pour les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2.

Les protéines chimériques Cry1A.2 et Cry1B.2 exprimées dans le soja MON 94637 ne présentent donc pas d'identités de séquences significatives avec les allergènes de la banque COMPARE, ni avec les toxines de la banque Uniprot.

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 chez les sujets atteints de maladie coéliquaue.

En complément des analyses *in silico* avec différentes bases de données, des études ont été réalisées avec les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 produites dans deux souches génétiquement modifiées (GM) d'*E. coli*. Les équivalences biochimique et fonctionnelle entre les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 issues d'*E. coli* GM et celles purifiées de feuilles issues du soja MON 94637 ont été démontrées par le pétitionnaire.

Le pétitionnaire a réalisé des études de dégradation *in vitro* par la pepsine et la pancréatine des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 synthétisées par des souches d'*E. coli* GM.

Considérant les teneurs en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les graines de soja MON 94637, et leur rendement d'extraction obtenus, le GT PGM demande à ce que les tests de dégradation *in vitro* soient réalisés avec les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 extraites du soja MON 94637, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2017).

Les résultats des études de dégradation *in vitro* montrent que les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 sont dégradées en conditions de digestion gastrique (pepsine) et intestinale (pancréatine) simulées *in vitro*. L'action successive de la pepsine et de la trypsine est nécessaire pour obtenir une dégradation complète des deux protéines.

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

Le soja et ses produits dérivés sont inscrits dans la liste des allergènes à étiquetage obligatoire (Règlement (UE) n°1169/2011). De nombreux allergènes ont été identifiés dans les graines de soja et certains d'entre eux sont des allergènes majeurs (allergènes pour lesquels des IgE spécifiques sont présentes chez plus de la moitié des patients allergiques au soja). Dans le cas où la plante est elle-même reconnue comme allergisante, le Règlement d'exécution (UE) n°503/2013 recommande de procéder à une analyse du répertoire des allergènes de la plante génétiquement modifiée et de son comparateur isogénique. L'objectif est de détecter une éventuelle modification de l'expression du ou des allergènes endogènes induite par l'introduction des transgènes dans la plante génétiquement modifiée.

Le dosage par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) des principaux allergènes présents dans les graines de soja a été inclus dans l'analyse comparative du soja MON 94637 effectuée par le pétitionnaire : il s'agit des allergènes Gly m1, Gly m3, Gly m4, Gly m5, Gly m6, Gly m7, Gly m8, inhibiteur I de Kunitz, Gly m Bd28K et Gly m Bd30K.

Les échantillons sont issus du même dispositif expérimental et les analyses statistiques ont été réalisées de la même manière que pour l'évaluation comparative. Les tests de différence et d'équivalence indiquent que les dix allergènes testés appartiennent à la catégorie I et au

type 1, soit une non différence significative et une équivalence entre les doses d'allergènes contenus dans le soja MON 94637 et celles des variétés témoins.

1.5.3 Propriétés adjuvantes

Le GT PGM estime que les résultats disponibles ne laissent pas supposer que les deux protéines nouvellement exprimées dans le soja MON 94637, Cry1A.2 et Cry1B.2, puissent développer des propriétés adjuvantes.

1.5.4 Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

Sur la base des données fournies par le pétitionnaire, le GT PGM conclut que les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 satisfont globalement aux critères d'évaluation de l'allergénicité proposés par l'EFSA et leur potentiel allergénique semble non préoccupant. Néanmoins, le GT PGM recommande, conformément au guide de l'EFSA (EFSA, 2017), d'utiliser des protéines extraites de la plante de soja génétiquement modifié pour les études de dégradation *in vitro*.

1.6 Évaluation nutritionnelle

Le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation nutritionnelle estimant avoir démontré l'équivalence de composition entre le soja MON 94637, son comparateur et les variétés de soja commerciales non transgéniques.

Considérant la conclusion du GT PGM sur l'analyse comparative (1.3.7), le GT estime que l'absence d'évaluation nutritionnelle est justifiée.

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

Les concentrations moyennes en protéines nouvellement exprimées Cry1A.2 et Cry1B.2 dans la graine, le fourrage et le pollen contenu dans les fleurs du soja MON 94637 proviennent des données de l'étude au champ conduite en 2021 (cf. 1.2.2).

L'estimation de la consommation journalière des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 par l'animal se base sur les données de l'OCDE (OCDE, 2013) relatives à la consommation de soja par les animaux d'élevage, les teneurs moyennes en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les graines et le fourrage de soja MON 94637 et un scénario du pire cas (tout le soja consommé est considéré comme étant du soja MON 94637 et les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 sont intégralement conservées y compris lors de la fabrication des tourteaux).

Les teneurs moyennes en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans le soja MON 94637 sont respectivement de 24 µg/g et 12 µg/g de masse sèche dans les graines et de 84 µg/g et 55 µg/g de masse sèche dans le fourrage.

En utilisant les données de l'OCDE (OCDE, 2013) et ce scénario du pire cas, le pétitionnaire estime que les apports journaliers les plus élevés sont obtenus :

- pour les animaux monogastriques consommant des tourteaux de soja, chez les dindes avec 1018,29 µg/kg p.c./jour de protéine Cry1A.2 et 509,14 µg/kg p.c./jour de protéine Cry1B.2 ;
- pour les animaux ruminants consommant des tourteaux et du fourrage de soja, chez les chèvres avec 448,80 µg/kg p.c./jour de protéine Cry1A.2 et 224,40 µg/kg p.c./jour de protéine Cry1B.2.

L'étude de l'exposition alimentaire aiguë et chronique chez l'humain aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 via la consommation de denrées provenant de soja MON 94637 est réalisée selon les recommandations de l'EFSA, en utilisant le fichier mis à disposition pour réaliser les calculs des expositions alimentaires (EFSA, 2019a⁹; version 2022).

Des hypothèses conservatives sont formulées par le pétitionnaire :

- tout le soja consommé est du soja MON 94637 ;
- les procédés de transformation des denrées n'impactent pas les concentrations en protéines exogènes Cry1A.2 et Cry1B.2 qui restent identiques à celles présentes dans les graines ou le pollen de soja MON 94637.

Les teneurs moyennes en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans le soja MON 94637 sont respectivement de 21 µg/g et 11 µg/g de masse fraîche dans les graines et de 260 µg/g et 180 µg/g de masse sèche dans les fleurs. La consommation d'huile issue du soja MON 94637 n'a pas été prise en compte dans l'exposition alimentaire. Le pétitionnaire l'explique en raison de la teneur en protéines négligeable de ce produit.

Le pétitionnaire indique que :

- pour les forts consommateurs, l'exposition alimentaire aiguë estimée la plus élevée aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 résulte de la consommation de soja MON 94637 en France par les nourrissons, avec respectivement des estimations de consommation de 289,3 et 151,5 µg/kg p.c./jour. Les boissons à base de soja sont les denrées contributrices majeures ;
- pour les moyennes de consommation, l'exposition alimentaire aiguë estimée la plus élevée aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 résulte de la consommation de soja MON 94637 en Roumanie par les végétariens, avec respectivement des estimations de consommation de 3,74 et de 1,96 µg/kg p.c./jour ;
- pour les forts consommateurs, l'exposition alimentaire chronique estimée la plus élevée aux Cry1A.2 et Cry1B.2 résulte de la consommation de soja MON 94637 en France par les nourrissons, avec respectivement des estimations de consommation de 97,2 et 50,9 µg/kg p.c./jour. Les boissons à base de soja sont les denrées contributrices majeures ;
- pour les moyennes de consommation, l'exposition alimentaire chronique estimée la plus élevée aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 résulte de la consommation de soja MON 94637 en Belgique par les jeunes enfants (12 à 35 mois), avec respectivement des estimations de consommation de 3,16 et de 1,65 µg/kg p.c./jour.

L'évaluation de l'exposition alimentaire humaine ou animale aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 exprimées dans le soja MON 94637 ne soulève pas de questions particulières.

⁹ Outils EFSA : <https://www.efsa.europa.eu/en/applications/gmo/tools>

3. Caractérisation des risques

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

Les commentaires du GT PGM concernant l'évaluation des risques pour la santé animale ou humaine sont formulés dans les précédentes parties.

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

Considérant l'absence de risque identifié pour la santé animale ou humaine, le pétitionnaire ne propose pas de plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux provenant du soja MON 94637, consécutivement à sa mise sur le marché.

En considérant les conclusions des études toxicologiques, le GT PGM ne peut se prononcer sur la mise en place d'un plan de surveillance.

5. Évaluation des risques pour l'environnement (ERA)

5.1 Introduction

La présente demande concerne l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du soja MON 94637. La culture de ce soja dans l'Union européenne est exclue de cette demande.

5.2 Approche globale de l'ERA

Les résultats de l'évaluation moléculaire, de l'évaluation comparative de la composition et des caractères agronomiques et phénotypiques ainsi que l'étude de la germination n'ont pas montré de différence biologique autre que le trait recherché de résistance à certains lépidoptères. Les dangers considérés dans le cadre de l'évaluation des risques environnementaux sont donc liés à l'expression des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2.

S'agissant d'une demande d'AMM d'importation sans demande de culture, l'exposition de l'environnement de l'Union européenne selon le guide de l'EFSA (EFSA, 2010b) peut résulter :

- d'une dispersion accidentelle de graines importées de soja MON 94637 ;
- d'une exposition aux fèces d'animaux ayant consommé le soja MON 94637 ;
- d'une exposition aux produits dérivés du soja MON 94637.

5.3 Domaines spécifiques de risques

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

Le soja cultivé, *Glycine max* (L.) Merr., a été domestiqué à partir de l'espèce sauvage *Glycine soja* Sieb. et Zucc. présente en Asie orientale. Le soja cultivé a la capacité de s'hybrider avec le soja sauvage annuel (*Glycine soja*), ce qui produit des hybrides fertiles. De manière plus rare, il peut également s'hybrider avec des espèces sauvages pérennes appartenant au genre *Glycine*. En l'état actuel des connaissances, aucune des espèces sauvages apparentées au soja n'est présente dans l'Union européenne.

Le pétitionnaire se réfère aux conditions climatiques moyennes actuelles des régions de l'Union européenne pour évaluer le risque de survivance des graines, d'établissement et de

persistance de plantes férales du soja MON 94637 dans l'environnement. L'évolution vers des conditions climatiques plus favorables sous l'effet du changement climatique est possible et doit être prise en compte. De plus, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales plus propices à la persistance du soja. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de considérer les caractéristiques environnementales liées au changement climatique et celles spécifiques aux régions situées en zones tropicales, dans l'évaluation des risques environnementaux et dans les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché, dans l'Union européenne, de graines issues de plantes génétiquement modifiées.

Pour qu'une dispersion du transgène par flux de gène se produise, les conditions suivantes devraient être réunies :

- dispersion accidentelle des graines ;
- germination et établissement de plantes capables de se reproduire ;
- présence à proximité d'autres plantes de soja ayant une floraison synchrone.

Le GT PGM rappelle que :

- le soja est majoritairement autogame (taux d'allogamie < 1 % ; Caviness, 1966) ;
- les distances de dispersion du pollen de soja sont faibles, ce qui limite le risque de flux de gènes de plante à plante. Le taux de pollinisation croisée est de moins de 10 % entre plantes adjacentes et décroît fortement dans les premiers mètres : la distance maximale rapportée de dispersion du pollen est de 13 mètres (Kim *et al.*, 2020) ;
- le soja n'est pas une plante connue comme attractive pour les pollinisateurs ;
- la dispersion du pollen de soja est limitée par la cléistogamie¹⁰ ;
- il n'existe pas, à ce jour, d'espèces sauvages apparentées au soja sur le continent européen.

Sur le continent européen, et dans les conditions climatiques tempérées actuelles, le GT PGM estime que le risque de flux de gènes de plante à plante est négligeable et non préoccupant pour le soja MON 94637.

5.3.2 Transfert de gènes de la plante à des micro-organismes

Pour évaluer le risque de transfert de gènes du soja GM à des micro-organismes, le pétitionnaire fournit des résultats d'études bio-informatiques montrant l'absence d'alignement significatif (> 190 nucléotides sur une fenêtre de 200 nucléotides) entre l'ADN inséré chez le soja et des séquences d'ADN de génomes bactériens, d'archées et de bactériophages (base de données NCBI, janvier 2023) qui pourrait conduire à une recombinaison homologue avec ces micro-organismes de l'environnement.

L'organisme donneur des deux transgènes du soja MON 94637 est la bactérie *Bacillus thuringiensis*, présente dans les sols. Compte tenu de l'existence *in natura* d'évènements de recombinaisons croisées entre domaines des protéines Cry (Chen *et al.*, 2021 ; de Maagd *et al.* 2001), le risque de recombinaison entre les gènes codant les toxines chimères du soja MON 94637 et des gènes présents dans des souches de *B. thuringiensis* naturellement

¹⁰ Les anthères restent à l'intérieur des fleurs durant la reproduction.

présentes dans le sol ou l'environnement, est considéré comme non négligeable et devrait être discuté.

Le GT PGM demande que le risque de recombinaison des gènes chimères du soja MON 94637 avec le génome des souches de *Bacillus thuringiensis* présentes naturellement dans le sol, soit discuté en cas de dissémination accidentelle.

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

D'après Chen et al., 2021, les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 sont estimées toxiques vis-à-vis des lépidoptères *Chrysodeixis includens* Walker, *Anticarsia gemmatalis* Hubner, *Spodoptera eridania* et *Spodoptera cosmioides*. Seule la protéine Cry1B.2 aurait un effet toxique sur le lépidoptère *Helicoverpa armigera*. Le pétitionnaire référence cette publication et cite ces cinq insectes sensibles aux protéines insecticides exprimées par le soja MON 94637. Le pétitionnaire présente dans son dossier des tests d'activités fonctionnelles des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 extraites de MON 94637 sur la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) et l'arpeuteuse du soja (*Chrysodeixis includens*). Néanmoins, les efficacités insecticides (EC50¹¹ sur la pyrale du maïs) de ces protéines en alimentation artificielle et les données fournies de quantité de Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les tissus de soja MON 94637 ne permettent pas actuellement d'appréhender l'efficacité de MON 94637 vis-à-vis des insectes cibles. Aussi, le pétitionnaire devrait fournir un test de survie de larves d'insectes cibles issus des zones de culture potentielles et nourries exclusivement sur MON 94637 afin d'évaluer l'efficacité des protéines exprimées par MON 94637. De plus, le pétitionnaire n'indique pas si cette liste d'espèces sensibles aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 est exhaustive et ne donne pas d'indications quant aux zones de distribution géographique de ces insectes.

Le GT PGM demande au pétitionnaire :

- **de compléter la liste des espèces sensibles aux protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2, d'indiquer leurs distributions géographiques dans l'Union européenne, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010b), et de préciser l'attractivité du soja pour chaque espèce d'insectes ;**
- **de prendre en compte dans son analyse du risque environnemental, l'Union européenne, incluant ses régions ultrapériphériques, et d'évaluer les conséquences potentielles du développement de résistance de toutes les espèces cibles et leurs aires de répartition.**

Le pétitionnaire indique que Cry1A.2 et Cry1B.2 sont des protéines chimériques construites à partir d'autres protéines Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt). Notamment, le pétitionnaire indique qu'un des domaines de la protéine Cry1A.2 est issu de la protéine Cry1Ac. Ce domaine est généralement impliqué dans la fixation de la protéine Cry aux récepteurs des cellules de l'insecte. Le GT PGM rappelle que des résistances ont été identifiées chez des insectes cibles après mutations de gènes codant pour les récepteurs fixant notamment Cry1Ac (Liu et al., 2021), et qu'il serait important de déterminer si des résistances similaires pourraient survenir chez les insectes ciblés par la protéine Cry1A.2 produite dans le soja MON 94637.

De plus, des parties des protéines chimériques Cry1A.2 et Cry1B.2 se retrouvent également dans les protéines Cry exprimées par les Bt présents dans la composition du produit

¹¹ EC50 : Concentration efficace médiane

phytosanitaire de bio-contrôle Xentari¹², dont la substance Bt est approuvée dans l'Union européenne¹³.

Le GT PGM demande au pétitionnaire :

- **que le mode d'action des protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2, compte tenu de leur caractère chimérique, soit analysé expérimentalement sur les organismes cibles ;**
- **de prendre en compte l'utilisation des produits phytosanitaires de bio-contrôle contenant des parties de protéines Cry équivalentes aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans son analyse de risque de développement de résistances aux insecticides, suite à l'importation de soja MON 94637 dans l'Union européenne.**

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

Le pétitionnaire prend en compte les trois scénarios d'exposition non intentionnelle recommandés par l'EFSA (EFSA, 2010b), vis-à-vis des organismes non cibles, à savoir (i) un déversement accidentel de graines viables, (ii) une exposition par les fèces d'animaux nourris avec le soja MON 94637, et (iii) une exposition par le biais de matière organique végétale importée ou issue de l'utilisation du soja MON 94637.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de synthétiser tous les éléments bibliographiques concernant les risques d'exposition directe ou indirecte aux protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2 pour les organismes non cibles, notamment concernant les mécanismes d'action de Cry1A.2 et Cry1B.2 justifiant le spectre d'activité étroit vis à vis des lépidoptères ravageurs.

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 soja MON 94637, le pétitionnaire estime qu'il n'est pas nécessaire de procéder à une surveillance spécifique.

Le GT PGM considère que le plan de surveillance générale des effets sur l'environnement présenté est conforme aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2011b).

Le GT PGM rappelle que les procédures visant à limiter les pertes et déversement de graines mentionnées dans le plan de surveillance générale des effets sur l'environnement devront être respectées par l'ensemble des opérateurs manipulant la marchandise.

Dans le cas d'événements de dispersion accidentelle de graines de soja MON 94637 importées, le GT PGM estime que des mesures de gestion doivent viser à limiter tout risque de formation de repousses de soja génétiquement modifié dans l'environnement.

¹² Ephy Anses, produit Xentari : <https://ephy.anses.fr/ppp/xentari>

¹³ Règlement d'exécution 2023/1002 de la Commission : https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2023/1002/oj

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 2013-2023 sur les bases de données SciSearch et CABA ainsi que sur neuf organisations clés impliquées dans l'évaluation des risques des sojas génétiquement modifiés ainsi que leurs produits dérivés (US EPA, USDA, US FDA, CFIA, Health Canada, FSANZ, CTNBio, CONABIA, Japan MAFF), en suivant les guides EFSA (EFSA, 2019b). La question formulée est la suivante : « Le soja MON 94637, les produits alimentaires/animaliers dérivés et le trait de protection contre les ravageurs lépidoptères introduit ont-ils des effets indésirables sur la santé humaine, animale et l'environnement ? ».

Le pétitionnaire, dans la requête effectuée pour la revue systématique de la littérature scientifique, considère les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2, mais ne prend pas en compte les protéines desquelles sont issues les différentes régions de ces protéines chimériques.

Suite à cette recherche, 111 publications sont identifiées dans les bases de données SciSearch et CABA, et 540 sont identifiées dans les bases de données des organisations clés. *In fine*, aucune de ces publications n'a été retenue.

Le GT PGM demande au pétitionnaire que les critères de sélection appliqués pour l'analyse de la littérature ne soient pas limités au soja MON 94637 et que les articles concernant l'expression conjointe ou non des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans d'autres plantes génétiquement modifiées que le soja MON 94637 soient retenus pour analyse. Le GT PGM demande également d'ajouter dans sa requête de la littérature scientifique les effets non intentionnels des protéines Cry utilisées pour la construction des protéines chimériques Cry1A.2 et Cry1B.2.

8. Conclusions du groupe de travail PGM

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 soja MON 94637. Il ne concerne pas sa mise en culture.

Les éléments présentés dans le dossier concernant la caractérisation moléculaire du soja MON 94637 sont satisfaisants. Néanmoins, le GT demande au pétitionnaire de clarifier les incertitudes liées à la quantification des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans le soja MON 94637. Le soja MON 94637 est équivalent à son comparateur et ses témoins non transgéniques sur le plan de la composition des graines et du fourrage ainsi que sur les plans agronomique et phénotypique.

Le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire du soja MON 94637 concernant la partie toxicologique du dossier du fait :

- que l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours sur les rongeurs réalisée avec la protéine Cry1A.2 présente des conclusions inexactes ;
- de l'absence d'huile de soja, en complément du tourteau toasté et deshuilé, dans l'alimentation des rats lors de l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 90 jours. Cette étude doit être réalisée avec un aliment contenant du tourteau et de l'huile ou des graines du soja MON 94637, conformément aux exigences du règlement d'exécution (UE) n° 503/2013.

Le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité environnementale liés à l'importation de soja MON 94637 du fait de :

- l'absence de prise en compte des caractéristiques environnementales liées au changement climatique plus favorables à la persistance du soja ou aux conditions particulières des régions situées en zones tropicales dans l'évaluation du risque de survivance des graines, d'établissement et de persistance de plantes férales du soja MON 94637 ;
- l'absence d'une liste exhaustive des espèces cibles des protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2 et de leurs aires de répartition dans l'Union européenne, incluant ses régions ultrapériphériques ;
- l'absence d'évaluations expérimentales de toxicité des protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2 sur les lépidoptères cibles pour appréhender le potentiel développement de résistance à ces protéines insecticides par toutes les espèces cibles.

Au vu de ces éléments, le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire et environnementale du soja MON 94637.

4. CONCLUSIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions du GT PGM, qui considère qu'en l'absence de certaines données déterminantes, il ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire et environnementale liée à l'utilisation du soja MON 94637 et de ses produits dérivés dans l'alimentation humaine ou animale.

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, soja MON 94637, résistance, insectes, lépidoptères, *cry*, *cry1A.2*, *cry1B.2*.
GMO, *GMP*, *soybean MON 94637*, *resistance*, *insects*, *lepidoptera*, *cry*, *cry1A.2*, *cry1B.2*.

BIBLIOGRAPHIE

Anses, 2011. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Maisons-Alfort : Anses, 8 p.

Barteaux, E.N., Lamb, E.G., 2022. Elk (*Cervus elaphus*) grazing reduces volunteer soybean density. *Canadian Journal of Plant Science* 102, 465–467.

Caviness C.E., 1966. Estimates of natural cross-pollination in jackson soybeans in Arkansas. *Crop Science*, 6, 211-212.

Chen, D., Moar, W.J., Jerga, A., Gowda, A., Milligan, J.S., Bretsynder, E.C., Rydel, T.J., Baum, J.A., Semeao, A., Fu, X., Guzov, V., Gabbert, K., Head, G.P., Haas, J.A., 2021. *Bacillus thuringiensis* chimeric proteins Cry1A.2 and Cry1B.2 to control soybean lepidopteran pests: New domain combinations enhance insecticidal spectrum of activity and novel receptor contributions. *PLoS One* 16, e0249150.

de Maagd, R.A., Bravo, A., Crickmore, N., 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics* 17, 193–199.

EFSA (European Food Safety Authority), 2010a. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific opinion on Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs. *EFSA Journal*, 8, 1250, 59 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2010b. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 8, 1879, 111 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2011a. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance document on Selection of Comparators for the Risk Assessment of GM Plants. *EFSA Journal*, 9, 2149, 20 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2011b. 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 (European Food Safety Authority), 2015. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the agronomic and phenotypic characterisation of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 13, 4128, 44 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2017. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 15, e04862, 49 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2018. Explanatory note on the determination of newly expressed protein levels in the context of genetically modified plant applications for EU market authorisation. *EFSA Journal*, 15, 1466E, 13 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2019a. Gomez Ruiz JA, Bresson J-L, Frenzel Tand Paoletti C, 2019. Statement on the human dietary exposure assessment to newly expressed proteins in GM foods. *EFSA Journal*, 17, 5802, 18 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2019b. 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. *EFSA Journal*, 16, 1614E, 62 pp.

Eurostat, 2020, online. Crop production in EU standard humidity. Available at <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>

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.

Kim D. Y., Eom M. S., Kim H. J., Ko E. M., Park I-S, Park J-H, Park K. W., Nam K-H, Oh S. D., Kim J. K., Seo J. S., Kim C-G., 2020. Gene flow from transgenic soybean, developed to obtain recombinant proteins for use in the skin care industry, to non-transgenic soybean. *Applied Biological Chemistry* 63 :65.

Liu, L., Li, Z., Luo, X., Zhang, X., Chou, S.-H., Wang, J., He, J., 2021. Which Is Stronger? A Continuing Battle Between Cry Toxins and Insects. *Frontiers in Microbiology*, 12.

NF X50-110:2024 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2000. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). ENV/JM/MONO(2000)9,10.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2008. Essai n° 407 : Toxicité orale à des doses répétées - pendant 28 jours sur les rongeurs. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2012. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]: Key food and feed nutrients, anti-nutrients, toxicants and allergens.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2013. Guidance document on residues in livestock. Series on pesticides No. 73.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2018. Essai n° 408: Toxicité orale à doses répétées - rongeurs: 90 jours, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE.

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 (UE) n° 1169/2011 du Parlement Européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, modifiant les règlements (CE) n° 1924/2006 et (CE) n° 1925/2006 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant la directive 87/250/CEE de la Commission, la directive 90/496/CEE du Conseil, la directive 1999/10/CE de la Commission, la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil, les directives 2002/67/CE et 2008/5/CE de la Commission et le règlement (CE) n° 608/2004 de la Commission. *JO L 304* du 22.11.2011, pp. 1-60.

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.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2025). Avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n°1829/2003 du soja génétiquement modifié MON 94637 développé pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (Dossier Efsa n° GMFF-2023-21116). Saisine 2024-SA-0065. Maisons-Alfort : Anses, 29 p.



Annexe

Commentaires de l'Anses à destination de la DGAL pour transmission à l'EFSA

dans le cadre de la saisine relative au dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du règlement (CE) n°1829/2003, du soja génétiquement modifié MON 94637 développé pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM

Les commentaires émis par le groupe de travail « Évaluation des risques sanitaires et environnementaux des plantes génétiquement modifiées » (GT PGM) de l'Anses sur la saisine n°2024-SA-0065 se basent uniquement sur le dossier initial du pétitionnaire (GMFF-2023-21116) validé par l'Efsa.

1. Identification et caractérisation des dangers

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

Le pétitionnaire présente les caractéristiques de survie du soja et de ses graines dans l'environnement. Il indique que si des repousses avaient lieu, elles seraient très probablement détruites par le gel durant l'automne ou l'hiver suivant.

Le GT PGM de l'Anses remarque que la tolérance au froid des graines est peu documentée dans la littérature scientifique. Il relève toutefois qu'une étude menée au Canada, dans l'état du Manitoba (climat continental à hivers froids), rapporte la présence de repousses de soja au printemps dans des parcelles cultivées. Ces repousses seraient issues des graines contenues dans les gousses qui restent attachées à la base des plantes ou tombent au sol après la récolte (Barteaux et Lamb, 2022).

Considérant les conclusions de l'étude de Barteaux et Lamb (2022), le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire de prendre en compte la résistance des graines au froid, en hiver dans des conditions climatiques tempérées et continentales, comme une étape clé pour l'établissement et la propagation de plantes férales de soja génétiquement modifié (GM) sur le continent européen.

1.2. Caractérisation moléculaire

Des analyses par Western Blot ont été réalisées pour identifier les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les fractions protéiques solubles et insolubles extraites de MON 94637.

Le GT PGM de l'Anses note la présence supplémentaire de protéines de poids moléculaires inférieurs à la taille attendue des protéines nouvellement exprimées dans les fractions protéiques solubles extraites de fleurs et de fourrage pour Cry1B.2 et de fourrage et graines pour Cry1A.2. Le GT PGM demande au pétitionnaire de discuter de l'origine de ces protéines supplémentaires et d'évaluer si leur présence pourrait affecter la quantification des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les différentes parties du soja MON 94637 (EFSA, 2018).

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 PGM de l'Anses.

1.4. Toxicologie

1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

En 2023, le pétitionnaire a réalisé deux études de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez des souris, avec une alimentation enrichie en protéine Cry1A.2 et Cry1B.2 produites par des bactéries *Escherichia coli* génétiquement modifiées.

Ces études ont conduit à de nombreux incidents de gavage, à la mort de deux souris mâles du groupe « forte dose » et d'une souris mâle du groupe « faible dose » (gavage avec 1000 et 10 mg/kg p.c./jour de Cry1A.2, respectivement) et à la mort d'une femelle du groupe témoin véhicule dans l'étude de la protéine Cry1A.2.

Au vu de ces incidents et de la mortalité observés chez les souris pendant les deux études de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours, le GT PGM de l'Anses s'interroge quant à la conformité de l'expérimentation animale aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), lors de ces études.

Pendant l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez des souris avec la protéine Cry1A.2, un gel nutritif a été mis à disposition de neuf souris du groupe « forte dose » (gavage avec 1000 mg/kg p.c./jour de Cry1A.2), et à deux souris du groupe « faible dose » (gavage avec 10 mg/kg p.c./jour de Cry1A.2). Les souris des groupes témoins n'ont pas reçu de gel nutritif.

Le GT PGM de l'Anses considère que les conclusions de l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours avec la protéine Cry1A.2 sont inexactes, en raison de l'ajout d'un gel nutritif et de manière non uniforme. De plus, le GT PGM note que le pétitionnaire ne prend pas en compte la perte de poids significative des souris observée dans le groupe « forte dose », et ceci, malgré la mise à disposition de gel nutritif.

Enfin, le pétitionnaire n'apporte aucune indication sur les interactions protéiques potentielles entre Cry1A.2 et CryB.2, qui appartiennent à la même famille de protéines.

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire de discuter des interactions biochimiques potentielles des deux protéines nouvellement exprimées.

1.4.2. à 1.4.3.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour ces sections n'appellent pas de commentaire de la part du GT PGM de l'Anses.

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

Le pétitionnaire présente une étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat, menée sur la période 2021-2022, en utilisant uniquement du tourteau de soja déshuilé.

Le GT PGM de l'Anses demande que de l'huile de soja soit aussi intégrée dans l'alimentation des rats lors de l'étude de toxicité subchronique, conformément au règlement (UE) n°503/2013.

Les résultats de cette étude montrent une augmentation significative du taux de l'hormone T3 chez les rats du groupe « forte dose », en comparaison avec le groupe témoin, sans observation de signes cliniques.

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire d'argumenter l'augmentation significative du taux de l'hormone T3 observée après 90 jours chez les rats du groupe « forte dose ».

Le GT PGM de l'Anses note également que le nombre de rats est insuffisant par groupe et par régime (16 rats par sexe), par rapport à sa recommandation d'un nombre de 20 rats par sexe par groupe (Anses, 2011).

Le calcul de puissance de l'étude présenté par le pétitionnaire est de plus considéré non valide par le GT PGM. Ce calcul s'appuie sur seulement huit paramètres biologiques, avec des tailles d'effets cibles jugées non appropriées par le GT (par exemple 200 % pour le cholestérol, 100 % pour la phosphatase alcaline ou 50 % pour la créatinine).

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire de présenter un calcul de puissance approprié. Pour rappel, l'US EPA (2002) indique que de manière générale, les tailles d'effets doivent être comprises entre 10 et 25 %.

1.4.5. Conclusion de l'évaluation toxicologique

Le GT PGM de l'Anses renvoie aux commentaires des sections du §1.4 concernant l'évaluation toxicologique.

1.5. Évaluation de l'allergénicité

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

Le pétitionnaire a réalisé des études de dégradation *in vitro* par la pepsine et la pancréatine avec les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 synthétisées par des souches recombinantes d'*Escherichia coli*. Le rendement d'extraction obtenu pour Cry1A.2 et pour Cry1B.2 semble suffisant pour réaliser des tests de dégradation *in vitro* avec les protéines natives.

Considérant les teneurs en protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans les graines de soja MON 94637, et le bon rendement d'extraction obtenus, le GT PGM demande que les tests de dégradation *in vitro* soient réalisés avec les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 extraites du soja MON 94637, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2017).

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 PGM 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 PGM 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 PGM 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 PGM de l'Anses.

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

5.1 et 5.2.

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

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 se réfère aux conditions climatiques moyennes actuelles des régions de l'Union européenne pour évaluer le risque de survivance des graines, d'établissement et de persistance de plantes férales du soja MON 94637 dans l'environnement. L'évolution vers des conditions climatiques plus favorables sous l'effet du changement climatique est possible et doit être prise en compte. De plus, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales plus propices à la persistance du soja. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français.

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire de considérer les caractéristiques environnementales liées au changement climatique et celles spécifiques aux régions situées en zones tropicales, dans l'évaluation des risques environnementaux et dans les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché, dans l'Union européenne, de graines issues de plantes génétiquement modifiées.

5.3.2. Transfert de gènes de plante à micro-organisme

Compte tenu de l'existence *in natura* d'évènements de recombinaisons croisés entre domaines des protéines Cry (comme souligné dans Chen et al., 2021, faisant référence à la revue de de Maagd et al. 2001), le risque de recombinaison entre les gènes codant les toxines chimères du soja MON 94637 et des gènes présents dans des souches de *Bacillus thuringiensis* naturellement présentes dans le sol ou l'environnement, est considéré comme non négligeable et devrait être discuté.

Le GT PGM de l'Anses demande que le risque de recombinaison des gènes chimères du soja MON 94637 avec le génome des souches de *Bacillus thuringiensis* présentes naturellement dans le sol, soit pris en compte en cas de dissémination accidentelle.

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

Le pétitionnaire considère six insectes sensibles aux protéines insecticides exprimées par le soja MON 94637 (Chen et al., 2021). Le pétitionnaire n'indique pas si cette liste d'insectes sensibles aux protéines

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2023-21116
Saisine n° 2024-SA-0065

Cry1A.2 et Cry1B.2 est exhaustive et ne donne pas d'indications quant aux zones de distributions géographiques de ces insectes.

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire :

- de compléter la liste des espèces sensibles aux protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2, d'indiquer leurs distributions géographiques dans l'Union européenne, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010), et de préciser l'attractivité du soja pour chaque espèce d'insectes ;
- de prendre en compte dans son analyse du risque environnemental, l'Union européenne, incluant ses régions ultrapériphériques, et d'évaluer les conséquences potentielles du développement de résistance de toutes les espèces cibles et leurs aires de répartition ;
- que le mode d'action des protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2, compte tenu de leur caractère chimérique, soit analysé expérimentalement sur les organismes cibles.

Le pétitionnaire indique que Cry1A.2 et Cry1B.2 sont des protéines chimériques construites à partir d'autres protéines Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt). Des parties de ces protéines chimériques sont aussi présentes dans les protéines Cry naturellement exprimées par les Bt présents dans la composition du produit phytosanitaire de bio-contrôle Xentari, autorisée dans l'Union européenne.

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire de prendre en compte l'utilisation des produits phytosanitaires de bio-contrôle contenant des parties de protéines Cry équivalentes aux protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans son analyse de risque de développement de résistances aux insecticides, suite à l'importation de soja MON 94637 dans l'Union européenne.

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

Le pétitionnaire prend en compte les trois scénarios d'exposition non intentionnelle recommandés par l'EFSA (EFSA, 2010), à savoir (i) un déversement accidentel de graines viables, (ii) une exposition aux fèces d'animaux nourris avec le soja MON 94637, et (iii) une exposition aux matières organiques végétales importées ou dérivées de l'utilisation du soja MON 94637.

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire de synthétiser tous les éléments bibliographiques concernant les risques de l'exposition directe ou indirecte aux protéines insecticides Cry1A.2 et Cry1B.2 pour les organismes non cibles.

5.3.5 à 5.3.7.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour ces sections n'appellent pas de commentaire de la part du GT PGM de l'Anses.

5.3.8. Évaluation globale du risque et conclusions

Le GT PGM de l'Anses renvoie aux commentaires des sections du §5.3 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 PGM 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, dans la requête effectuée pour la revue systématique de la littérature scientifique, considère les protéines Cry1A.2 et Cry1B.2, mais ne prend pas en compte les protéines desquelles sont issues les différentes régions de ces protéines chimériques.

Le GT PGM de l'Anses demande au pétitionnaire que les critères de sélection appliqués pour l'analyse de la littérature ne soient pas limités au soja MON 94637 et que les articles concernant l'expression conjointe ou non des protéines Cry1A.2 et Cry1B.2 dans d'autres plantes génétiquement modifiées que le soja MON 94637, soient retenus pour analyse.

Le GT PGM demande également d'ajouter dans sa requête de la littérature scientifique les effets non intentionnels des protéines Cry utilisées pour la construction des protéines chimériques Cry1A.2 et Cry1B.2.

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 PGM de l'Anses.

Références

Anses. 2011. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Maisons-Alfort : Anses, 8 p.

Barteaux, E. N. et Lamb E. G., 2022. Elk (*Cervus elaphus*) grazing reduces volunteer soybean density. *Canadian Journal of Plant Science* 102 (2): 465-67.

Chen, D., Moar, W.J., Jerga, A., Gowda, A., Milligan, J.S., Bretsynder, E.C., Rydel, T.J., Baum, J.A., Semeao, A., Fu, X., Guzov, V., Gabbert, K., Head, G.P., Haas, J.A., 2021. *Bacillus thuringiensis* chimeric proteins Cry1A.2 and Cry1B.2 to control soybean lepidopteran pests: New domain combinations enhance insecticidal spectrum of activity and novel receptor contributions. *PLoS One* 16, e0249150.

de Maagd, R.A., Bravo, A., Crickmore, N., 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics* 17, 193–199.

EFSA (European Food Safety Authority), 2010. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 8, 1879, 111 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2017. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 15, e04862, 49 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2018. Explanatory note on the determination of newly expressed protein levels in the context of genetically modified plant applications for EU market authorisation. *EFSA Journal*, 15, 1466E, 13 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 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. *EFSA Journal*, 16, 1614E, 62 pp.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2023-21116
Saisine n° 2024-SA-0065

Liu, L., Li, Z., Luo, X., Zhang, X., Chou, S.-H., Wang, J., He, J., 2021. Which Is Stronger? A Continuing Battle Between Cry Toxins and Insects. *Frontiers in Microbiology*, 12.

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. *Journal Officiel L 157* du 8.6.2013, pp. 1-48.

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.