



Document de décision DD2005-55

Détermination de l'innocuité du maïs (*Zea mays* L.) lignée 59122 résistant aux insectes et tolérant à l'herbicide glufosinate-ammonium de Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc.

Le présent document de décision vise à expliquer la décision réglementaire prise conformément aux directives 94-08 (Dir94-08), *Critères d'évaluation du risque environnemental associé aux végétaux à caractères nouveaux*, Dir94-11 *La biologie de Zea mays L., (Maïs)* et Dir95-03 *Directive relative à l'évaluation des aliments nouveaux du bétail : Origine végétale*.

L'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA), plus précisément le Bureau de la biosécurité végétale et la Section des aliments du bétail, a évalué les données présentées par les sociétés Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. Ces données ont trait à la lignée de maïs 59122 résistant aux insectes et tolérant à l'herbicide glufosinate-ammonium. L'ACIA a établi que ce végétal à caractères nouveaux (VCN) ne présente aucune interaction environnementale modifiée ni aucun danger pour le bétail consommant des aliments dérivés de cet aliment nouveau, par rapport aux variétés de maïs déjà commercialisées au Canada.

La dissémination en milieu ouvert de la lignée de maïs 59122 et son utilisation comme aliment du bétail sont par conséquent autorisées à compter du 18 novembre 2005.

L'autorisation est limitée à un an. Le renouvellement de cette autorisation est conditionnel à la présentation d'autres résultats de recherche concernant la gestion de la résistance chez les chrysomèles des racines du maïs. L'autorisation visant la dissémination en milieu ouvert et l'utilisation comme aliments du bétail couvre également tous les descendants de ce végétal et ses lignées sœurs issues de la transformation originale (ainsi que tous leurs descendants), pourvu : i) qu'aucun croisement interspécifique ne soit réalisé; ii) que l'utilisation prévue soit semblable; iii) qu'une caractérisation ait démontré que ces végétaux ne présentent aucun autre caractère nouveau et qu'ils soient essentiellement équivalents, quant à leur utilisation précise et à leur risque pour l'environnement et pour la santé humaine et animale, aux végétaux présentement cultivés; iv) que les gènes nouveaux soient exprimés au même degré que la lignée pour laquelle l'autorisation a été obtenue; v) que les exigences en matière de gestion de la résistance des insectes énoncées dans le présent document soient respectées.

La lignée de maïs 59122 est soumise aux mêmes exigences phytosanitaires que ses contreparties non modifiées.

À noter que la détermination de l'innocuité pour les aliments du bétail et l'environnement des VCN et des nouveaux aliments du bétail sont des étapes importantes de la mise en marché éventuelle de ces types de végétaux. L'évaluation de ce végétal quant à son innocuité comme aliment pour la consommation humaine relève de Santé Canada et fait l'objet d'un document distinct.

(Also published in English)

18 novembre 2005

Ce document est publié par l'Agence canadienne d'inspection des aliments. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec le Bureau de la biosécurité végétale ou la Section des aliments du bétail aux adresses suivantes :

Bureau de la biosécurité végétale
Direction des produits végétaux
59, promenade Camelot
Ottawa (Ontario)
Ontario K1A 0Y9
(613) 225-2342

Section des aliments du bétail
Division de la santé des animaux
et de l'élevage
Direction des produits animaux
59, promenade Camelot,
Ottawa (Ontario) K1A 0Y9
(613) 225-2342

Table des matières

I.	Brève identification du végétal à caractères nouveaux (VCN)	2
II.	Renseignements de base	2
III.	Description des nouveaux caractères	4
1.	Méthode de mise au point	4
2.	Résistance aux chrysomèles du maïs	4
3.	Tolérance au glufosinate-ammonium	6
4.	Stabilité de l'intégration au génome de la plante	7
IV.	Critères d'évaluation du risque environnemental	7
1.	Possibilité que la lignée de maïs 59122 se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou qu'elle envahisse les milieux naturels	7
2.	Possibilités de flux génétique vers des espèces sauvages apparentées risquant de produire des hybrides se comportant davantage comme des mauvaises herbes ou possédant une plus grande capacité d'envahissement	8
3.	Possibilité que la lignée 59122 devienne nuisible	9
4.	Impact possible de la ligne de mass 59122 sur les organismes non visés	9
5.	Impact possible de la lignée de maïs 59122 sur la biodiversité	11
6.	Possibilité que les insectes nuisibles visés acquièrent une résistance à la lignée de maïs 59122	11
7.	Possibilité d'émergence de sujets spontanés tolérants à de multiples herbicides et de mauvaises herbes tolérantes aux herbicides	13
V.	Critères d'évaluation en vue de l'utilisation comme aliment du bétail	13
1.	Effets possibles sur la nutrition du bétail	13
2.	Effets possibles sur le bétail et les travailleurs ou des tiers	14
VI.	Nouveaux renseignements requis	15
VII.	Décision réglementaire	15

I. Brève identification du végétal à caractères nouveaux (VCN)

Désignation(s) du VCN :	Lignée de maïs 59122, <i>B.t.</i> Cry34/35Ab1 résistant aux insectes et tolérant à l'herbicide glufosinate-ammonium, Identificateur de l'OCDE DAS-59122-7
Demandeurs :	Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc.
Espèce :	Maïs (<i>Zea mays</i> L.)
Caractères nouveaux :	Résistance à la chrysomèle des racines du maïs du nord (<i>Diabrotica barberi</i>) et à la chrysomèle occidentale des racines du maïs (<i>Diabrotica virgifera virgifera</i>) Tolérance au glufosinate-ammonium, un herbicide
Méthode d'introduction du caractère :	Transformation au moyen d' <i>Agrobacterium</i>
Emploi proposé du VCN :	Production de maïs pour la consommation humaine (produits de mouture humide et de mouture à sec, et huile des grains) ainsi que d'huile, de tourteau, de grains entiers et d'ensilage et d'autres produits destinés à l'alimentation animale. Au Canada, le VCN ne sera pas cultivé au à l'extérieur des zones maïsicoles normales.

II. Renseignements de base

Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont mis au point une lignée de maïs résistant aux chrysomèles des racines du maïs et tolérant à un herbicide, le glufosinate-ammonium. La lignée de maïs désignée 59122 a été mise au point pour réduire les pertes de rendement causées par les ravages des larves de chrysomèles ainsi que pour lutter contre les mauvaises herbes dans les cultures de maïs.

La lignée de maïs 59122 a été obtenue par la technique de l'ADN recombinant, qui a permis d'introduire dans le végétal des gènes bactériens conférant la résistance aux chrysomèles ainsi que la tolérance au glufosinate-ammonium.

Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont fourni des données sur l'identité de la lignée de maïs 59122, une description détaillée de la méthode de transformation, des gènes insérés et des séquences de régulation, de l'information sur les sites d'insertion des nouveaux gènes, sur le nombre de copies et le degré d'expression de ces gènes chez ce végétal ainsi que les séquences d'acides aminés complètes des

nouvelles protéines produites. Chacune des protéines nouvelles a été identifiée, caractérisée et comparée aux protéines bactériennes originales. Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont également fourni une évaluation de leur toxicité potentielle pour le bétail et les organismes non visés, une évaluation de leur potentiel allergène pour les humains et le bétail ainsi que les publications scientifiques pertinentes.

Les données provenant d'essais au champ en conditions confinées sur la lignée de maïs 59122 menés en 2003 ont été soumises à l'ACIA. Les données provenant d'essais au champ aux États-Unis et au Chili ont également été présentées pour étayer la demande.

Les caractéristiques agronomiques des hybrides de maïs issus de la lignée 59122, tels l'établissement du peuplement, la vigueur végétative, la précocité de maturation, la période de floraison, la production de graines ainsi que la sensibilité à divers ravageurs et pathogènes du maïs, ont été comparées aux caractéristiques de contreparties de maïs. Les composantes nutritionnelles de la lignée 59122, comme les grands groupes de constituants, les acides aminés et les acides gras, ont été comparées à celles de contreparties de maïs non modifiées. Ces comparaisons ont également fait partie de l'évaluation de l'innocuité.

Le Bureau de biosécurité végétale de l'ACIA a examiné les renseignements susmentionnés à la lumière des critères servant à l'évaluation du risque pour l'environnement que présentent les végétaux à caractères nouveaux, lesquels critères sont énoncés dans la directive de réglementation Dir94-08 :

- possibilité que la lignée de maïs 59122 se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou qu'elle envahisse les habitats naturels,
- possibilité de flux génétique de la lignée de maïs 59122 vers des espèces sauvages apparentées risquant de produire des hybrides se comportant davantage comme des mauvaises herbes ou possédant une plus grande capacité d'envahissement,
- possibilité que la lignée de maïs 59122 devienne nuisible,
- impact possible de la lignée de maïs 59122 ou de ses produits géniques sur des espèces non visées, y compris l'être humain,
- impact possible de la lignée de maïs 59122 sur la biodiversité.

La Section des aliments du bétail de l'ACIA a elle aussi étudié l'information fournie à la lumière des critères servant à l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des aliments du bétail, lesquels critères sont énoncés dans la directive de réglementation Dir95-03 :

- effets possibles de la lignée de maïs 59122 sur la nutrition du bétail,
- effets possibles de la lignée de maïs 59122 sur le bétail ainsi que sur les travailleurs ou des tiers.

Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont fourni à l'ACIA une méthode pour détecter et identifier le maïs contenant la protéine Cry34Ab1.

III. Description des nouveaux caractères

1. Méthode de mise au point

La lignée de maïs 59122 a été produite par une transformation réalisée au moyen d'*Agrobacterium* et de la lignée de maïs Hi-II, issue d'un croisement A188 x B73. Les gènes synthétiques *cry34Ab1* et *cry35Ab1*, de même que le gène *pat* de tolérance à l'herbicide portés par un vecteur plasmidique binaire ont été introduits dans des embryons immatures à l'aide d'une souche d'*Agrobacterium tumefaciens* « désarmée ». Les transformants ont été sélectionnés en fonction de leur tolérance au glufosinate-ammonium présent dans le milieu de culture. La lignée de maïs 59122 a été retenue comme transformant efficace et choisie pour les travaux de mise au point ultérieure.

2. Résistance aux chrysomèles des racines du maïs

Bacillus thuringiensis est une bactérie à Gram positif courante dans le sol. Au stade de la sporulation, elle produit plusieurs protéines cristallines insecticides, dont les δ -endotoxines Cry, des protéines actives contre certains groupes d'insectes. Des insecticides foliaires à base d'endotoxine Cry (généralement appelée *B.t.*) sont homologués depuis plus de 30 ans au Canada, et leur innocuité est connue depuis longtemps.

La souche PS149B1 de *Bacillus thuringiensis* produit une protéine cristalline binaire à effet insecticide (BICP ou ICP) constituée de deux protéines, Cry34Ab1 et Cry35Ab1, de masse moléculaire d'environ 14 et 44 kDa, respectivement. La toxicité sélective de cette protéine binaire ICP Cry34/35Ab1 a été démontrée à l'égard de certaines espèces de coléoptères, dont la chrysomèle des racines du maïs du nord et la chrysomèle occidentales des racines du maïs.

Les gènes synthétiques *cry34Ab1* et *cry35Ab1* ont été mis au point pour favoriser une expression maximisée chez le maïs, puis ils ont été introduits dans la lignée Hi-II. Les séquences d'acides aminés des protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 exprimées par la lignée de maïs 59122 sont identiques à celles des protéines natives. Comme d'autres delta-endotoxines *B.t.*, l'activité insecticide de la protéine ICP Cry34/35Ab1 résulte de sa fixation à des récepteurs spécifiques situés sur des cellules épithéliales de l'intestin moyen des insectes sensibles, ce qui provoque la formation de pores qui perturbent l'équilibre osmotique, entraînant ultimement la lyse des cellules et la mort de l'insecte. Même si la protéine Cry34Ab1 est active à elle seule, son effet est considérablement augmenté par la protéine Cry35Ab1.

Les gènes *cry34Ab1* et *cry35Ab1* de la lignée de maïs 59122 sont liés à des promoteurs constitutifs. Les séquences d'acides aminés des protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 exprimées dans la lignée de maïs 59122 sont identiques à celles des protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 natives. L'expression des protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 a été déterminée à partir de plantes cultivées au Canada et aux États-Unis. Les niveaux d'expression ont été mesurés à différents stades de croissance végétale au moyen de l'ELISA. Les valeurs de l'expression protéique moyenne de Cry34Ab1, en nanogrammes de protéine par milligramme de poids sec de tissu végétal (ng/mg p.s.), étaient les suivantes : 54,9 à 266,4 pour les différents stades de croissance foliaire, 35,4 à 43,7 pour les différents stades de croissance des racines, 49 dans la tige, 36,4 dans la graine, 64,7 dans le pollen et 97,7 dans le fourrage. Les valeurs de l'expression protéique moyenne de Cry35Ab1, en nanogrammes de protéine par milligramme de poids sec de tissu végétal (ng/mg p.s.), étaient les suivantes : 52,3 à 97,1 pour les différents stades de croissance foliaire, 5,3 à 15,5 pour les différents stades de croissance des racines, 19,3 dans la tige, 2,0 dans la graine, 0,06 dans le pollen et 28,1 dans le fourrage.

Les concentrations de Cry34Ab1 et de Cry35Ab1 tendent à diminuer dans les tissus de maïs sénescents, et il a été démontré que les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 se décomposent rapidement dans le sol.

Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont présenté des données qui montrent que, contrairement à de nombreux allergènes, les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 se décomposent rapidement dans un liquide gastrique simulé (LGS). Plus de 97 % de la protéine Cry35Ab1 a été digérée après une exposition de 5 min dans le LGS, et 90 % de la protéine Cry34Ab1 a été digérée après une exposition de 6,5 min dans ce LGS. Des protéines allergènes connues tendent également à résister à la chaleur et à la transformation, contrairement aux protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1, qui sont complètement inactivées après 30 minutes à 90 °C, pour la première, et après 30 minutes à 60 °C, pour la deuxième. Ces données indiquent que ces deux protéines sont thermolabiles. Une recherche d'homologie de séquences d'acides aminés entre les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 et des allergènes connus n'a pas révélé d'homologie appréciable (au moins 8 acides aminés contigus identiques ou plus). Il a été démontré que les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 exprimées dans la lignée de maïs 59122 ne sont pas glycosylées, une autre indication selon laquelle les propriétés des protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 diffèrent de celles des allergènes connus.

Pour obtenir des quantités suffisantes de protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 pour évaluer le risque environnemental et de l'innocuité des aliments pour le bétail, il a fallu exprimer les gènes *cry34Ab1* et *cry35Ab1* dans un système de production bactérien. Les séquences *cry34Ab1* et *cry35Ab1* exprimées dans le système de production bactérien sont identiques aux séquences *cry34Ab1* et *cry35Ab1* introduites dans le maïs, à l'exception d'une différence de quatre acides aminés dans la région C-terminale de la protéine Cry35Ab1. Pour évaluer l'équivalence entre les protéines

produites par les végétaux et celles produites par les bactéries, diverses études ont été présentées. Les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 d'origine bactérienne et celles produites par le maïs transgénique ont été jugées équivalentes en termes de masse moléculaire, d'immunoreconnaissance, de séquence N-terminale, de cartographie peptidique tryptique de masse par désorption-ionisation par impact laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS), d'absence de glycosylation et d'activité biologique.

Des études de toxicité orale aiguë chez la souris ont été effectuées pour déterminer les effets toxicologiques des protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 d'expression bactérienne. Les protéines ont été analysées individuellement (2700 mg et 1850 mg de protéine par kg de poids corporel pour Cry34Ab1 et Cry35Ab1, respectivement) et en mélange (482 mg/kg Cry34Ab1 et 1520 mg/kg Cry35Ab1). L'administration a été faite par gavage et elle a été suivie d'une période d'observation de deux semaines. Aucune mortalité ni effet néfaste n'ont été observés au cours de ces études aux doses testées. Selon les niveaux maximums calculés pour l'exposition du bétail aux protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 dans l'alimentation, on ne s'attend pas à ce qu'il y ait d'effets néfastes.

3. Tolérance au glufosinate-ammonium

La phosphinothricine, matière active du glufosinate-ammonium, inhibe l'enzyme glutamine synthétase de la plante, entraînant une accumulation de concentrations létales d'ammoniac chez les plantes sensibles dans les quelques heures suivant l'application de l'herbicide. Les processus métaboliques normaux des végétaux donnent lieu à la production d'ammoniac.

Le gène de tolérance au glufosinate-ammonium (gène *pat*) introduit dans la lignée de maïs 59122 code l'enzyme phosphinothricine N-acétyltransférase (PAT). Cette enzyme détoxifie la phosphinothricine en la transformant, par acétylation, en un composé inactif.

À l'origine, le gène *pat* a été isolé chez un actinomycète aérobie du sol, *Streptomyces viridochromogenes*. L'enzyme PAT est donc présente naturellement dans le sol. De manière générale, les acétyltransférases sont omniprésentes dans la nature.

Le gène *pat* de la lignée de maïs 59122 est lié à un promoteur constitutif. L'expression de la protéine PAT a été déterminée à partir de plantes cultivées au Canada et aux États-Unis. Les niveaux d'expression ont été mesurés à divers stades de croissance végétale au moyen de l'ELISA. Les valeurs de l'expression moyenne de la protéine PAT en nanogrammes de protéine par milligramme de poids sec de tissu végétal (ng/mg p.s.) étaient les suivantes : 0,25 à 11,4 pour les différents stades de croissance foliaire, 0,18 à 0,42 pour les différents stades de croissance des racines, 0,38 dans la tige, 0,1 dans la graine et 2,4 dans le fourrage. La concentration de PAT dans le pollen était sous le seuil de détection (0,30 ng/mg p.s.).

En raison de la faible quantité de protéine PAT exprimée dans le maïs, il a fallu produire la protéine PAT par fermentation bactérienne pour en obtenir des quantités suffisantes pour réaliser certaines des études sur l'innocuité (ex. étude de toxicité orale aiguë chez la souris, études de digestion dans un liquide gastrique simulé). La comparaison entre la protéine bactérienne et la protéine végétale a montré qu'il s'agissait de protéines de masse moléculaire et de réactivité immunologique similaires. Ni la protéine exprimée par la plante ni celle exprimée par la bactérie ne sont glycosylées.

La protéine PAT a été abondamment étudiée et l'absence de propriétés allergènes de cette protéine a été démontrée. La protéine PAT n'a pas entraîné de toxicité aiguë lorsqu'elle a été administrée à des souris à raison de 5000 mg/kg de poids sec.

4. Stabilité de l'intégration au génome de la plante

L'analyse par transfert de Southern de différentes générations issues de la lignée de maïs 59122 a révélé une seule insertion d'un exemplaire intact de la région ADN-T du plasmide de transformation dans un site du génome du maïs. L'absence de séquences plasmidiques à l'extérieur de l'ADN-T a été confirmée.

La stabilité génétique de l'insert a été démontrée sur quatre générations.

La transmission héréditaire et la stabilité des caractères introduits ont été déterminées dans la descendance hétérozygote au moyen d'une combinaison de transferts de Southern, de dosages immunologiques de la protéine Cry34Ab1 exprimée et d'épreuves biologiques sur la tolérance à l'herbicide par rapport à la protéine PAT exprimée. Le lien entre le génotype et l'expression du caractère phénotypique a été démontré.

La transmission héréditaire des gènes *cry34Ab1* et *pat* selon les lois de Mendel, ainsi que des caractères correspondants, a été confirmée sur 8 générations.

Les données concernant la ségrégation et la stabilité correspondaient à l'insertion d'un fragment dans un site unique et se transmettant aux autres générations conformément aux lois de Mendel sur l'hérédité. Les données qui indiquent un mode de transmission mendélien témoignent de la stabilité de la transmission des éléments génétiques introduits dans la lignée de maïs 59122.

IV. Critères d'évaluation du risque environnemental

1. Possibilité que la lignée de maïs 59122 se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou qu'elle envahisse les milieux naturels

La biologie du maïs, décrite dans le document Dir94-11, révèle que les sujets non modifiés de cette espèce n'envahissent pas les habitats naturels au Canada. En effet, le maïs ne risque pas de se comporter en mauvaise herbe, en raison de caractères comme l'absence de dormance de la graine, l'indéhiscence de l'épi et la capacité compétitive médiocre de la plantule. Selon l'information fournie par Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc., la lignée de maïs 59122 et les hybrides issus de cette lignée ne sont pas significativement différents de leurs homologues non modifiés à cet égard.

L'ACIA a évalué les renseignements fournis par Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. en ce qui concerne le potentiel reproductif et la capacité de survie des hybrides de maïs issus de la lignée 59122 et a conclu que la vigueur végétative, la précocité de maturation et la production de graines se comparent à la gamme de caractères s'exprimant actuellement chez les hybrides de maïs commerciaux.

Aucun avantage compétitif n'a été conféré à ces plantes, outre ceux conférés par la résistance aux insectes visés et la tolérance au glufosinate-ammonium. Or, il a été démontré que ces caractères ne peuvent faire que la plante se comporte comme une mauvaise herbe ou devienne envahissante dans les milieux naturels, puisqu'aucun caractère ayant trait à la reproduction ou à la croissance n'a été modifié.

À la lumière de ces considérations et du fait que les caractères nouveaux ne rendent manifestement pas le VCN nuisible ou envahissant, l'ACIA conclut que le risque que la lignée de maïs 59122 se comporte en mauvaise herbe ou devienne envahissante n'est pas plus grand que chez les variétés de maïs actuellement commercialisées

2. Possibilités de flux génétique vers des espèces sauvages apparentées risquant de produire des hybrides se comportant davantage comme des mauvaises herbes ou possédant une plus grande capacité d'envahissement

Selon le document Dir94-11 décrivant la biologie du maïs, il n'existe au Canada aucune espèce sauvage apparentée s'hybridant naturellement avec le maïs. En conséquence, l'ACIA conclut qu'un flux génétique depuis la lignée 59122 vers des espèces sauvages apparentées ne peut pas se produire au Canada.

3. Possibilité que la lignée 59122 devienne nuisible

Les effets recherchés au moyen des deux caractères nouveaux n'ont aucun lien avec le fait que le VCN puisse devenir une mauvaise herbe, sans compter que le maïs n'est pas considéré comme une espèce nuisible au Canada (Dir94-11). De plus, les caractéristiques agronomiques observées chez les hybrides modifiés sont comparables à celles des hybrides de maïs déjà commercialisés. Les caractéristiques de croissance du maïs n'ont donc pas été modifiées par inadvertance. Les observations au champ n'ont permis de relever aucune modification de la sensibilité aux maladies et aux ravageurs, sauf aux chrysomèles, qui ne sont pas connues en tant que facteurs limitants de l'établissement et de la dissémination du maïs au Canada.

Certains éléments génétiques insérés dans le génome de la lignée 59122 proviennent de phytopathogènes connus, mais aucun des gènes responsables de leur pouvoir pathogène n'a été introduit. Par conséquent, l'introduction de ce matériel génétique ne devrait pas entraîner l'expression de caractéristiques de pathogénicité nouvelles chez la lignée 59122.

L'ACIA estime par conséquent que la lignée 59122 ne présente aucun risque accru de devenir un végétal nuisible.

4. Impact possible de la lignée de maïs 59122 sur les organismes non visés

L'utilisation passée des δ -endotoxines de *B.t.* d'origine bactérienne ainsi que les publications traitant du sujet indiquent que ces substances ne sont actives que contre certains groupes d'insectes spécifiques et qu'elles ne sont pas toxiques pour les autres organismes, dont les humains et les autres vertébrés. La protéine binaire Cry34/35Ab1 n'est active qu'à l'égard d'insectes coléoptères spécifiques. Aucun coléoptère ne figure sur la liste des espèces canadiennes menacées ou en danger de disparition établie par le Comité sur la situation des espèces en péril au Canada.

Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont aussi présenté les résultats d'études de toxicité alimentaire sur l'effet des protéines Cry34 et Cry35Ab1 sur des invertébrés non visés, dont les larves de l'abeille domestique et de la chrysope verte, les coccinelles *Hippodamia convergens* et *Coleomegilla maculata*, la guêpe parasite, les carabidés, la daphnie, le collembole et le ver de terre. D'autres données concernaient des vertébrés non visés, comme la souris et la truite arc-en-ciel. Dans tous les cas, les protéines Cry34 et Cry35Ab1 se sont révélées sans danger pour ces espèces indicatrices lorsqu'elles étaient ingérées seules ou en combinaison, à des doses excédant les niveaux d'exposition directe ou indirecte aux protéines Cry34 et Cry35Ab1 des tissus de la lignée de maïs 59122. Même si on a signalé une inhibition de la croissance chez les larves de *Coleomegilla maculata* qui se nourrissaient de protéine Cry34Ab1 à des concentrations à peu près 10 fois supérieures à celles retrouvées dans le pollen, aucun retard de développement ni réduction de poids n'ont

été observés quand le régime alimentaire des larves était constitué de 50 % de pollen de la lignée de maïs 59122, ce qui représente en fait une estimation prudente de l'exposition réelle au champ. Par conséquent, on ne s'attend pas à ce que l'exposition de la coccinelle *C. maculata* à la lignée de maïs 59122 ait des effets sub-létaux dans les conditions existant au champ.

Une étude sur des poulets à griller et la lignée de maïs 59122 a montré que ce grain est sans danger et qu'il est aussi nutritif pour les oiseaux que celui du maïs non modifié.

On a également montré que les protéines Cry34 et Cry35Ab1 se décomposent rapidement dans le sol, ce qui signifie qu'il est peu probable qu'elles s'y accumulent et y persistent.

Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont également présenté les résultats d'études d'observation au champ sur la stabilité et l'abondance des organismes non visés (communautés d'arthropodes et espèces individuelles) où le maïs exprimant les protéines Cry34 et Cry35Ab1 est cultivé. Les espèces étudiées comprenaient des représentants de divers groupes fonctionnels (prédateurs, parasitoïdes, herbivores et détritivores) et elles ont été échantillonnées à l'aide d'observations visuelles des plantes de maïs, de pièges collants, de pièges à fosse ou de sacs de litière. Les études n'ont révélé aucun impact négatif de la lignée 59122 sur l'abondance de ces organismes non visés par rapport au témoin hybride non-*B.t.*

Le caractère de tolérance à l'herbicide du maïs de la lignée 59122 lui est confirmé par l'expression de la phosphinothricine N-acétyltransférase (PAT). La protéine PAT a été abondamment étudiée et elle se révèle sans danger pour les organismes non visés, dont les êtres humains.

Le maïs ne produit pas de concentrations significatives de toxines endogènes et l'événement de transformation dont la lignée 59122 est issue ne devrait pas être de nature à induire leur synthèse. On sait cependant que le maïs produit de faibles concentrations de l'inhibiteur de la trypsine ainsi que d'acide phytique, mais il a été établi que la lignée 59122 présentait des concentrations de ces substances équivalentes à celles des lignées classiques de maïs. Par conséquent, la modification génétique n'a pas modifié l'expression des facteurs antinutritionnels endogènes.

L'ACIA estime par conséquent que la dissémination en milieu ouvert de la lignée 59122, comparativement aux variétés de maïs actuellement commercialisées, ne modifiera pas de façon appréciable l'impact du végétal sur les organismes non visés.

5. Impact possible de la lignée de maïs 59122 sur la biodiversité

La lignée de maïs 59122 ne possède aucun caractère phénotypique nouveau qui puisse en étendre l'utilisation au-delà des zones maïsicoles canadiennes actuelles. Étant donné que le maïs ne s'hybride avec aucune espèce sauvage apparentée, aucun caractère nouveau ne sera transféré dans les milieux sauvages.

La lignée de maïs 59122 cible certaines espèces de coléoptères nuisibles, mais il a été démontré que cette lignée est sans danger pour les organismes non visés. La répression des organismes nuisibles aux cultures est une pratique courante au Canada, et elle ne se limite pas à la dissémination dans l'environnement de VCN; par conséquent, la réduction des populations locales d'espèces nuisibles résultant de la dissémination de la lignée de maïs 59122 ne constitue pas un changement important par rapport aux pratiques agricoles existantes.

L'utilisation d'herbicides à large spectre d'activité vise à réduire les populations locales de mauvaises herbes dans les champs agricoles, ce qui peut entraîner une réduction locale de la biodiversité de ces espèces ainsi que des espèces d'autres niveaux trophiques qui utilisent ces mauvaises herbes. Il faut noter toutefois que la réduction de la biodiversité des mauvaises herbes dans les champs agricoles n'est pas propre à l'utilisation de cultures tolérantes aux herbicides, et qu'il s'agit au contraire d'une conséquence commune de presque tous les systèmes modernes d'agriculture.

L'ACIA en conclut donc que l'impact possible de la lignée de maïs 59122 sur la biodiversité n'est pas très différent de celui de variétés de maïs actuellement cultivées au Canada.

6. Possibilité que les insectes nuisibles visés acquièrent une résistance à la lignée de maïs 59122

Pour réduire au minimum l'apparition, chez les insectes, d'une résistance aux VCN exprimant une nouvelle résistance à des insectes, l'ACIA exige la mise en œuvre d'un plan de gestion de la résistance des insectes (GRI) pour la culture de ces produits. Puisque les coléoptères ont une grande capacité d'acquisition de résistance aux insecticides chimiques classiques, il est donc raisonnable de s'attendre à ce qu'ils puissent acquérir une résistance aux propriétés insecticides de la lignée de maïs 59122. Le plan suivant de GRI vise à réduire ou à retarder l'acquisition de résistance à la protéine binaire Cry34/35Ab1 chez la chrysomèle. L'une des stratégies du plan de GRI consiste à établir, à l'intérieur ou en périphérie du champ où le maïs de la lignée 59122 sera cultivé, un refuge de maïs sensible à la chrysomèle. Ainsi, si des insectes devaient acquérir une résistance au maïs *B.t.*, ils pourraient se reproduire avec des insectes sensibles, ce qui contribuerait à réduire la fréquence des gènes de résistance au sein de la population d'insectes.

L'ACIA estime que des pratiques de saine gestion ainsi que des stratégies de GRI judicieuses peuvent considérablement limiter et retarder l'apparition de populations de chrysomèles résistantes à la protéine binaire Cry34/35Ab1. Ces dernières doivent cependant faire l'objet d'une surveillance régulière et continue pour que soient détectés les cas de résistance.

L'ACIA tient pour acquis que la Dow AgroSciences et la Pioneer Hi-Bred ont élaboré et mettront en œuvre un plan de gestion de la résistance des insectes comportant les éléments essentiels suivants :

- i) L'aménagement de refuges structurés afin d'assurer la présence d'une population de chrysomèles qui n'a pas été exposée à la protéine binaire Cry34/35Ab1 et qui peut s'accoupler avec les insectes résistants qui pourraient émerger de la culture de maïs *B.t.*
- ii) La détection hâtive des populations de chrysomèles résistantes à la protéine insecticide exprimée par le maïs revêt une importance extrême. Une surveillance étroite visant à détecter la présence éventuelle de telles populations dans les champs de maïs résistant à la chrysomèle ou dans les environs est par conséquent justifiée. Il faudra à cette fin élaborer des méthodes adéquates : observation visuelle des champs, épreuves biologiques en laboratoire, calendriers de rapports, éducation des producteurs et imposition de mesures en cas d'apparition de résistance.
- iii) Des outils de formation devront être mis au point et fournis à tous les producteurs, gestionnaires de district et responsables au champ. Ceux-ci comprendront des informations sur le rendement des produits, la gestion de la résistance, les méthodes et les calendriers de surveillance, les protocoles de détection des sujets résistants, la marche à suivre pour communiquer avec la Dow AgroSciences et la Pioneer Hi-Bred ainsi que des indications sur les stratégies à adopter en cas de dégâts anormalement élevés imputables à la chrysomèle.
- iv) Les sociétés Dow AgroSciences et Pioneer Hi-Bred devront avoir préparé une procédure d'intervention pour les cas où on lui signalerait de tels dégâts. Cette procédure comprendra, si les circonstances l'exigent, le prélèvement de tissus végétaux et d'insectes nuisibles, le recours à des épreuves biologiques permettant d'évaluer les cas présumés de résistance à la protéine Cry34/35Ab1 ainsi que le protocole d'application immédiate des mesures de lutte contre les sujets résistants.
- v) Il faudra immédiatement signaler à l'ACIA la détection d'une population de chrysomèles dont la résistance est confirmée et lui communiquer le plan d'intervention établi.
- vi) Il faudra promouvoir des pratiques de lutte intégrée, comme la prévision des infestations à partir des données des saisons antérieures et la rotation des cultures.

Les recherches liées au plan de GRI proposé se poursuivent, et les nouvelles données acquises au fil de ces recherches seront utilisées pour déterminer si le plan actuel de GRI doit être maintenu dans sa forme actuelle, ou s'il sera modifié. Par conséquent, le renouvellement de l'autorisation actuelle d'une durée de un an ne sera accordé que si Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. font la preuve de progrès significatifs dans leurs recherches sur la gestion de la résistance des chrysomèles.

Nota : Le Bureau de la biosécurité végétale vérifie périodiquement la conformité aux exigences en matière de GRI.

7. Possibilité d'émergence de sujets spontanés tolérants à de multiples herbicides et de mauvaises herbes tolérantes aux herbicides

L'adoption généralisée de plusieurs cultures différentes dotées de types nouveaux de tolérance aux herbicides pourrait aussi entraîner l'émergence de sujets spontanés présentant une gamme de tolérances à divers herbicides. Par conséquent, cette technologie doit être utilisée dans le cadre d'une approche intégrée pouvant comprendre des herbicides à modes d'action différents ou d'autres méthodes de lutte contre les mauvaises herbes. Il faut également éviter d'utiliser, pour la rotation des cultures, des espèces qui seraient toutes tolérantes au même herbicide. L'utilisation continue du même herbicide risque également d'exercer une pression sélective importante et pourrait favoriser l'apparition de mauvaises herbes résistant à cet herbicide. Par conséquent, le personnel de vulgarisation agricole des secteurs public et privé doit promouvoir des pratiques de lutte vigilantes auprès des producteurs qui utilisent ces lignées tolérant un herbicide afin de réduire au minimum l'apparition de sujets spontanés résistant à plusieurs herbicides et de populations de mauvaises herbes tolérant les herbicides. L'ACIA tient pour acquis que Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont élaboré et qu'ils mettront en œuvre un Plan de gestion des herbicides concernant le maïs tolérant au glufosinate, qui tient compte de ces éléments.

V. Critères d'évaluation en vue de l'utilisation comme aliment du bétail

1. Effets possibles sur la nutrition du bétail

Composition nutritionnelle du maïs de la lignée 59122

La composition du grain et du fourrage de maïs issus de la lignée 59122 a été comparée à celle de la lignée témoin (05F/581) au cours d'une étude menée aux États-Unis et au Canada portant sur 5 champs différents. L'analyse du fourrage a porté sur la détermination de la teneur des éléments suivants : protéines brutes, matières grasses

brutes, cendres, fibres brutes, FDA et NDF, calcium et phosphore. Quant à l'analyse du grain, outre les éléments susmentionnés, on a aussi déterminé les teneurs en acides aminés, en minéraux (Cu, Fe, Mg, Mn, K, Na et Zn), en vitamines (bêta-carotène, B1, B2, acide folique, E), en métabolites secondaires (inositol, raffinose, furfural, acide p-coumarique et acide férulique) de même qu'en acide phytique. Les analyses ont porté sur le maïs de la lignée 59122, tant celui traité que celui non traité au glufosinate, ainsi que sur le maïs de la lignée témoin non traité.

Une deuxième étude réalisée au Chili, à six endroits différents, comprenait les mêmes analyses du grain et du fourrage du maïs de la lignée 59122 (traité et non traité au glufosinate) ainsi que du maïs de la lignée témoin non traité.

Des différences persistantes ont été observées à certains endroits dans les deux études, parmi lesquelles des teneurs plus élevées en protéines brutes, en calcium et en phosphore dans la lignée 59122 que dans la lignée témoin. Dans l'étude nord-américaine, les taux de vitamine B1 étaient aussi beaucoup plus élevés dans cette lignée, mais cette différence n'a pas été observée dans l'étude chilienne. Dans tous les cas (autres que celui de la vitamine B1), les quantités d'éléments nutritifs et de facteurs antinutritionnels se sont révélées similaires à celles indiquées dans la littérature. En ce qui a trait à la vitamine B1, la concentration observée se situait dans les limites de l'étendue de référence présentée par le demandeur pour les hybrides cultivés et analysés à l'aide de méthodes semblables à celles employées dans les études présentées. L'entreprise note que, dans ces études, la variation observée dans la composition est semblable à celle observée dans les lignées de maïs commerciales. Le demandeur a démontré que la lignée 59122 est équivalente aux lignées de maïs classiques en ce qui a trait à la nutrition animale.

2. Effets possibles sur le bétail et les travailleurs ou des tiers

D'après l'utilisation passée des protéines Cry de *B.t.* d'origine bactérienne et selon les publications traitant du sujet, il ressort que ces substances ne sont pas toxiques pour les humains ni pour les autres vertébrés. Les mélanges insecticides microbiens renfermant des protéines Cry de *B.t.* se sont révélés peu toxiques pour les mammifères dans les études effectuées au cours des 40 dernières années. Les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 ne présentent pas d'homologie biologique appréciable avec des toxines ou allergènes connus, et ces protéines ne se retrouvent qu'en faibles quantités dans les aliments du bétail. Il s'agit en outre de protéines thermolabiles qui sont rapidement décomposées dans le tube digestif. D'après les niveaux maximums calculés pour l'exposition du bétail aux protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 dans l'alimentation, on ne s'attend pas à ce qu'il y ait d'effets néfastes.

L'enzyme PAT est hautement spécifique de son substrat et elle a été bien définie. L'exposition à la protéine PAT n'est pas nouvelle. À l'origine, le gène *pat* a été isolé d'une bactérie courante du sol, *Streptomyces viridochromogenes*. Ce gène est présent

dans le milieu et n'a pas d'effet nuisible connu sur les humains et les animaux. De plus, la protéine PAT codée par le gène *pat* est exprimée dans diverses plantes cultivées autorisées au Canada. La protéine PAT ne présente pas d'homologie biologique appréciable avec des toxines ou des allergènes connus, et elle ne se retrouve qu'en faible quantité dans les aliments du bétail. Il s'agit en outre d'une protéine thermolabile qui est rapidement décomposée dans le tube digestif. D'après les niveaux maximums calculés pour l'exposition du bétail à la protéine PAT dans l'alimentation, on ne s'attend pas à ce qu'il y ait d'effets néfastes.

Selon les niveaux d'exposition prévus et les résultats des épreuves susmentionnées, l'exposition aux protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT ne devrait pas présenter de risque significatif pour le bétail ni pour les travailleurs ou les tiers.

VI. Nouveaux renseignements requis

Si, une fois l'autorisation de la dissémination de la lignée 59122 dans l'environnement accordée, Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. prennent connaissance de nouvelles données en matière de risque pour l'environnement, pour la santé des humains ou des animaux pouvant résulter de la dissémination de la lignée de maïs 59122, Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. doivent immédiatement en informer l'ACIA. À la lumière de ces renseignements nouveaux, l'ACIA réévaluera le risque potentiel pour l'environnement et la santé humaine ou animale qui pourrait résulter de la dissémination dans l'environnement de la lignée 59122 et réexaminera sa décision à l'égard de l'utilisation comme aliment du bétail et de la dissémination dans l'environnement de cette lignée de maïs. L'ACIA peut maintenir, modifier ou supprimer les conditions existantes concernant la dissémination; imposer des conditions additionnelles concernant la dissémination; ou refuser ou annuler une autorisation ainsi qu'exiger du demandeur qu'il cesse la dissémination de ce végétal et qu'il prenne les moyens appropriés nécessaires pour l'éliminer de l'environnement ou réduire au minimum le risque imposé à l'environnement.

VII. Décision réglementaire

Après examen des données et des renseignements présentés par Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc., et après comparaison de la lignée 59122 avec des contreparties de maïs non modifiées, le Bureau de la biosécurité végétale de l'ACIA conclut que les gènes nouveaux et leurs caractères correspondants ne confèrent pas à la lignée 59122 des caractéristiques qui entraîneraient des effets sensibles sur l'environnement, intentionnels ou non, après dissémination en milieu ouvert. Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc. ont élaboré un plan de gestion de la résistance des insectes qu'ils prévoient mettre en œuvre.

Après examen des données et des renseignements présentés par Dow AgroSciences Canada Inc. et Pioneer Hi-Bred Production Inc., et après comparaison de la lignée 59122 avec des contreparties de maïs non modifiées, la Section des aliments du bétail de l'ACIA conclut que le gène modifié et son caractère correspondant ne confèrent pas à ce végétal de caractéristiques qui pourraient susciter des inquiétudes quant à l'innocuité ou à la composition nutritionnelle de la lignée 59122 pour les animaux d'élevage. Le maïs-grain, ses sous-produits et l'huile de maïs figurent déjà à l'annexe IV du *Règlement sur les aliments du bétail* et peuvent donc être utilisés dans les aliments du bétail au Canada. La lignée de maïs 59122 a été évaluée et s'est révélée essentiellement équivalente aux variétés de maïs classiques, en ce qui a trait à l'innocuité et à la valeur nutritionnelle. La lignée 59122 et ses produits sont considérés comme satisfaisant à la définition actuelle d'ingrédient, et leur utilisation en cette qualité dans les aliments du bétail est approuvée au Canada.

La dissémination en milieu ouvert de la lignée de maïs 59122 et son utilisation comme aliment du bétail sont par conséquent autorisées à compter du 18 novembre 2005. L'autorisation est limitée à un an. Le renouvellement de cette autorisation est conditionnel à la présentation d'autres résultats de recherche sur la gestion de la résistance des chrysomèles des racines du maïs. La dissémination en milieu ouvert et l'utilisation comme aliment du bétail sont également autorisées pour tous les descendants de la lignée 59122 et ses lignées soeurs issues de la transformation originale ainsi que tous leurs descendants pourvu qu'aucun croisement interspécifique ne soit réalisé, que les utilisations prévues soient semblables, qu'une caractérisation ait démontré que ces végétaux ne présentent aucun autre caractère nouveau additionnel et qu'ils soient essentiellement équivalents, quant à l'utilisation précise à laquelle ils sont destinés et au risque qu'ils présentent pour l'environnement ainsi que pour la santé humaine et animale, aux végétaux actuellement cultivés, et pourvu que les nouveaux gènes soient exprimés à un niveau semblable à celui de la lignée autorisée et pourvu que les exigences en matière de gestion de la résistance des insectes énoncées dans le présent document soient respectées.

La lignée de maïs 59122 est soumise aux mêmes exigences phytosanitaires que ses contreparties non modifiées.

On peut consulter les Décisions relatives aux aliments nouveaux de Santé Canada pour une description de l'évaluation de l'innocuité alimentaire de la lignée de maïs 59122. Les Décisions relatives aux aliments nouveaux sont accessibles sur le site Web de Santé Canada :

http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmf-agm/appro/index_f.html