

Document de décision DD2006-59

Détermination de l'innocuité du maïs (*Zea mays* L.) lignée DAS-06275-8 résistant aux insectes et tolérant au glufosinate-ammonium de Dow AgroSciences Canada 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*, BIO1994-11 *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 de l'ACIA, a évalué les données présentées par la société Dow AgroSciences Canada Inc. Ces données ont trait à la lignée de maïs DAS-06275-8 résistant aux lépidoptères et tolérant le 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 ce végétal, par rapport aux variétés de maïs déjà commercialisées au Canada.

La dissémination en milieu ouvert de la lignée de maïs DAS-06275-8 et son utilisation comme aliment du bétail est autorisée à compter du 19 juin 2006. 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 celui observé dans 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 DAS-06275-8 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 available in English)

19 juin 2006

Ce document est publié par la Division de la santé des animaux et de l'élevage et la Direction des produits végétaux de 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) 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 modifié	1
II.	Renseignements de base	1
III.	Description des nouveaux caractères	2
	1. Méthode de mise au point	2
	2. Résistance aux lépidoptères nuisibles du maïs	3
	3. Tolérance au glufosinate-ammonium	4
	4. Stabilité de l'intégration au génome de la plante	5
IV.	Critères d'évaluation du risque environnemental	6
	1. Possibilité que la lignée de maïs DAS-06275-8 se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou qu'elle envahisse les milieux naturels	6
	2. Possibilités de flux génétique de la lignée de maïs DAS-06275-8 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	6
	3. Possibilité que la lignée DAS-06275-8 devienne nuisible	7
	4. Impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur les organismes non visés	7
	5. Impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur la biodiversité	8
	6. Possibilité que les insectes nuisibles visés acquièrent une résistance à la lignée de maïs DAS-06275-8	9
	7. Possibilité d'émergence de sujets spontanés tolérants à de multiples herbicides et de mauvaises herbes tolérantes aux herbicides	11
V.	Critères d'évaluation en vue de l'utilisation comme aliment du bétail	11
	1. Effets possibles sur la nutrition du bétail	11
	2. Effets possibles sur le bétail ainsi que sur les travailleurs et des tiers	12
VI.	Nouveaux renseignements requis	13
VII.	Décision réglementaire	13

I. Brève identification du végétal modifié

Désignation(s) du végétal modifié :	Lignée de maïs DAS-06275-8 Bt Cry1F, identificateur de l'OCDE DAS-06275-8
Demandeur :	Dow AgroSciences Canada Inc.
Espèce :	Maïs (<i>Zea mays</i> L.)
Caractères nouveaux :	Résistance à certains lépidoptères nuisibles du maïs, notamment la pyrale du maïs (<i>Ostrinia nubilalis</i> .), le ver de l'épi du maïs (<i>Helicoverpa zea</i>), la légionnaire d'automne (<i>Spodopera frugiperda</i>) et le ver-gris noir (<i>Agrotis ipsilon</i>). Tolérance au glufosinate-ammonium, un herbicide
Méthode d'introduction des caractères :	Transformation au moyen d' <i>Agrobacterium</i>
Emploi proposé du végétal modifié :	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 végétal ne sera pas cultivé à l'extérieur des zones maïsicoles normales.

II. Renseignements de base

Dow AgroSciences Canada Inc. a mis au point des lignées de maïs à partir de la lignée DAS-06275-8 résistante à certains lépidoptères nuisibles et tolérante à un herbicide, le glufosinate-ammonium. La lignée de maïs désignée DAS-06275-8 a été mise au point pour réduire les pertes de rendement associées aux ravages causés par certains lépidoptères nuisibles et pour lutter contre les mauvaises herbes dans les cultures de maïs.

La lignée de maïs DAS-06275-8 a été mise au point grâce à la technique de l'ADN recombinant, qui a permis d'introduire dans le végétal des gènes bactériens conférant une résistance à certains lépidoptères nuisibles et une tolérance au glufosinate-ammonium.

Dow AgroSciences Canada Inc. a fourni des données sur l'identité de la lignée de maïs DAS-06275-8, 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, sur le degré d'expression de ces gènes chez ce végétal et sur 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. a également fourni une évaluation de leur toxicité potentielle pour le bétail et les organismes non visés, une évaluation de leur potentiel allergène pour l'humain et le bétail ainsi que les publications scientifiques pertinentes.

Les données d'essais au champ en conditions confinées menés en 2002 sur la lignée de maïs DAS-06275-8 ont été soumises à l'ACIA. Les données provenant d'essais au champ réalisés aux États-Unis et au Chili ont également été présentées pour appuyer la demande.

Les caractéristiques agronomiques des hybrides de maïs issus de la lignée DAS-06275-8, telles que la précocité de l'établissement, la vigueur végétative, la précocité de maturation, la période de floraison, la sensibilité à divers ravageurs et pathogènes du maïs et la production de graines, ont été comparées à celles de contreparties de maïs non modifiées et modifiées à partir de la lignée de transformation autorisée 1507. Ces comparaisons ont également fait partie de l'évaluation de l'innocuité.

Le Bureau de la biosécurité végétale (BBV) 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 94-08 (Dir94-08) intitulée *Critères d'évaluation du risque environnemental associé aux végétaux à caractères nouveaux* :

- possibilité que la lignée de maïs DAS-06275-8 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 DAS-06275-8 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 DAS-06275-8 devienne nuisible;
- effets possibles de la lignée de maïs DAS-06275-8 ou de ses produits géniques sur des espèces non visées, y compris l'être humain;
- effets possibles de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur la biodiversité.

La Section des aliments du bétail de l'ACIA a également examiné les renseignements susmentionnés 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 95-03 (Dir95-03) intitulée *Directive relative à l'évaluation des aliments nouveaux du bétail : Origine végétale* :

- impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur la nutrition du bétail;
- impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur le bétail ainsi que sur les travailleurs ou des tiers.

III. Description des nouveaux caractères

1. Méthode de mise au point

La lignée de maïs DAS-06275-8 a été obtenue par transformation au moyen d'*Agrobacterium* de la lignée de maïs Hi-II, issue d'un croisement A188 x B73. Le gène synthétique *cryIF* et le gène *bar* 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 DAS-06275-8 a été identifiée comme un transformant efficace et retenue pour les travaux de mise au point ultérieure.

2. Résistance aux lépidoptères nuisibles du maïs

Bacillus thuringiensis var. *aizawai* est une bactérie Gram positif courante dans le sol. Au stade de la sporulation, il produit plusieurs cristaux protéiques insecticides, dont la δ -endotoxine Cry1F, active contre certains lépidoptères nuisibles, comme la pyrale du maïs. On sait que cette protéine n'est pas toxique pour les humains, ni pour les autres vertébrés, ni pour les invertébrés autres que les lépidoptères. 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.

Un gène artificiel *cryIF* conçu de manière à s'exprimer de façon maximale chez le maïs a été introduit chez l'hybride Hi-II. Ce gène code une protéine insecticide tronquée très semblable à la protéine native de *B. thuringiensis* var. *aizawai*. La protéine Cry1F exprimée dans la lignée DAS-06275-8 est identique à la protéine Cry1F exprimée dans la lignée 1507, dont la dissémination en milieu ouvert et l'utilisation comme aliment du bétail sont autorisées au Canada (Document de décision DD2002-41). La protéine exprimée par *B. thuringiensis* var. *aizawai* a des propriétés insecticides contre certaines espèces de lépidoptères lorsque, dans l'intestin de l'insecte, elle est scindée en plusieurs fragments, dont un noyau bioactif qui résiste à la trypsine. L'activité insecticide dépendrait de la fixation du fragment actif à des récepteurs spécifiques situés dans l'épithélium de l'intestin moyen des insectes sensibles, provoquant la formation de pores qui perturbent l'équilibre osmotique, entraînant ultimement la lyse des cellules et la mort de l'insecte.

Des échantillons de tissus de maïs de la lignée DAS-06275-8 ont été prélevés à divers stades de croissance dans six champs expérimentaux représentatifs aux États-Unis et au Canada. Les niveaux d'expression ont été mesurés à divers stades de croissance végétale par dosage immunoenzymatique. Les valeurs de l'expression de la protéine Cry1F en nanogrammes de protéine par milligramme de poids sec de tissu végétal (ng/mg p.s.) obtenues sont les suivantes : de 15 à 30,9 pour les différents stades de croissance foliaire; de 6,75 à 8,82 pour les différents stades de croissance des racines; 7,61 dans la tige, 1,04 dans le grain, 4,58 dans le pollen et 13,9 dans le fourrage. Comme on s'y attendait, les concentrations de Cry1F sont moins élevées dans les tissus de maïs sénescents. Par ailleurs, il a déjà été démontré que la protéine Cry1F se dégrade rapidement dans le sol.

La protéine Cry1F exprimée dans la lignée DAS-06275-8 est identique à celle exprimée dans la lignée 1507. Les études à l'appui de la demande présentée pour

la lignée 1507 ont montré que, contrairement à de nombreux allergènes, la protéine Cry1F se dégrade rapidement dans un liquide gastrique simulé. La protéine Cry1F n'est plus bioactive après exposition à une température élevée (> 75 °C). Une recherche d'homologie de séquences d'acides aminés entre la protéine Cry1F et des allergènes connus n'a pas révélé d'homologie appréciable (soit au moins 8 acides aminés identiques contigus).

De plus, il a été démontré que la protéine Cry1F exprimée dans la lignée DAS-06275-8 n'est pas glycosylée, une autre indication selon laquelle les propriétés de la protéine Cry1F diffèrent de celles des allergènes connus.

Des épreuves ont été réalisées pour montrer l'équivalence entre la protéine Cry1F exprimée dans la lignée de maïs DAS-06275-8 et la protéine Cry1F d'origine bactérienne utilisée dans les essais réalisés chez les organismes non visés et dans les épreuves biochimiques. Les protéines Cry1F d'origine végétale et bactérienne se sont révélées biochimiquement équivalentes. La protéine Cry1F de ces deux sources s'est avérée sensible au clivage par la protéase. Il en a résulté une version tronquée d'environ 65 kDa. Il a été démontré que la réactivité immunologique des deux protéines était similaire, et aucune glycosylation n'a été décelée. La spectrométrie de masse à temps de vol par désorption-ionisation par impact laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS) et l'analyse de la séquence N-terminale ont permis d'établir l'équivalence de séquence des deux protéines.

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 *bar*) introduit dans la lignée de maïs DAS-06275-8 code la phosphinothricine N-acétyltransférase (BAR), une enzyme qui détoxifie la phosphinothricine en la transformant par acétylation en un composé inactif.

À l'origine, le gène *bar* a été isolé chez une bactérie aérobie du sol, *Streptomyces hygroscopicus*. L'enzyme BAR est donc présente naturellement dans le sol. De manière générale, les acétyltransférases sont omniprésentes dans la nature.

Le gène *bar* exprimé dans la lignée de maïs DAS-06275-8 est lié à un promoteur constitutif. Des échantillons de tissus de maïs de la lignée DAS-06275-8 ont été prélevés à divers stades de croissance dans six champs expérimentaux représentatifs aux États-Unis et au Canada. Les niveaux d'expression ont été mesurés à divers stades de croissance végétale par dosage immunoenzymatique. Les valeurs de l'expression de la protéine BAR en nanogrammes de protéine par milligramme de poids sec de tissu végétal (ng/mg p.s.) obtenues sont les suivantes : de 129,2 à 224,2 pour les différents stades de croissance foliaire; de 61,1 à 70,0 pour les différents stades de croissance des racines; 103,3 dans la tige, 5,94 dans le

grain, 0,73 dans le pollen et 106,9 dans le fourrage. Comme on s'y attendait, les concentrations de protéine BAR sont moins élevées dans les tissus de maïs sénescents.

Les protéines allergènes résistent normalement à la digestion. Or, ce n'est pas le cas de la protéine BAR. Il a en effet été démontré qu'elle est rapidement digérée dans un liquide gastrique simulé.

La séquence des acides aminés de la protéine BAR ne présente aucune homologie notable avec celle de toxines répertoriées dans la base de données GENBANK ou des allergènes (comparaison basée sur la présence de séquences d'au moins 8 acides aminés identiques contigus) figurant dans les bases de données courantes de séquences protéiques.

Le gène *bar* a été exprimé dans un système d'expression bactérien, et l'enzyme résultante a été utilisée pour réaliser des études toxicologiques et on l'a aussi utilisée dans la détermination de l'expression de la protéine chez la plante modifiée. La protéine BAR exprimée dans la lignée de maïs DAS-06275-8 a été comparée à la protéine bactérienne. Les protéines BAR d'origine végétale et bactérienne se sont révélées biochimiquement équivalentes. On a montré que les deux protéines avaient un poids moléculaire et une réactivité immunologique similaires. Aucune glycosylation n'a été détectée. La spectrométrie de masse à temps de vol par désorption-ionisation par impact laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS) et l'analyse de la séquence N-terminale ont permis d'établir l'équivalence de la séquence des deux protéines.

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

L'analyse par transfert de Southern du génome de la lignée de maïs DAS-06275-8 et le séquençage de l'insert et des régions flanquantes indiquent qu'une seule copie intacte de la cassette d'expression du gène *bar* et une copie tronquée en 5' de la cassette d'expression du gène *cryIF* sont intégrées à un seul locus dans le génome de la lignée de maïs DAS-06275-8. L'analyse par transfert de Southern et le séquençage ont confirmé l'absence de gènes plasmidiques dans le génome de la lignée de maïs DAS-06275-8.

La cassette d'expression du gène tronqué *cryIF* renferme la séquence codante complète de la protéine Cry1F avec un gène promoteur tronqué et un gène terminateur intact. Le séquençage de 521 paires de bases en amont et de 2059 paires de base en aval de l'insert tronqué a révélé qu'aucun gène endogène du maïs n'est interrompu par l'insert. Le séquençage en amont n'a révélé la présence d'aucune séquence promoteur connue. Une étude menée par Salgueiro et ses collaborateurs (2000) indique que la transcription du gène *cryIF* pourrait être dirigée par l'intron tronqué du gène de l'ubiquitine présent dans la construction génique.

La transmission héréditaire et la stabilité de chacun des caractères introduits ont été déterminées au moyen d'une combinaison de transferts de Southern, de dosages immunologiques à flux latéral de la protéine Cry1F exprimée et

d'épreuves biologiques sur la tolérance à l'herbicide par rapport à la protéine BAR exprimée.

La stabilité génétique de l'insert à une étape précise du processus de sélection (génération BC4S1) et le lien entre le génotype et l'expression du caractère phénotypique ont été démontrés. La stabilité de l'insert a également été confirmée sur deux autres générations. Des analyses de ségrégation ont été réalisées sur quatre autres générations pour évaluer la transmission héréditaire des caractères de résistance aux insectes et de tolérance aux herbicides.

Les résultats de l'analyse confirment la présence d'un seul site d'insertion actif qui se transmet selon les lois de la génétique mendélienne.

Dow AgroSciences Canada Inc. a fourni à l'ACIA une méthode pour détecter et identifier le maïs mis au point à partir de la lignée DAS-06275-8.

IV. Critères d'évaluation du risque environnemental

1. Possibilité que la lignée de maïs DAS-06275-8 se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou qu'elle envahisse les milieux naturels

La biologie du maïs, décrite dans le document BIO1994-11, 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., la lignée de maïs DAS-06275-8 et les hybrides issus de ce maïs 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. en ce qui concerne le potentiel reproductif et la capacité de survie des hybrides de maïs issus de la lignée DAS-06275-8 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 végétaux, 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, puisque aucun caractère ayant trait à la reproduction ou à la croissance n'a été modifié.

À la lumière de ce qui précède et du fait que les caractères nouveaux ne rendent manifestement pas le végétal nuisible ou envahissant, l'ACIA conclut que le risque que la lignée de maïs DAS-06275-8 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 de la lignée de maïs DAS-06275-8 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 BIO1994-11 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 DAS-06275-8 vers des espèces sauvages apparentées ne peut pas se produire au Canada.

3. Possibilité que la lignée DAS-06275-8 devienne nuisible

Les effets recherchés au moyen des deux caractères nouveaux n'ont aucun lien avec le fait que le végétal puisse devenir une mauvaise herbe, sans compter que le maïs n'est pas considéré comme une espèce nuisible au Canada (BIO1994-11). 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 à la pyrale du maïs et à d'autres lépidoptères nuisibles du maïs, lesquels ne sont pas connus en tant que facteurs limitant l'établissement et la dissémination du maïs au Canada.

Certains éléments génétiques insérés dans le génome de la lignée DAS-06275-8 proviennent de *Agrobacterium tumefaciens*, mais aucun des gènes responsables du pouvoir pathogène de la bactérie 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 DAS-06275-8.

L'ACIA estime par conséquent que la lignée DAS-06275-8 ne présente aucun risque accru de devenir un végétal nuisible.

4. Impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur les organismes non visés

L'utilisation passée des δ -endotoxines de *B.t.* d'origine bactérienne ainsi que les publications traitant du sujet montrent que ces substances n'agissent que sur 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 Cry1F de *B.t.* produite par la lignée de maïs DAS-06275-8 n'agit que sur certaines espèces de lépidoptères; aucun lépidoptère figurant sur la liste des espèces canadiennes menacées ou en danger de disparition ne sera exposé de manière significative à la protéine Cry1F produite par la culture à grande échelle du maïs issu de la lignée DAS-06275-8.

La protéine Cry1F exprimée dans la lignée DAS-06275-8 est identique à la protéine Cry1F exprimée dans une lignée de maïs approuvée antérieurement, la lignée 1507. Le pollen et les grains sont des sources possibles d'exposition

d'organismes non visés à la protéine Cry1F exprimée dans le maïs. L'expression de la protéine Cry1F dans le pollen est de trois à six fois moins importante que dans la lignée 1507. L'expression de la protéine Cry1F dans les grains est similaire dans les deux lignées. On sait que la protéine Cry1F se dégrade rapidement dans le sol.

Les résultats d'études de toxicité alimentaire chez des organismes non visés présentés à l'appui de la demande d'approbation de la lignée 1507 ont montré que la protéine Cry1F, ingérée à des doses nettement supérieures aux niveaux d'exposition associés aux tissus de maïs de la lignée 1507, n'avait aucun effet sur l'abeille domestique, la larve de la chrysope verte, les coccinellidés, la daphnie, le collembole, les hyménoptères parasites, le ver de terre, le colin de Virginie et la souris. Il a également été démontré que la protéine Cry1F n'était pratiquement pas toxique pour la larve de monarque, même à des doses de 10 mg de toxine/ml de nourriture, un niveau qui dépasse largement l'exposition prévue dans le milieu, selon les données des essais sur le terrain. Étant donné que l'expression de la protéine dans le pollen de la lignée 6575 est nettement moins élevée que dans la lignée 1507, les marges de sécurité de la lignée DAS-06275-8 sont plus grandes que celles de la lignée 1507.

De plus, Dow AgroSciences Canada Inc. a présenté les résultats d'une nouvelle étude de toxicité alimentaire chez la truite arc-en-ciel. Aucune mortalité ni effet subléthal n'a été observé après que des poissons ont été nourris pendant huit jours avec une moulée ordinaire contenant 100 mg de protéine Cry1F par kg de nourriture. Ces résultats confirment l'innocuité de la lignée DAS-06275-8 chez le poisson.

Le caractère de tolérance à l'herbicide du maïs de la lignée DAS-06275-8 lui est conféré par l'expression de la phosphinothricine N-acétyltransférase (BAR). Une étude faisant appel au gavage intensif de souris a permis d'évaluer la toxicité de la protéine BAR. Aucune mortalité ni observations cliniques anormales n'ont été enregistrées pendant les deux semaines de l'expérience au cours de laquelle les souris ont reçu une dose de 3250 mg de protéine BAR par kg de poids corporel. Les enzymes phosphinothricines N-acétyltransférases, dont la protéine BAR exprimée dans la lignée DAS-06275-8, ont fait l'objet de nombreuses études qui ont montré qu'elles pouvaient être utilisées sans danger dans l'alimentation des humains et des animaux.

Le maïs ne produit pas de concentrations significatives de toxines endogènes et l'événement de transformation dont la lignée DAS-06275-8 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 et d'acide phytique. Il a été établi que la lignée DAS-06275-8 présentait des concentrations équivalentes à celle des lignées témoins et que la modification génétique n'a pas modifié l'expression des toxines endogènes.

L'ACIA estime par conséquent que la dissémination en milieu ouvert de la lignée DAS-06275-8 n'entraînera pas d'effet différent sur les organismes non visés, comparativement aux variétés de maïs actuellement commercialisées.

5. Impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur la biodiversité

La lignée de maïs DAS-06275-8 ne possède aucun caractère phénotypique nouveau qui puisse en étendre l'utilisation au-delà des zones maïsicoles canadiennes actuelles. Comme au Canada il n'y a pas d'espèces sauvages apparentées au maïs, aucun caractère nouveau ne sera transféré dans les milieux sauvages.

La lignée de maïs DAS-06275-8 cible certaines espèces de lépidoptères 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 de VCN dans l'environnement; par conséquent, la réduction des populations locales d'espèces nuisibles résultant de la dissémination de la lignée de maïs DAS-06275-8 ne constitue pas un changement important par rapport aux pratiques agricoles existantes.

L'utilisation d'herbicides à large spectre vise spécifiquement à réduire les populations 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 les exploitent. Il faut noter cependant que cette 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 que l'impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 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 DAS-06275-8

Pour réduire au minimum la probabilité d'acquisition 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 lépidoptères ont une grande capacité d'acquisition de résistance aux insecticides chimiques classiques, il est raisonnable de s'attendre à ce qu'ils puissent acquérir une résistance aux propriétés insecticides de la lignée DAS-06275-8. Des formulations commerciales à base de *B. thuringiensis* var *aizawai* sont disponibles pour lutter contre divers lépidoptères nuisibles. Par suite de la dissémination dans l'environnement de la lignée DAS-06275-8, l'acquisition d'une résistance à la protéine Cry1F pourrait se solder par une réduction ou une perte d'efficacité des produits *B.t.* de traitement foliaire. Comme la lignée DAS-06275-8 produit la protéine Cry1F durant toute la saison de croissance, les insectes visés seront exposés à des concentrations de Cry1F beaucoup plus élevées que lors des traitements foliaires actuels, ce qui pourrait exercer une pression sélective intense en faveur des sujets de pyrale du maïs résistants.

Le plan suivant de GRI vise à réduire ou du moins à retarder l'acquisition d'une résistance à la protéine Cry1F chez la pyrale du maïs. Un des volets du plan de GRI consiste à aménager un refuge de maïs sensible à la pyrale du maïs à l'intérieur ou en périphérie du champ où le maïs de la lignée DAS-06275-8 sera cultivé. Ainsi, si des insectes devaient acquérir une résistance au maïs *B.t.*, ils pourraient s'accoupler 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'émergence de populations de pyrale du maïs résistantes à la protéine Cry1F. Les populations de pyrale du maïs doivent cependant faire l'objet d'une surveillance régulière et continue aux fins de la détection précoce des cas de résistance. L'ACIA tient pour acquis que Dow AgroSciences Canada Inc. a élaboré et mettra en œuvre un plan de GRI comportant les éléments essentiels suivants :

- i) L'aménagement de refuges structurés afin d'assurer la présence d'une population d'insectes qui n'a pas été exposée à la protéine Cry1F et qui peut s'accoupler avec les insectes résistants susceptibles d'émerger de la culture de maïs *B.t.*
- ii) La détection hâtive des populations de pyrale du maïs 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 pyrale du maïs 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 Dow AgroSciences Canada Inc. ainsi que des indications sur les stratégies à adopter en cas de dégâts anormalement élevés imputables à un lépidoptère nuisible.
- iv) Dow AgroSciences Canada Inc. devra 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 Cry1F ainsi que la mise en œuvre immédiate de mesures de lutte contre les sujets résistants.

- v) Il faudra immédiatement signaler à l'ACIA la détection d'une population de lépidoptères nuisibles 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.

Nota : La lignée de maïs DAS-06275-8 cible également le ver de l'épi, la légionnaire d'automne et le vers gris-noir. Il n'est toutefois pas nécessaire de modifier le présent plan de GRI par rapport à la possibilité de résistance chez ces ravageurs, parce que leurs populations hivernantes sont rares au Canada.

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 favorisant 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. a élaboré et mettra 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. Impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur la nutrition du bétail

Composition nutritionnelle de la lignée de maïs DAS-06275-8

La composition nutritionnelle des grains et des plantes entières de la lignée TCDAS-06275-8 a été comparée à celle d'une lignée témoin à patrimoine génétique semblable. L'analyse de la plante entière a porté sur la détermination de la teneur des éléments suivants : macronutriments, ADF, NDF, Ca et P, et celle du grain, sur celle de ces éléments : principaux acides gras, acides aminés,

vitamine A, acide folique, tocophérols, vitamines B, minéraux, métabolites secondaires (inositol, raffinose, furfural, acide p-coumarique et acide férulique) et facteurs antinutritionnels (acide phytique et inhibiteur de la trypsine).

Comparativement au témoin, on a constaté dans les grains de la lignée TCDAS-06275-8 une teneur beaucoup plus faible en phosphore, mais toutes les valeurs se rapprochaient de celles indiquées dans la littérature. En revanche, bien que les mesures concernant le calcium, la vitamine A et les tocophérols totaux aient été similaires pour l'ensemble des traitements, elles se situaient à l'extérieur des plages de valeurs publiées dans la littérature.

Métabolites secondaires et facteurs antinutritionnels

Les concentrations d'inositol, de raffinose, de furfural, d'acide p-coumarique, d'acide férulique, d'acide phytique et d'inhibiteur de la trypsine étaient équivalentes dans les grains de maïs provenant de la lignée DAS-06275-8 et ceux des lignées témoins.

Le demandeur a montré que la composition nutritionnelle du maïs de la lignée DAS-06275-8 était équivalente à celles du maïs des lignées témoins.

2. Impact possible de la lignée de maïs DAS-06275-8 sur le bétail ainsi que sur les travailleurs et 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. La séquence d'acides aminés de la protéine Cry1F présente dans la lignée de maïs DAS-06275-8 est identique à celle de la protéine Cry1F présente dans des plantes cultivées déjà approuvées au Canada. La protéine Cry1F ne présente pas d'homologie biologique appréciable avec des toxines ou des allergènes connus. On ne la trouve 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. Une étude de la toxicité orale aiguë chez la souris portant sur la protéine Cry1F d'origine bactérienne n'a indiqué aucun effet nocif de la protéine à une concentration de 576 mg/kg de poids corporel. Une étude évaluant la toxicité alimentaire de la protéine Cry1F chez le colin de Virginie a également été réalisée. Aucun effet nocif n'a été mis en évidence.
- L'enzyme PAT est hautement spécifique de son substrat et a été bien définie. L'exposition à la protéine PAT n'est pas nouvelle. Le gène *bar* a été isolé d'une bactérie courante dans le sol, *Streptomyces hygroscopicus*. 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 *bar* est exprimée dans diverses plantes cultivées autorisées au Canada. La protéine PAT codée par le gène *bar* ne présente aucune homologie importante pertinente sur le plan biologique avec des toxines ou des allergènes connus. Les études indiquent que la protéine est instable lorsqu'elle est exposée à la chaleur ou à un pH faible. Elle devient inactive en une

minute lorsqu'elle est soumise aux conditions qui règnent normalement dans l'estomac et l'intestin des mammifères. Une étude de la toxicité orale aiguë chez la souris portant sur la protéine PAT d'origine bactérienne n'a révélé aucun effet nocif de la protéine à une concentration de 3250 mg/kg de poids corporel.

D'après les renseignements fournis par Dow AgroSciences Canada Inc., les protéines Cry1F et PAT sont peu susceptibles de se comporter comme des toxines ou des allergènes. Selon les niveaux d'exposition prévus et les résultats des épreuves susmentionnées, l'exposition aux protéines Cry1F et PAT ne devrait pas présenter de risque significatif pour le bétail ni pour les travailleurs ou des tiers.

VI. Nouveaux renseignements requis

Si, une fois l'autorisation de la dissémination de la lignée DAS-06275-8 dans l'environnement accordée, Dow AgroSciences Canada Inc. prend 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 DAS-06275-8, elle doit 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 DAS-06275-8 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; ou refuser ou annuler une autorisation ainsi qu'exiger du demandeur qu'il cesse la dissémination du VCN 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 après comparaison de la lignée DAS-06275-8 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 ce végétal des caractéristiques qui entraîneraient des effets sensibles sur l'environnement, intentionnels ou non, après dissémination en milieu ouvert. Dow AgroSciences Canada Inc. a élaboré un plan de gestion de la résistance des insectes qu'elle prévoit mettre en œuvre.

Après examen des données et des renseignements présentés par Dow AgroSciences Canada Inc. et après comparaison de la lignée DAS-06275-8 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 DAS-06275-8 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 DAS-06275-8 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 DAS-06275-8 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 DAS-06275-8 et son utilisation comme aliment du bétail sont par conséquent autorisées à compter du 19 juin 2006. Cette autorisation couvre également tous les descendants de la lignée DAS-06275-8 et ses lignées sœurs 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 DAS-06275-8 est soumise aux mêmes exigences phytosanitaires que ses contreparties non modifiées.

Voir les Décisions relatives aux aliments nouveaux de Santé Canada pour une description de l'évaluation de l'innocuité alimentaire de la lignée de maïs DAS-06275-8. Les Décisions relatives à l'innocuité des aliments peuvent être consultées sur le site Web de Santé Canada, à l'adresse suivante :

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