



Document de décisions

DD97-18

Détermination de la sécurité associée à la lignée MON809 de maïs (*Zea mays* L.) résistant à la pyrale du maïs, créée par Pioneer Hi-Bred International Inc.

Le présent document de décisions vise à expliquer la décision réglementaire prise conformément à la directive Dir94-08, *Critères d'évaluation du risque environnemental associé aux végétaux à caractères nouveaux*, au cahier parallèle Dir94-11, *La biologie du Zea mays L. (maïs)*, et à la directive Dir95-03, *Lignes directrices relatives à l'évaluation de végétaux à caractères nouveaux utilisés comme aliments du bétail*.

Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC), plus précisément le Bureau de biotechnologie végétale et la Section des aliments du bétail, Division des produits végétaux, avec la participation de l'Unité d'évaluation des risques phytosanitaires, a évalué les données présentées par la société Pioneer Hi-Bred International Inc. relativement à la lignée de maïs MON809 résistant à la pyrale du maïs. AAC 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 du VCN, par rapport aux variétés de maïs déjà commercialisées au Canada.

La dissémination en milieu ouvert de la lignée de maïs MON809, y compris son utilisation comme aliment du bétail, est par conséquent autorisée. Toute autre lignée et tout hybride intraspécifique de *Zea mays* qui seraient issus de la même transformation, ainsi que tous leurs descendants, peuvent également être disséminés, pourvu qu'aucun croisement interspécifique ne soit réalisé, que l'utilisation prévue soit semblable, que les exigences décrites dans le présent document en matière de gestion de la résistance des ravageurs soient respectées et qu'une caractérisation approfondie ait démontré que ces végétaux ne présentent aucun autre caractère nouveau et que ces lignées sont essentiellement équivalentes aux variétés de maïs déjà cultivées, quant à leur impact possible sur l'environnement et à leur sûreté comme aliments du bétail.

Cependant, même si la détermination du risque environnemental associé à un végétal à caractères nouveaux constitue une étape critique de sa commercialisation, d'autres exigences doivent encore être satisfaites, dont l'évaluation de sa sécurité pour l'alimentation humaine (Santé Canada) et l'enregistrement de la variété (AAC).

(also available in English)

Le 14 février 1997

Document publié par la Division des produits végétaux, Agriculture et Agroalimentaire Canada. Pour de plus amples renseignements, communiquer avec le Bureau de biotechnologie végétale ou la Section des aliments du bétail :

Division des produits végétaux
Direction générale de la production et de l'inspection des aliments
59, promenade Camelot, Nepean (Ontario) K1A 0Y9

Téléphone : (613) 952-8000
Télécopieur : (613) 992-5219

Table des matières

I.	Brève identification du végétal à caractères nouveaux (VCN)	1
II.	Données de base	1
III.	Description des caractères nouveaux	2
1.	Résistance à la pyrale du maïs	2
2.	Tolérance au glyphosate	3
3.	Méthode de mise au point	4
4.	Stabilité de l'insertion dans le génome du végétal	4
IV.	Critères d'évaluation de la sécurité environnementale	5
1.	Possibilité que le VCN se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou envahisse des habitats naturels	5
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	6
3.	Possibilité que le VCN devienne nuisible	6
4.	Impact possible sur les organismes non visés	6
5.	Impact possible sur la biodiversité	7
6.	Possibilité que la pyrale du maïs acquière une résistance au VCN	7
V.	Critères d'évaluation nutritionnelle en vue de l'utilisation comme aliment du bétail	9
1.	Composition nutritionnelle du VCN	9
2.	Facteurs antinutritionnels	10
VI.	Décision réglementaire	10

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

Désignation du VCN :	MON809
Demandeur :	Pioneer Hi-Bred International Inc.
Espèce végétale :	<i>Zea mays</i> L.
Caractères nouveaux :	Résistance à la pyrale du maïs (<i>Ostrinia nubilalis</i>); tolérance à l'herbicide glyphosate.
Méthode d'introduction des caractères :	Bombardement de cellules végétales au moyen de microprojectiles.
Utilisation proposée du VCN :	Production d'huile de maïs pour la consommation humaine ainsi que d'huile, de tourteau et d'ensilage de maïs pour l'alimentation animale. Le VCN ne sera pas cultivé au Canada à l'extérieur des zones maïsicoles habituelles.

II. Données de base

La société Pioneer Hi-Bred International Inc. (Pioneer Hi-Bred), en collaboration avec la société Monsanto, a créé une lignée de maïs résistant à la chenille de la pyrale du maïs, ravageur périodique du maïs au Canada. La mise au point de cette lignée, appelée MON809 dans le présent document, visait à offrir une façon de limiter les pertes de rendement dues aux déprédations causées par l'alimentation des chenilles de pyrale sans avoir à recourir aux pesticides classiques.

La lignée MON809 a été mise au point par la technique de l'ADN recombinant, qui a permis d'introduire dans le génome d'hybrides élites des gènes bactériens conférant une résistance à la pyrale et une tolérance à l'herbicide glyphosate. La tolérance au glyphosate a permis de sélectionner les sujets modifiés, mais le caractère ne s'exprime pas suffisamment pour assurer au VCN une tolérance au champ à cet herbicide.

La Pioneer Hi-Bred a fourni des données sur l'identité du maïs MON809, une description détaillée de la méthode de transformation ainsi que des données et de l'information sur les sites d'insertion des gènes nouveaux, sur le nombre de copies et le degré d'expression de ces gènes chez le VCN ainsi que sur le rôle des gènes originaux et de leurs séquences régulatrices chez les organismes donneurs. Pioneer Hi-Bred a aussi présenté la séquence nucléotidique complète des gènes nouveaux. Les protéines nouvelles ont été identifiées, caractérisées et comparées aux protéines correspondantes des organismes donneurs, notamment quant à leur toxicité potentielle pour le bétail et les organismes non visés. Pioneer Hi-Bred a joint à sa demande des publications scientifiques pertinentes.

Au Canada, le VCN a fait l'objet d'essais au champ en conditions confinées en Saskatchewan (1994 à 1996), en Alberta (1996), au Manitoba (1995 et 1996) ainsi qu'en Ontario (1996).

Les caractéristiques agronomiques des hybrides de maïs issus de la lignée MON809, telles la dormance des graines, la vigueur des plantules, la précocité d'établissement du peuplement, la vigueur des plantes, la précocité de maturation, la période de floraison, le rendement grainier ainsi que la sensibilité à divers ravageurs et pathogènes du *Zea mays*, ont été comparées aux caractéristiques de contreparties non modifiées de *Zea mays*.

Le Bureau de biotechnologie végétale, Division des produits végétaux, AAC, a examiné les renseignements susmentionnés à la lumière des critères suivants, énoncés dans la directive de réglementation Dir94-08 :

possibilité que le VCN se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou envahisse les habitats naturels;

- possibilité 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;
- possibilité que le VCN devienne nuisible;
- impact possible du VCN ou de ses produits géniques sur des espèces non visées, y compris l'être humain;
- impact possible sur la biodiversité.

Par ailleurs, AAC a consulté l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, Santé Canada, sur les questions touchant l'apparition éventuelle de populations de pyrales résistantes à la protéine insecticide produite par le VCN.

La Section des aliments du bétail, Division des produits végétaux, AAC, a elle aussi étudié l'information fournie par Pioneer Hi-Bred, 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 sur le bétail lui-même;
- effets possibles sur la nutrition du bétail.

III. Description des caractères nouveaux

1. Résistance à la pyrale du maïs

- La souche HD-1 du *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (*B.t.k.*) est une bactérie Gram positif commune dans les sols. Au stade de la sporulation, elle produit plusieurs protéines cristallines insecticides, dont la δ -endotoxine Cry1A(b), active contre la pyrale du maïs et certains autres lépidoptères. Il a été démontré que cette protéine n'est pas toxique pour les humains, pour les autres vertébrés, ni pour les insectes utiles. Des insecticides foliaires à base de *B.t.k.* ont été homologués il y a plus de 30 ans au Canada et sont utilisés depuis longtemps de manière sûre.
- Un gène *cry1A(b)* synthétique conçu de manière à s'exprimer de façon maximale chez le maïs a été introduit dans la lignée MON809. Ce gène code une protéine semblable à la protéine cristalline insecticide que l'on retrouve chez la souche HD-1 du *B.t.k.* La protéine acquiert ses

propriétés insecticides lorsqu'elle se scinde en plusieurs fragments, dont le noyau bio-actif qui résiste à la trypsine. On croit que l'activité insecticide de ce fragment résulte du fait qu'il se fixe à des récepteurs spécifiques situés dans l'épithélium de l'intestin moyen des insectes sensibles, ce qui provoque la formation de pores, un déséquilibre de la pression osmotique et, finalement, la lyse des cellules. Les ravageurs du maïs spécifiquement sensibles à la protéine sont la pyrale du maïs et le ver de l'épi de maïs.

- Le gène *Cry1A(b)* est lié à un promoteur constitutif fort. La production de protéine Cry1A(b) a été évaluée dans six localités : elle était en moyenne de 1,63 µg/g de tissus frais dans les feuilles, de 0,55 µg/g de tissus frais dans les graines et de 1,23 µg/g de tissus frais dans la plante entière, et variait de 0,88 à 2,37 µg/g de tissus frais dans les feuilles, de 0,28 à 0,73 µg/g de tissus frais dans les graines et de 0,73 à 1,73 µg/g de tissus frais dans la plante entière. La production de Cry1A(b) décline durant la saison de végétation, comme le montre l'évolution saisonnière des concentrations mesurées dans les feuilles. La protéine n'a pas été détectée dans le pollen.
- La protéine Cry1A(b) s'est révélée rapidement dégradable dans l'environnement. La protéine produite par le végétal présentait un TD₅₀ de 2 jours et un TD₉₀ de 15 jours (TD_n = temps nécessaire à la disparition de n % de l'activité biologique initiale).
- Contrairement aux protéines allergènes, qui résistent normalement à la digestion, la Cry1A(b) se dégradait rapidement en présence de substances simulant les sucs gastriques. De même, contrairement à bien des allergènes connus, la protéine insecticide n'est pas glycosylée. D'ailleurs, une comparaison de la séquence d'acides aminés de la Cry1A(b) avec celle des allergènes connus, grâce à une base de données montée à partir des bases de données du domaine public GenBank, EMBL, Pir et SwissProt, n'a permis de relever aucune homologie appréciable. Une comparaison analogue n'a permis de relever aucune homologie de séquence entre la Cry1A(b) et les toxines connues, sauf avec d'autres protéines insecticides de *B.t.*
- Parce qu'ils peuvent remplacer la farine de blé, les produits du maïs ont une grande importance pour les personnes atteintes de la maladie coeliaque, intolérance alimentaire à médiation immunitaire dont le facteur causal semble être les gliadines du blé. On a donc recherché les homologies de séquence entre la Cry1A(b) et les gliadines, mais aucune n'a été trouvée.
- La séquence nucléotidique complète ainsi que la séquence d'acides aminés correspondante ont été fournies.
- La protéine de 131 kDa produite par le VCN ainsi que les fragments résultant de sa protéolyse ont été comparés aux protéines bactériennes correspondantes et se sont révélés semblables à celles-ci quant à leur poids moléculaire, à leur séquence d'acides aminés, à leur immunoréactivité et à leur résistance à la trypsine. De plus, la protéine n'était pas glycosylée et affichait une activité biologique et une spécificité (gamme d'hôtes) semblables à celles de la protéine bactérienne.

2. Tolérance au glyphosate

- Deux des gènes introduits dans la lignée MON809 visaient à lui conférer une tolérance au glyphosate, matière active de l'herbicide Roundup®. Cette tolérance n'était pas assez forte pour

assurer au végétal une tolérance au champ à cet herbicide, mais elle a permis de sélectionner les sujets transformés.

- Le premier gène code l'enzyme CP4 EPSPS, variante bactérienne (provenant de la souche CP4 de l'*Agrobacterium tumefaciens*) d'une enzyme végétale, la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthétase (EPSPS), qui joue un rôle dans la voie shikimique de biosynthèse des acides aminés aromatiques. Le glyphosate inhibe l'activité de l'enzyme EPSPS normalement produite par la plante, ce qui bloque la voie shikimique et interrompt la synthèse de ces acides aminés essentiels. L'enzyme CP4 EPSPS est une variante qui tolère le glyphosate et possède une forte activité catalytique. L'introduction de cette enzyme bactérienne permet à la synthèse des acides aminés aromatiques de se poursuivre même en présence de la pression de sélection exercée par le glyphosate.
- Le second gène, *gox* est dérivé de l'*Achromobacter* sp., bactérie omniprésente dans le sol. Il code une enzyme qui décompose le glyphosate en acide aminométhylphosphonique et en glyoxylate. Chez la lignée MON809, seulement une copie partielle de ce gène est insérée, et aucune expression du gène n'a été détectée.
- Une séquence de codage d'origine végétale codant un peptide chloroplastique de transport a été co-introduite avec chacun des deux gènes. Ce peptide de transport aide les protéines résultant de l'expression des deux gènes à pénétrer dans les chloroplastes, où se situent la voie shikimique de biosynthèse ainsi que l'activité du glyphosate.
- La production moyenne de protéine CP4 EPSPS était de 21,68 µg/g de tissus frais dans les feuilles, de 9,41 µg/g de tissus frais dans les graines et de 1,6 µg/g de tissus frais dans la plante entière.
- L'enzyme produite par la plante ne présentait aucune homologie appréciable avec des toxines ou allergènes connus. D'ailleurs, il s'agit d'une substance commune dans la nature, qui ne devrait avoir aucun effet toxique ou allergène. Pioneer Hi-Bred a présenté des données qui montrent que l'enzyme CP4 EPSPS devient rapidement inactive lorsqu'elle est exposée à la chaleur ou à des substances simulant les sucs gastriques des mammifères.

3. Méthode de mise au point

- La lignée MON809 résulte d'une co-transformation au moyen de deux plasmides vecteurs, l'un porteur du gène *cryIA(b)* synthétique, l'autre porteur des deux gènes conférant une tolérance au glyphosate. Les deux plasmides ont été introduits dans des cultures de cellules végétales, par bombardement au moyen de microprojectiles. Les cellules ayant ainsi acquis une tolérance au glyphosate ont été sélectionnées puis cultivées dans un milieu de culture de tissus en vue de la régénération du végétal.

4. Stabilité de l'insertion dans le génome du végétal

- Une analyse par transfert d'ADN (*Southern blot*) a confirmé l'insertion d'un seul segment d'ADN, renfermant une copie complète et une copie partielle du gène *CryIA(b)*, deux copies complètes du gène codant la CP4 EPSPS ainsi qu'une copie partielle du gène *gox*.

- Les données de ségrégation montrent que l'insertion est stable, les caractères affichant toujours une ségrégation mendélienne classique après cinq générations de croisement.

IV. Critères d'évaluation de la sécurité environnementale

1. Possibilité que le VCN se comporte comme une mauvaise herbe pour l'agriculture ou envahisse des habitats naturels

Selon le document Dir94-11, décrivant la biologie du maïs (*Zea mays*), les sujets non modifiés de cette espèce n'envahissent pas les habitats sauvages au Canada. En effet, le maïs ne risque pas de se comporter en mauvaise herbe, à cause de caractères comme l'indéhiscence de l'épi, l'absence de dormance chez la graine et la capacité compétitive médiocre de la plantule. Selon les données fournies par Pioneer Hi-Bred, la lignée MON809 et les hybrides qui en sont issus ne s'avèrent pas différents de leurs contreparties à cet égard.

AAC a évalué les renseignements fournis par Pioneer Hi-Bred en ce qui concerne la biologie de reproduction et de survie des hybrides issus du maïs MON809 et établi que la précocité d'établissement du peuplement, la vigueur végétative, la précocité de maturation et le rendement grainier se situaient à l'intérieur des gammes de valeurs observées chez les hybrides de maïs actuellement commercialisés. Par ailleurs, aucun gène conférant une tolérance au froid ou améliorant la rusticité hivernale n'a été inséré.

Aucun avantage compétitif n'a été conféré au maïs MON809, outre la résistance à la pyrale du maïs. Or, cette résistance ne peut en elle-même 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. Le maïs MON809 ne possède pas une tolérance au glyphosate assez forte pour que l'on puisse employer efficacement cet herbicide au champ. De plus, cette tolérance ne pourra faire du maïs une mauvaise herbe, puisque l'herbicide n'est pas utilisé actuellement dans les cycles de rotation du maïs. Le glyphosate est souvent utilisé pour l'obtention d'une jachère chimique, mais l'apparition de plants spontanés de maïs tolérant le glyphosate ne devrait pas poser de problème, car ces plants sont faciles à détruire par des méthodes mécaniques ou au moyen d'autres herbicides disponibles.

NOTE : À plus long terme, l'adoption généralisée de plusieurs cultures différentes et de systèmes spécifiques de lutte contre les mauvaises herbes pourrait aussi provoquer l'apparition de plants spontanés présentant des types nouveaux de tolérance à des herbicides précis, ce qui empêcherait l'utilisation de ceux-ci dans certains cycles de rotation. Certaines variétés de canola (*Brassica napus*) transgéniques présentant une tolérance au glyphosate (voir DD95-02) ont récemment été enregistrées au Canada. Si un canola et un maïs tolérant tous deux le glyphosate étaient cultivés en rotation, les plants spontanés ne pourraient être détruits au moyen de cet herbicide. Le personnel de vulgarisation agricole des secteurs public et privé doit donc encourager les producteurs qui utilisent l'une ou l'autre de ces cultures tolérantes à choisir soigneusement leurs méthodes de lutte.

À la lumière de ces considérations et du fait que les caractères nouveaux n'ont pas pour objet de rendre le maïs MON809 nuisible ou envahissant, AAC conclut que ce VCN ne risque pas plus de se

comporter en mauvaise herbe ni de devenir envahissant que 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 apparentée s'hybridant naturellement avec le *Zea mays*.

En conséquence, AAC conclut qu'un flux génétique depuis le maïs MON809 vers des espèces apparentées ne peut se produire au Canada.

3. Possibilité que le VCN 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 *Zea mays* n'est pas considéré comme une espèce nuisible au Canada (Dir94-11). De plus, les caractéristiques agronomiques observées chez les hybrides modifiés se situaient à l'intérieur de la gamme des valeurs affichées par les 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.

AAC estime par conséquent que la lignée MON809 ne présente aucun risque accru de devenir un végétal nuisible.

4. Impact possible sur les organismes non visés

Les enzymes responsables de la tolérance au glyphosate ont une action très spécifique, ne possèdent aucune stabilité protéolytique ou thermique et ne nuisent aucunement au métabolisme des végétaux. Les EPSPS sont des enzymes communes chez les bactéries, les plantes et les animaux. Une recherche effectuée dans les bases de données du domaine public GenBank, EMBL, Pir et SwissProt n'a permis de relever aucune homologie appréciable entre la séquence d'acide aminés de ces enzymes et celle des allergènes connus.

L'utilisation passée de la δ -endotoxine de *B.t.k.* bactérienne ainsi que les publications traitant du sujet montrent que cette substance n'est pas toxique pour les humains, les autres vertébrés ni les insectes utiles et que la protéine de *B.t.k.* produite par le maïs est équivalente à la protéine microbienne originale. La protéine n'agit que sur certaines espèces de lépidoptères, et aucune de celles-ci ne figure sur la liste des espèces canadiennes menacées ou en danger de disparition.

Pioneer Hi-Bred a aussi produit les résultats d'études de toxicité alimentaire ayant pour objet l'effet de la protéine de *B.t.k.* bactérienne sur les insectes non visés, dont des pollinisateurs (abeille domestique), des prédateurs (larves de chrysope, coccinelles) et des hyménoptères parasites. Aucun effet mesurable n'a été relevé après application d'une dose équivalant à environ 10 fois la CL_{50} habituellement mesurée pour un insecte visé.

À partir des renseignements qui précèdent, AAC établit que la dissémination en milieu ouvert du maïs MON809, si on compare ce dernier aux maïs actuellement commercialisés, ne modifiera pas de façon appréciable l'impact du végétal sur les autres organismes (y compris l'être humain) ayant une interaction avec le *Zea mays*, sauf certaines espèces de lépidoptères.

5. Impact possible sur la biodiversité

Le maïs MON809 ne possède pas de caractères phénotypiques nouveaux qui pourraient en étendre l'utilisation au-delà des zones maïsicoles canadiennes actuelles. Comme au Canada le maïs ne s'hybride avec aucune espèce sauvage apparentée, aucun caractère nouveau ne sera transféré dans les milieux naturels.

En ce moment, l'emploi d'insecticides chimiques n'est pas recommandé au Canada contre la pyrale du maïs dans le cas du maïs-grain, parce que ces insecticides ne sont efficaces qu'au moment de l'émergence des chenilles, avant que celles-ci ne se rendent dans le verticille de la plante et pénètrent dans la tige. On ne considère donc pas rentable de mener une lutte chimique contre la pyrale dans le cas du maïs-grain, mais une telle lutte est recommandée dans le cas du maïs en épi, étant donné la valeur marchande supérieure de cette culture et la tolérance moindre du consommateur pour les épis endommagés par les insectes. Pour cette culture, les services provinciaux de vulgarisation recommandent actuellement les méthodes de lutte suivantes : semer des hybrides classiques sélectionnés pour leur résistance naturelle à la pyrale; éviter les densités de semis trop élevées, ne convenant pas à l'hybride choisi; semer tôt, afin de réduire les infestations de chenilles de la seconde génération; récolter tôt, afin de diminuer les pertes dues aux chutes d'épis et aux bris de tiges; pratiquer la rotation des cultures. Malgré la tendance actuelle à promouvoir pour le maïs des pratiques culturales antiérosives, on recommande toujours d'enfouir les résidus de récolte en automne, afin de détruire les chenilles qui pourraient survivre à l'hiver. Par conséquent, la culture du maïs MON809 n'entraînera aucun changement global dans l'utilisation des insecticides chimiques.

AAC en conclut que l'impact possible du maïs sur la biodiversité n'a pas été modifié dans le cas de la lignée MON809.

6. Possibilité que la pyrale du maïs acquière une résistance au VCN

La capacité des lépidoptères à acquérir une résistance aux insecticides chimiques classiques a été démontrée par de nombreuses études. Un insecticide foliaire à base de *B.t.k.* est actuellement homologué contre la pyrale du maïs pour la production de maïs-grain hybride. Un autre insecticide à base de *B.t.k.* est homologué contre la fausse-arpenteuse du chou (mais non la pyrale du maïs) s'attaquant au poivron, et cette culture est également ravagée par la pyrale. Or, une résistance aux protéines de *B.t.k.* risque d'apparaître chez ces insectes avec l'emploi plus généralisé des insecticides foliaires à base de *B.t.k.*; elle pourrait également apparaître chez des insectes sensibles exposés de façon prolongée à des maïs hybrides résistant à la pyrale.

Si la pyrale du maïs venait à acquérir une résistance aux protéines de *B.t.k.*, les producteurs perdraient un outil de lutte utile contre les infestations de pyrale dans les cultures de maïs et, dans une moindre mesure, de poivron.

Le maïs MON809 produit constamment des concentrations élevées de protéine de *B.t.k.* dans ses feuilles, ce qui tue les chenilles de pyrale qui s'en nourrissent. Les insectes cibles sont donc exposés à des teneurs en protéines de *B.t.k.* bien supérieures à celles obtenues actuellement par pulvérisation foliaire, ce qui pourrait exercer une pression sélective intense en faveur des sujets résistants de l'espèce. Il est aujourd'hui reconnu que la pyrale du maïs se reproduit au Canada à raison de une ou plusieurs générations par année. Le nombre de ces générations survenant une année donnée dépend des conditions écologiques locales, notamment de la température et de la photopériode. L'apparition de populations de pyrales résistantes pourrait aussi augmenter dans les secteurs caractérisés par des générations multiples.

Un des volets de la stratégie de gestion de la résistance exigée pour la culture du maïs MON809 pourrait consister à assurer la proximité de refuges exempts de pression de sélection, c'est-à-dire de champs de maïs non modifié où se maintiennent des populations d'insectes sensibles. Si des insectes résistants venaient à apparaître, ils pourraient s'accoupler avec les insectes sensibles, et la descendance, hétérozygote, devrait elle-même être sensible aux hybrides modifiés. La pyrale du maïs a d'ailleurs tendance à aller s'accoupler dans les secteurs herbeux voisins des champs de maïs, ce qui augmente la probabilité de rencontre entre partenaires résistants et sensibles. Au début, il y aura suffisamment de refuges non structurés, renfermant du maïs classique, pour retarder l'apparition d'insectes résistants. Cependant, si la superficie plantée de maïs résistant à la pyrale venait à dépasser celle occupée par des hybrides sans protéine de *B.t.k.*, il faudrait appliquer une gestion rigoureuse visant à maintenir la culture d'hybrides classiques (aménagement de refuges structurés), afin d'assurer un nombre suffisant de refuges. Bien que la majorité des chercheurs conviennent de l'efficacité théorique de ces refuges, il restera très difficile de prédire l'étendue et la rapidité de l'apparition de la résistance tant qu'on n'aura pu valider sur le terrain la stratégie proposée. Il faudra donc soumettre les hybrides nouveaux à une gestion éclairée et surveiller les populations de pyrale de manière cohérente et régulière, afin de pouvoir détecter l'apparition de sujets résistants.

Il faudra aussi envisager la possibilité que des populations de pyrale ayant acquis une résistance aux protéines de *B.t.k.* produites par le maïs acquièrent en outre une résistance croisée à d'autres δ -endotoxines de *B.t.* Ce phénomène aurait pour effet de restreindre le nombre des protéines de *B.t.* pouvant servir à la lutte contre les infestations de pyrale.

Il convient enfin d'envisager l'apparition d'une résistance à la protéine Cry1A(b) chez les insectes ravageurs non visés, ce qui pourrait ensuite nuire à d'autres cultures. La légionnaire uniponctué (*Pseudaletia unipuncta*), ravageur sporadique au Canada, se nourrit de maïs et d'autres cultures, dont les graminées fourragères (fléole, etc.), le blé, l'avoine et l'orge; le ver de l'épi de maïs (*Helicoverpa zea*) se nourrit des soies et jeunes épis du maïs (avant que le grain n'atteigne le stade pâteux). Or, en ce moment, les insecticides foliaires à base de *B.t.k.* ne sont pas homologués au Canada contre ces lépidoptères. Par conséquent, même si la légionnaire et le ver de l'épi venaient à acquérir une résistance, la lutte contre ces insectes ne serait pas compromise. AAC estime donc que l'apparition d'une résistance chez des insectes ravageurs non visés risque peu d'avoir une incidence sur les méthodes de lutte classiques contre ces insectes.

AAC estime également que des pratiques de gestion saines peuvent limiter et retarder l'apparition de populations résistantes de pyrale du maïs. Les populations de cette espèce doivent donc faire l'objet d'une surveillance régulière et cohérente permettant de détecter les cas de résistance. AAC tient pour

acquis que Pioneer Hi-Bred a élaboré et mettra en oeuvre un plan de gestion de la résistance des ravageurs comportant les éléments essentiels suivants :

- La détection hâtive des populations résistantes 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 ou dans les environs est par conséquent justifiée. Il faudra à cette fin élaborer des méthodes adéquates : observation visuelle des champs, tests biologiques en laboratoire, calendriers de rapports, éducation des producteurs, imposition de mesures en cas d'apparition de résistance, etc.
- Pioneer Hi-Bred devra aussi mettre au point des outils de formation et les fournir à tous les producteurs, gestionnaires de district et responsables au champ : renseignements sur la performance des produits et la gestion de la résistance; méthodes et calendriers de surveillance; protocoles de détection des pyrales résistantes; instructions quant à la nécessité de communiquer avec Pioneer Hi-Bred et aux stratégies à adopter en cas de dégâts anormalement élevés imputables à la pyrale.
- Pioneer Hi-Bred 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 de pyrales, le recours à des tests biologiques permettant d'évaluer les cas présumés de résistance à la protéine Cry1A(b), ainsi que l'application immédiate de mesures de lutte contre les sujets résistants.
- La détection d'une population de pyrale dont la résistance est confirmée devra être immédiatement signalée à AAC. Il faudra aussi communiquer à AAC le plan d'intervention adopté.
- 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.
- On n'a pas encore évalué sur le terrain, sur une grande échelle, la stratégie de gestion de la résistance de la pyrale consistant à planter des végétaux qui produisent continuellement de fortes concentrations d'une δ -endotoxine de *B.t.k.* et à aménager des refuges. Les recherches se poursuivront dans ce domaine, en fonction de critères scientifiques rigoureux.
- Tous les plans, toute l'information et toutes les données qui précèdent doivent pouvoir être communiqués à AAC sur demande.

De plus, AAC a fortement incité Pioneer Hi-Bred à mettre au point contre la pyrale du maïs des systèmes de lutte nouveaux qui feraient appel à d'autres modes d'action. Ainsi, les producteurs seraient mieux armés pour lutter contre ce ravageur.

Si jamais Pioneer Hi-Bred prenait connaissance d'un risque pour l'environnement, pour l'agriculture (apparition de populations résistantes de pyrale, etc.) ou pour la santé des humains ou des animaux, lequel risque découlerait de la dissémination du matériel visé au Canada ou à l'étranger, Pioneer Hi-Bred transmettrait immédiatement cette information à AAC. À la lumière de ces faits nouveaux,

AAC pourrait réévaluer l'incidence possible de la dissémination proposée et, s'il y a lieu, révoquer sa décision.

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

1. Composition nutritionnelle du VCN

On a comparé la lignée MON809 à sa contrepartie non modifiée, quant à la teneur des grains et des plantes entières en protéines, en lipides et en fibres. Tant pour les grains que pour les plantes entières, on a occasionnellement observé des différences significatives, mais il n'existait aucun ensemble cohérent de différences par rapport au témoin pour tous les nutriments considérés.

Le grain et la plante entière du VCN avaient des teneurs en protéines, en lipides et en fibres qui se situaient dans les limites déjà mentionnées pour le maïs dans les publications scientifiques. Les variations précitées sont considérées comme normales, et non imputables à l'insertion des caractères nouveaux. AAC établit donc que la lignée MON809 est essentiellement équivalente aux variétés classiques de maïs.

2. Facteurs antinutritionnels

On ne relève chez l'espèce *Zea mays* aucun cas de production de facteur antinutritionnel, et on ne croit pas que la transformation qui caractérise le maïs MON809 puisse induire la synthèse de tels facteurs.

VI. Décision réglementaire

Après examen des données et des renseignements présentés par Pioneer Hi-Bred et après comparaison des hybrides de maïs issus de la lignée MON809 avec des contreparties non modifiées de *Zea mays*, le Bureau de biotechnologie végétale, Division des produits végétaux, AAC, conclut que les gènes nouveaux et les caractères correspondants ne confèrent à ce végétal aucune caractéristique qui pourrait avoir une incidence environnementale, intentionnelle ou non, si le VCN était disséminé en milieu ouvert. Pioneer Hi-Bred a élaboré et mettra en oeuvre un plan de gestion de la résistance.

Après examen des données soumises, la Section des aliments du bétail, Division des produits végétaux, conclut que les caractères nouveaux ne soulèvent en soi aucune crainte quant à l'innocuité ou à la composition nutritionnelle du maïs MON809. Le maïs-grain, ses sous-produits et l'huile de maïs figurent actuellement à l'Annexe IV du *Règlement sur les aliments du bétail*. Leur utilisation est donc approuvée pour l'alimentation du bétail au Canada. Comme les hybrides de maïs résistant à la pyrale du maïs se sont avérés, après évaluation, essentiellement équivalents aux variétés classiques de maïs, le maïs MON809 et ses sous-produits sont considérés comme conformes 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 MON809, y compris son utilisation comme aliment du bétail, est par conséquent autorisée. Toute autre lignée et tout hybride intraspécifique

de *Zea mays* qui seraient issus de la même transformation, ainsi que tous leurs descendants, peuvent également être disséminés, pourvu qu'aucun croisement interspécifique ne soit réalisé, que l'utilisation prévue soit semblable, que les exigences décrites dans le présent document en matière de gestion de la résistance des ravageurs soient respectées et qu'une caractérisation approfondie ait démontré que ces végétaux ne présentent aucun autre caractère nouveau et que les lignées qui en résultent sont essentiellement équivalentes aux variétés de maïs déjà cultivées, quant à leur impact possible sur l'environnement et à leur sûreté comme aliments du bétail.

Cependant, même si la détermination du risque environnemental associé à un végétal à caractères nouveaux constitue une étape critique de sa commercialisation, d'autres exigences doivent encore être satisfaites, dont l'évaluation de sa sécurité pour l'alimentation humaine (Santé Canada) et l'enregistrement de la variété (AAC).