



ÉTUDE DE CAS 25 :

Une Autorité nationale compétente enregistre une évaluation des risque et une décision pour importer du coton tolérant aux herbicides

Objectif :

Utiliser le CEPRB pour enregistrer une évaluation des risques et une décision

Références :

Module 6 du CEPRB : Enregistrement d'information

Scénario :

Vous travaillez pour une Autorité nationale compétente et vous avez récemment approuvé la décision ci-jointe pour importer du coton tolérant aux herbicides. Votre tâche est d'enregistrer cet OVM, évaluation des risques et décision réglementaire au CEPRB.

Note importante :

Assurez vous d'utiliser la
Base de données de formation du CEPRB
dans cet exercice !

**Document de sortie CNA2008-17 :
Évaluation de la sécurité du Coton RR Flex**

Détermination par l'Autorité de l'ANC pour l'Environnement

I. Identification de l'organisme nouveau

<i>Dénomination :</i>	Ligne de coton MON 88913, UID MON-88913-8
<i>Déposant :</i>	Monsanto Inc
<i>Espèce mère :</i>	Coton (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)
<i>Trait présenté :</i>	Tolérance à l'herbicide (glyphosate)
<i>Usage proposé :</i>	La production de coton de fibre, de graine de coton et de tourteau de graines de coton pour des aliments du bétail, et de l'huile de coton destiné à la consommation humaine. Ces matériels seront cultivés aux États-Unis et les graines de coton et le tourteau de graines de coton seront importés pour être utilisés seulement dans l'alimentation du bétail.

II. Renseignements de base

Monsanto Inc. a développé une ligne de coton, dénommée MON 88913, qui a augmenté la tolérance au glyphosate, l'ingrédient actif dans l'herbicide Roundup®. Le trait de tolérance à l'herbicide dans la ligne de coton MON 88913 permettra l'application extraordinaire des herbicides agricoles de Roundup® dans des étapes ultérieures de développement à celle possible avec les lignes de coton MON 1445 et MON 1698. L'intention de ceci est de fournir plus de flexibilité et de commodité dans les options de désherbage pendant la production végétale.

La ligne de coton MON 88913 a été développée en utilisant la technologie de transfert de gènes fondée sur *Agrobacterium*, qui a donné comme résultat la présentation de deux copies du gène *epsps* (5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase) à partir d'*Agrobacterium* sp. strain CP4. La version de CP4 de la protéine EPSPS transmette une sensibilité du glyphosate réduite à la plante modifiée. L'utilisation de deux promoteurs différents pour contrôler l'expression des gènes *cp4 epsps* confère la tolérance augmentée au glyphosate. La séquence codante du *cp4 epsps* est fusionnée à une séquence peptidique de transit de chloroplaste, qui dirige la protéine traduite vers le chloroplaste, le site de la biosynthèse de l'acide aminé.

La protéine CP4 EPSPS de MON 88913 a démontré qu'elle est équivalente à la protéine produite dans un système d'expression *Escherichia coli* développé pour produire la protéine. La CP4 EPSPS produite par l'*E. coli* a été utilisée pour produire des quantités suffisantes de protéine pure pour des études de sécurité. Les références à des publications scientifiques pertinentes ont été vérifiées par l'Autorité.

Les données phénotypiques pour la ligne de coton MON 88913 ont été recueillies de quatorze emplacements dans des conditions d'essai en champ de recherche confinée. Les données de composition et d'expression ont été recueillies dans quatre de ces emplacements. Les propriétés agronomiques de la ligne de coton MON 88913 comme la morphologie des plantes, la susceptibilité aux maladies, le comportement agronomique et l'adaptation du système de reproduction ont été comparés à ceux des homologues de coton non-modifiés. Les composants nutritionnels de la ligne de coton MON 88913 comme les proximates, les acides aminés et les acides gras ont été comparés aux homologues de coton non-modifié.

Les critères d'évaluation suivants ont été considérés lors de la détermination de la sécurité et de l'efficacité comme aliment du bétail et l'innocuité pour l'environnement de ces nouveaux aliments:

- l'impact potentiel de la ligne de coton MON 88913 sur l'alimentation du bétail,
- l'impact potentiel de la ligne de coton MON 88913 sur le bétail et sur les ouvriers,
- le potentiel de la ligne de coton MON 88913 pour devenir une mauvaise herbe pour l'agriculture ou pour être invasive des habitats naturels,
- le potentiel de flux génétique à partir de la ligne de coton MON 88913 pour des espèces sauvages apparentées dont la descendance hybride peut devenir plus envahissante,
- le potentiel de la ligne de coton MON 88913 pour devenir un phytoravageur,
- l'impact potentiel de la ligne de coton MON 88913 ou de ses produits génétiques sur des espèces non visées, y compris des êtres humains,
- l'impact potentiel de la ligne de coton MON 88913 sur la biodiversité.

III. Description de nouveaux traits

Méthode de développement : La ligne de coton MON 88913 a été créée à travers l'insertion d'un fragment d'ADN contenant deux copies d'un gène dérivé du *Agrobacterium* sp. strain CP4 (*cp4 epsps*), qui transmet la tolérance au niveau local au glyphosate, l'ingrédient actif chez les herbicides Roundup®. La ligne de coton Coker 312 a été transformée avec un plasmide vecteur portant les gènes *cp4 epsps* synthétiques, les deux ayant été fusionnés avec une séquence codante dérivée des plantes qui exprime un peptide de transit du chloroplaste optimisé.

Tolérance au Glyphosate : L'EPSPS est une enzyme impliquée dans la voie métabolique de l'acide shikimique, qui est essentielle pour la production des aminoacides aromatiques. L'enzyme d'EPSPS de coton naturel est sensible au glyphosate. L'herbicide détruit la voie de l'acide shikimique, conduisant à la suppression de la croissance ou à la mort de la plante. La version CP4 EPSPS de cette enzyme est exprimée dans la ligne de coton MON 88913 et elle confère la tolérance au glyphosate car elle continue de catalyser la production d'acides aromatiques en présence de glyphosate dû à une réduction de la fixation du glyphosate chez la CP4 EPSPS en comparaison aux EPSPS originales.

L'expression de la nouvelle enzyme dans la plante est conduite par des promoteurs actifs constitutivement, et elle a été quantifiée par dosage immunoenzymatique (ELISA). Les niveaux de la protéine CP4 EPSPS ont été évalués dans des feuilles jeunes, des feuilles collectées à différents stades de développement (OSL), des tissus de racines, de graines et de pollen collectés des essais en champ effectués en 2002. Les essais d'ELISA ont démontré que les niveaux moyens de la protéine CP4 EPSPS dans quatre sites pour des feuilles jeunes, OSL1, OSL2, OSL3, tissu de racine et de graines ont été 970, 1400, 690, 630, 99 et 340 µg/g poids sec respectivement. Le niveau moyen de la protéine CP4 EPSPS dans le pollen dans les quatre sites a été de 4.0 µg/g poids frais.

À la différence des allergènes typiques, la protéine CP4 EPSPS est présente à des niveaux bas chez la ligne de coton MON 88913 (moins de 0.12% de la protéine totale en graine), elle n'est pas glycosylée et a démontré qu'elle est labile pour la digestion. Après l'incubation dans des fluides gastriques simulés il a été démontré, à travers le

transfert Western, que plus de 95% de la protéine CP4 EPSPS était digérée en 15 secondes. Également, à la différence des allergènes connus, il a été démontré que l'activité d'EPSPS s'est réduite de plus de 90% en 15 secondes d'incubation dans un fluide gastrique simulé.

La séquence d'acide aminé de la protéine CP4 EPSPS a été comparée à plusieurs bases de données de séquences de protéines et elle a démontré qu'elle ne partage aucune similarité structurale significative avec aucune protéine pertinente du point de vue toxique, allergénique ou pharmacologique connue. Des analyses supplémentaires ont également démontré que la protéine CP4 EPSPS manque de séquences pertinentes du point de vue immunologique. Une étude profonde faite sur des souris n'a signalé aucun effet secondaire nocif lors de l'administration chez les animaux de la protéine CP4 EPSPS par gavage oral en doses jusqu'à 475 mg/kg.

En raison des niveaux faibles de la protéine CP4 EPSPS exprimés dans la ligne de coton MON 88913, il a été nécessaire de produire CP4 EPSPS par fermentation bactérienne pour obtenir des quantités suffisantes pour effectuer certaines des études de sécurité (étude de toxicité orale aiguë chez la souris, étude de digestion de fluide gastrique simulé). La protéine produite par voie bactériologique a été comparée à la protéine produite par la plante et elle a démontré qu'elle avait un poids moléculaire similaire, réactivité immunologique, et une activité fonctionnelle similaire à la protéine produite par la plante.

L'analyse de transfert de Southern a montré la stabilité de l'ADN introduit dans les cinq premières générations enlevées du transformant original. Les données présentées ont également démontré que les gènes se séparaient conformément à l'hérédité mendélienne dans ces générations.

On a fourni à l'Autorité une méthode de détection et d'identification de MON 88913.

IV. Critères pour l'évaluation du risque environnemental

1. Potentiel de la ligne de coton MON 88913 pour devenir une mauvaise herbe pour l'agriculture ou pour être invasive des habitats naturels

Le coton (*Gossypium hirsutum*) est un membre pérenne des *Malvaceae* (famille des Malvacées), mais il est cultivé comme une récolte annuelle. Ni les plantes ni les graines du *Gossypium* ne peuvent survivre des temps de gel. Le genre *Gossypium* ne montre aucune tendance envahissante agressive particulière. Le coton a été cultivé pendant des siècles et il n'a jamais été dénoncé comme un problème grave de mauvaise herbe.

Les caractéristiques de dormance et de germination de la ligne MON 88913, le contrôle négatif de la ségrégation (qui partage un contexte génétique similaire avec le MON 88913), et plusieurs variétés de référence ont été mesurées dans des chambres de croissance à température contrôlée sous sept régimes de température différents. Toutes les valeurs pour MON 88913 se trouvaient, soient dans l'intervalle de valeurs de référence, soit progressivement dehors l'intervalle fournie. Aucune différence importante n'a été observée en pourcentage viable de graine dure (une mesure potentielle de dormance).

Les mesures des caractéristiques de hauteur, de rendement et des graines/capsules de la ligne MON 88913, ainsi que le contrôle, ont été enregistrés lors de la récolte. Lors de la mise en commun de tous les emplacements, il n'y a pas eu de différences importantes entre la hauteur, le nombre de nœuds, le nombre total de capsules, le

nombre de capsules végétatives, le nombre de capsules anormales, le total de graines par capsule, les graines mûres par capsule ou les graines immatures par capsule. Une différence importante de 0.3 grammes a été enregistrée pour le répertoire des semences (grammes par 100 graines entières), mais cette différence a probablement peu d'impact biologique sur le degré d'envahissement par les mauvaises herbes.

La ligne MON 88913 est donc considérée substantiellement équivalente aux lignes 1445 et 1698 en ce qui concerne le pouvoir envahissant et le potentiel pour devenir une mauvaise herbe pour l'agriculture. L'ACIA conclut qu'il est peu probable que la ligne de coton MON 88913 devienne une mauvaise herbe pour l'agriculture ou qu'elle devienne invasive des habitats naturels.

2. Potentiel du flux génétique pour des espèces sauvages apparentées et potentiel de la descendance hybride de devenir plus envahissante

Le pollen de coton reste viable pendant 12 heures environs, mais les graines sont relativement grandes et lourdes et non faciles à disperser par le vent. *G. hirsutum* est généralement autogame, mais il peut présenter la pollinisation croisée en présence des insectes pollinisateurs appropriés (comme les bourdons (*Bombus* spp.) et les abeilles mellifères (*Apis mellifera*)). La fréquence de la pollinisation croisée diminue lorsque la distance de la source de pollen augmente. Les espèces sauvages de *Gossypium* sont généralement restreintes à des régions subtropicales ou tropicales arides.

L'Autorité a conclu que le flux génétique des lignes de coton tolérantes au glyphosate vers des espèces sauvages apparentées de *Gossypium* est très peu probable dans des écosystèmes aménagés ou naturels dans ce pays.

3. Potentiel phytoravageur altéré

Le coton n'est pas un phytoravageur et l'effet visé du nouveau trait n'est pas en rapport avec le potentiel phytoravageur. La susceptibilité de la ligne MON 88913 aux insectes, aux maladies et aux agresseurs abiotiques a été évaluée dans des expériences au champ dans 14 emplacements. Les susceptibilités aux pucerons, aux légionnaires de la betterave, aux vers de la capsule du coton, aux Lygus, aux vers rose de la capsule du cotonnier, aux pentatomes, aux punaises terne, aux thrips, aux noctuelles verdoyantes, à l'Aleyrodidae, au boll rot, au Pythium, au Rhizoctone, au Verticilliose, au froid, à la sécheresse et à la chaleur étaient similaires, chez la ligne MON 88913, aux susceptibilités chez les plantes témoins à ces agresseurs. Aucune différence n'a été observée entre la ligne MON 88913 et les témoins qui aurait contribué à augmenter le potentiel phytoravageur.

L'Autorité a donc déterminé que la ligne de coton Flex MON 88913 de Roundup Ready® ne montre aucun potentiel phytoravageur altéré.

4. Impact potentiel des Organismes non-visés

La source de la séquence codante pour la protéine CP4 EPSPS produite chez la ligne MON 88913 est une bactérie des sols qui n'est pas un agent zoopathogène ou un agent pathogène connu chez l'humain, et elle n'a pas été dénoncée préalablement comme un allergène. La protéine est rapidement digérée dans des fluides gastriques simulés (plus de 95% de la protéine a été digérée en 15 secondes) et il n'y a pas eu de séquences homologues pertinentes du point de vue immunologique à aucune protéine allergène connue, indiquant un manque de potentiel allergène. En plus, aucun cas prouvé d'allergie ou d'effets indésirables causé par la consommation de cette protéine

dans des aliments pour des humains ou des animaux dérivée d'autres plantes cultivées de Roundup Ready® n'a été dénoncé depuis son introduction en 1996.

Les protéines EPSPS se présentent naturellement dans des aliments végétaux et sur la base de microbes qui ont une histoire de consommation sûre par les êtres humains et les animaux. La CP4 EPSPS a été consommée directement ou comme des produits transformés des plantes cultivées de Roundup Ready® depuis leur commercialisation en 1996, n'existant aucun cas de toxicité dénoncé. Une évaluation nutritionnelle et de la composition a comparé la graine de coton, l'huile et le tourteau de la ligne MON 88913 à la graine de coton, l'huile et le tourteau d'une ligne négative de coton témoin avec des contextes génétiques similaires. Cette évaluation n'a trouvé aucune valeur compositionnelle dans la ligne de coton MON 88913 dehors l'intervalle de valeurs trouvée dans les homologues non-modifiés.

Le coton est connu pour avoir des substances toxiques et des facteurs antinutritionnels naturels (des acides gras cyclopropénoides et des gossypol). Les aflatoxines sont des sous-produits toxiques de plusieurs variétés de champignons qui peuvent croître dans le coton. La ligne MON 88913 a été testée pour quatre aflatoxines (B1, B2, G1, et G2) mais, lorsque 50% des échantillons pris étaient en dessus le seuil de quantification, des analyses statistiques supplémentaires n'ont pas été effectuées. Les niveaux des acides gras cyclopropanoides (l'acide malvalique, l'acide dihydrosterculique et l'acide sterculique) ont été évalués dans la ligne MON 88913 et on a constaté qu'ils se trouvaient dans l'intervalle de valeurs observées dans les homologues de coton conventionnel. Les niveaux de gossypol ont été évalués et on a également constaté qu'ils se trouvaient dans l'intervalle de valeurs observées dans les homologues de coton conventionnel.

Une étude de toxicité orale aiguë en utilisant la protéine CP4 EPSPS produite par *E. coli* a été appliquée à des souris. Aucun effet indésirable n'a été observé en 475 mg de protéine CP4 EPSPS/kg de poids du corps de la souris, et il n'y a pas eu de différences de poids corporel, de poids corporel cumulatif ou de consommation alimentaire entre les souris alimentées avec la protéine CP4 EPSPS et les souris alimentées avec une protéine témoin (albumine bovine) à ce niveau.

Donc, à partir des données ci-dessus, l'Autorité conclut que l'utilisation de la ligne MON 88913 n'aura pas d'impact plus important sur les organismes non-visés (y compris les humains) que l'utilisation du coton conventionnel.

5. Impact potentiel sur la biodiversité

Aucune variété de coton ni d'espèce sauvage apparentée qui puisse se croiser facilement avec le coton ne peut être cultivée dans l'environnement local. Le coton Flex de la ligne MON 88913 de Roundup Ready® n'a pas de modifications observées ou espérées qui pourraient lui permettre de survivre dans l'environnement local mieux que le coton non-modifié. Donc, l'Autorité conclut que la ligne MON 88913 n'aura aucun impact sur la biodiversité dans ce pays.

V. Critères pour l'évaluation du risque environnemental

1. Impact potentiel sur l'alimentation du bétail

La composition de la graine de coton, du tourteau de coton et de l'huile de coton de la ligne MON 88913 a été comparée à une ligne de contrôle négatif de la ségrégation. Les graines de coton entières délintées par acide ont été analysées en deux essais, et l'analyse a compris des proximates, des minéraux, des aminoacides, des acides gras,

des acides gras cyclopropénoides, du gossypol et la vitamine E. Le tourteau de coton et l'huile de coton ont été analysés dans l'un des essais. L'analyse du tourteau de graines de coton a compris des proximates, des minéraux, des aminoacides, des acides gras cyclopropénoides et du gossypol, tandis que l'analyse de l'huile de coton a compris des acides gras, des acides gras cyclopropénoides, du gossypol et la vitamine E. L'acide oléique, lorsqu'il est exprimé comme un pourcentage du total des acides gras, a été significativement altéré, mais cette différence a été due à des valeurs élevées dans la ligne de contrôle. La phénylalanine, lorsqu'elle est exprimée comme un pourcentage du total des aminoacides, a été significativement plus élevée dans la ligne MON 88913 que son contrôle dans les deux essais. Cependant, tant la ligne MON 88913 que sa ligne de contrôle sont tombées dans l'intervalle des variétés de référence commerciale et dans l'intervalle des valeurs de documentation pour cet analyte. Il n'y a pas eu de différence en phénylalanine lorsqu'elle a été exprimée comme un pourcentage du total des aminoacides dans le tourteau de graines de coton dérivé de graines de coton entières utilisées dans cet essai. Plusieurs autres analytes (le tryptophan, l'acide linoléique et le manganèse) ont été trouvés significativement différents, mais toutes ces valeurs sont tombées dans l'intervalle de tolérance pour les variétés de référence commerciale.

Les acides malvalique et sterculique, lorsqu'ils ont été exprimés comme un pourcentage du total des acides gras, ont été légèrement mais significativement différents dans un emplacement dans l'un des essais. Les moyennes pour ces acides gras sont tombées dans l'intervalle des variétés de référence commerciale. L'évidence fournie par Monsanto Inc. appuie la conclusion que la composition nutritionnelle du coton Flex de la ligne MON 88913 de Roundup Ready® est substantiellement équivalente aux variétés de coton conventionnel.

2. Impact potentiel sur le bétail et sur les ouvriers

L'EPSPS est une enzyme présente dans plusieurs aliments avec une longue histoire d'utilisation sans risque et donc, il ne serait pas attendu qu'elle soit toxique ou allergène. L'enzyme CP4 EPSPS provient d'*Agrobacterium* strain CP4, une bactérie des sols qui n'est pas un agent zoopathogène ou un agent pathogène connu chez l'humain. La séquence d'acides aminés de la protéine CP4 EPSPS trouvée dans la ligne MON 88913 est identique à la protéine CP4 EPSPS chez les plantes cultivées de Roundup Ready® préalablement approuvée, destinée à être utilisée pour l'alimentation animale. La CP4 EPSPS ne partage aucune homologie importante pertinente du point de vue biologique avec des toxines ou des allergènes connus ; elle est présente en petites quantités dans les aliments des animaux, elle est instable face à la chaleur et elle se dégrade rapidement avec les conditions présentes au tractus gastro-intestinal. En plus, une étude de toxicité orale aiguë chez la souris n'a indiqué aucun effet nocif à 475 mg/kg de CP4 EPSPS de poids du corps. Sur la base des informations fournies par Monsanto Inc, il est peu probable que la CP4 EPSPS soit une toxine ou un allergène nouveaux.

Le coton n'est pas connu par la production d'allergènes endogènes, et l'événement de transformation qui a produit la ligne de coton MON 88913 ne devrait pas induire leur synthèse. Sur la base des niveaux d'exposition prévus et des résultats des tests ci-dessus, aucun risque important pour le bétail et pour les ouvriers n'est attendu de l'exposition à la protéine CP4 EPSPS.

VI. Besoins de nouvelles informations

Si à un moment donné Monsanto Inc. prend connaissance d'une information concernant un risque pour l'environnement, ou un risque pour la santé humaine ou

animale qui puisse être provoqué par la libération de ces matériels, Monsanto Inc. fournira immédiatement cette information à l'Autorité. Sur la base de ces nouvelles informations, l'Autorité réévaluera l'impact potentiel de l'utilisation proposée et réévaluera sa décision par rapport à l'autorisation de produits alimentaires pour le bétail de la ligne de coton MON 88913.

VII. Décision réglementaire

Fondé sur la révision des données et des informations fournies par Monsanto Inc., y compris des comparaisons de la ligne de coton MON 88913 avec les homologues parents non-modifiés, l'Autorité a conclu que le gène nouveau et son trait correspondant ne confèrent aux plantes aucune caractéristique pouvant causer une préoccupation concernant la sécurité ou la composition nutritionnelle de la ligne de coton MON 88913. La ligne de coton MON 88913 a été évaluée et on a trouvé qu'elle est sûre et aussi nutritive que les variétés de coton traditionnel. Il est considéré que la ligne de coton MON 88913 et ses produits sont conformes aux définitions d'ingrédients actuelles et ils sont approuvés pour être utilisés comme des ingrédients pour les produits alimentaires pour le bétail. La ligne de coton MON 88913 ne sera pas cultivée localement et les graines ne pourront pas passer l'hiver, donc la libération de l'aliment du bétail dans l'environnement aurait comme résultat des effets environnementaux visés et non visés.

L'utilisation de la ligne de coton MON 88913 pour les aliments du bétail est donc autorisée à partir du 23 novembre 2007. La ligne de coton MON 88913 et toute autre ligne de coton dérivée de celle-ci peut être importée et/ou libérée pourvu qu'aucun croisement interspécifique ne soit effectué, que les usages visés soient similaires, et qu'elle soit connue, fondé sur la caractérisation que ces plantes ne révèlent aucun trait nouveau additionnel et qu'elles sont substantiellement équivalentes au coton cultivé à présent, en termes de leur utilisation et sécurité spécifiques pour l'environnement et pour la santé humaine et animale.

La ligne de coton MON 88913 est soumise aux mêmes exigences phytosanitaires d'importation que ses homologues non-modifiés.

VIII. Contact réglementaire

L'Autorité nationale compétente pour l'environnement
123 Authority Street
National Capital 9999

Note : Ce document de sortie est disponible aussi sur l'Internet :
www.decisions.com/CNA2007-17.pdf
