

**NOTIFICATION DE DISSÉMINATION DE
PLANTES SUPÉRIEURES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉES
(*ANGIOSPERMAE* ET *GYMNOSPERMAE*)**

Directive 2001/18/CE

**Essais au champ de maïs tolérant à un herbicide
Événement GA21**

France 2006-2008

SYNGENTA SEEDS S.A.S

Décembre 2005

PREAMBULE

Ce dossier scientifique et technique de demande d'autorisation pluriannuelle de dissémination de maïs génétiquement modifié est déposé conformément aux exigences de la directive européenne 2001/18/CEE qui régit la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement que ce soit à des fins de mise sur le marché ou à d'autres fins.

La demande faisant l'objet de ce dossier concerne des essais de recherche et développement de maïs génétiquement modifié présentant une tolérance au glyphosate. Ces essais ont pour objectifs de produire du matériel végétal qui sera utilisé pour conduire des analyses de comparaison entre du matériel génétiquement modifié et sa contrepartie non génétiquement modifiée et d'acquérir de l'information complémentaire sur les performances de l'événement de transformation dans les conditions agro-climatiques européennes.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

DOSSIER TECHNIQUE :

A. INFORMATIONS D'ORDRE GÉNÉRAL

B. INFORMATIONS CONCERNANT LA PLANTE RECEPTRICE

C. INFORMATIONS SUR LA MODIFICATION GÉNÉTIQUE

D. INFORMATIONS CONCERNANT LA PLANTE SUPÉRIEURE GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉE

E. INFORMATIONS CONCERNANT LE SITE DE DISSEMINATION

F. INFORMATIONS CONCERNANT LA DISSÉMINATION

G. INFORMATIONS SUR LES PLANS DE SURVEILLANCE, DE CONTRÔLE, ET DE TRAITEMENT DU SITE ET DES DÉCHETS APRES DISSÉMINATION

H. CONCLUSIONS CONCERNANT LES INCIDENCES POTENTIELLES SUR LA SANTE PUBLIQUE ET L'ENVIRONNEMENT DE LA DISSEMINATION DE PLANTES SUPERIEURES GENETIQUEMENT MODIFIEES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE 1 : INFORMATION CONFIDENTIELLE

INTRODUCTION

Le maïs (*Zea mays*) est une céréale annuelle originaire d'Amérique centrale qui est maintenant cultivée du nord de l'Europe au sud de l'Argentine, du niveau de la mer à des altitudes supérieures à 3000 mètres. Sous nos climats, elle est semée entre la mi-avril et la mi-mai pour être récoltée en octobre.

Cette plante est cultivée sur 140 millions d'hectares (moyenne années 2000 à 2003) dans le monde avec une production annuelle d'environ 600 millions de tonnes. C'est la première production céréalière mondiale devant le blé, elle est essentiellement fournie par les Etats-Unis (41%) suivi par la Chine (19%), l'Union Européenne, l'Amérique du Sud avec le Brésil et l'Argentine. La France assure 3% de la production mondiale avec une surface cultivée d'environ 1 600 000 hectares, principalement dans les régions Aquitaine et Midi-Pyrénées. A côté de cette production de maïs grain, il faut également signaler, une production de maïs fourrage, principalement dans l'Ouest de la France.

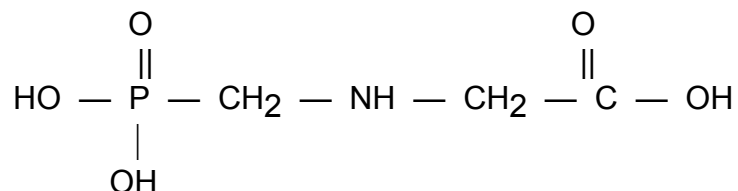
Le maïs grain est essentiellement utilisé en alimentation animale (70% de la consommation mondiale) et pour une part moins importante à l'industrie de l'amidon et à la semoulerie.

Le contrôle des mauvaises herbes est une des étapes importantes dans la culture du maïs. Le cycle de développement du maïs coïncide en effet avec celui d'une flore adventice riche et variée composée de plantes printanières, estivales ou indifférentes. Ces adventices rentrent en concurrence directe avec le maïs pour l'eau, les éléments fertilisants et la lumière et la croissance de celui-ci en est affectée provoquant des pertes qualitative et quantitative de récolte.

Plus de 80 espèces peuvent se rencontrer dans une culture de maïs. Elles se distinguent par leur caractère annuel ou pérenne, leur nature botanique (monocotylédones ou dicotylédones) leur période et dynamique de levée (germination sur une longue période ou bien au contraire très limitée dans le temps). Cette diversité rend les méthodes de désherbage complexes et nécessite de traiter aussi bien avant qu'après la levée des plantules de maïs (pré-levée et post-levée) avec des produits herbicides différents ayant une action spécifique de la nature botanique des espèces présentes.

Le glyphosate est une molécule herbicide à large spectre, non spécifique d'une plante (non-sélectif) et non rémanent. Il est largement utilisé dans le monde aussi bien en zones agricoles qu'en zones non agricoles. Le glyphosate a été ré-homologué par les instances Européennes en 2001 dans le cadre du processus de ré-homologation des anciennes matières actives.

Structure du glyphosate



Lorsque du glyphosate est pulvérisé sur les feuilles il pénètre dans la plante et est transporté par la sève vers les racines provoquant l'arrêt de croissance de la plante.

Il agit en inhibant l'activité d'une enzyme, l'EPSPS (5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) impliquée dans la voie de biosynthèse des acides aminés aromatiques dans les plantes (tryptophane, phénylalanine, tyrosine). Cette enzyme qui existe naturellement dans les plantes, les champignons et les bactéries, est absente chez les mammifères. Les acides aminés aromatiques sont indispensables pour la synthèse des protéines dans la plante, en présence de glyphosate leur synthèse est interrompue et la plante meurt. Ce mode d'action confère au glyphosate une bonne efficacité sur la plus grande partie des mauvaises herbes présentes dans les cultures de maïs en France.

Le profil toxicologique du glyphosate a été établi à partir de nombreuses études expérimentales et évalué par différentes instances réglementaires dans le monde qui ont autorisé son utilisation.

Les plantes de maïs génétiquement modifiées contenant l'événement de transformation GA21 présentent une tolérance au glyphosate. Le gène introduit dans ces plantes est le gène *epsps* isolé du maïs dont la structure a été modifiée pour synthétiser une enzyme EPSPS insensible à l'action du glyphosate. Les plantes de maïs génétiquement modifiées avec l'événement de transformation GA21 présentent une tolérance aux traitements réalisés avec du glyphosate.

Les plantes de maïs tolérantes au glyphosate pourront offrir à l'agriculteur une alternative aux traitements actuels pour contrôler les mauvaises herbes qui concurrencent la culture.

L'événement de transformation GA21 a déjà reçu des autorisations de mise sur le marché pour la culture aux Etats-Unis, au Canada, en Argentine et au Japon.

Les essais qu'il est prévu d'implanter ont pour objectif de produire du matériel végétal qui sera utilisé pour conduire des analyses de comparaison entre du matériel génétiquement modifié et sa contrepartie non génétiquement modifiée.

A. INFORMATIONS D'ORDRE GENERAL

1. Nom et adresse du notifiant (société ou institut).

Syngenta Seeds S.A.S pour le compte de Syngenta Crop Protection AG, Bâle, Suisse, et toutes les compagnies affiliées

Syngenta Seeds S.A.S
12, chemin de l'Hobit
BP 27
F-31790 Saint-Sauveur
France

2. Nom, qualifications et expérience des scientifiques responsables.

Le projet et les essais sont sous la responsabilité de scientifiques possédant une large expérience en évaluation des risques pour l'environnement, plantes génétiquement modifiées et en expérimentation au champ de maïs génétiquement modifié (voir Annexe 1).

3. Titre du projet.

« Essais au champ de maïs tolérant à un herbicide, Evénement GA21. France 2006-2008 »

4. Développements ultérieurs envisagés

Une demande d'autorisation a été déposée, conformément au règlement 1829/2003, pour l'importation et l'utilisation de maïs contenant l'événement de transformation GA21 et de produits dérivés dans l'Union Européenne. Les essais proposés dans le présent dossier ont pour objectif de collecter de l'information supplémentaire pour l'évaluation de cet événement de transformation dans différentes conditions environnementales européennes. La décision de Syngenta de déposer un dossier de demande de commercialisation pour la culture sera basée sur un certains nombres de considérations dont les informations collectées à partir de ces essais.

B. INFORMATIONS CONCERNANT LES PLANTES (A) RECEPTRICES OU (B) (LE CAS ECHEANT) PARENTALES

1. Nom complet :

- a) Nom de famille : *Graminae*
- b) Genre : *Zea*
- c) Espèce : *mays*
- d) Sous-espèce : *mays*
- e) Cultivar/lignée : différentes descendancees du transformant initial contenant l'événement de transformation GA21.
- f) Nom usuel : maïs

2. a) **Informations concernant la reproduction :**
i) **mode(s) de reproduction ;**

Reproduction sexuée: *Zea mays* est une plante allogame qui se propage via des graines produites essentiellement par pollinisation croisée due principalement à un transport de pollen par le vent. *Z. mays* est une plante ayant une inflorescence protandre (apparition des fleurs mâles avant les fleurs femelles); toutefois, plusieurs décennies de sélection conventionnelle et d'améliorations ont produit des variétés de maïs ayant des traits protogynes (apparition des fleurs femelles avant les fleurs mâles). *Z. mays* a des fleurs mâles, groupées sur une inflorescence terminale, la panicule, située au sommet de la tige, et des fleurs femelles groupées en épis à l'aisselle des feuilles .

Reproduction asexuée: Il n'y a pas de reproduction asexuée chez le maïs

- ii) **le cas échéant, facteurs spécifiques affectant la reproduction ;**

Les stades critiques de la reproduction du maïs concernent le développement du panicule, la formation du pollen et la fécondation, par conséquent la température et l'humidité affecteront sa reproduction.

La plupart des variétés de maïs sont protandres, il peut s'écouler jusqu'à cinq jours entre l'émission de pollen et l'apparition des soies. La dispersion du pollen est limitée par plusieurs facteurs dont sa grande taille (0,1 mm de diamètre), sa vitesse rapide de dépôt et sa courte survie. Plus de 98% du pollen se déposent au sol, à une distance maximale de 25-50 mètres par rapport à la source (EEA, 2002). Le pollen émis reste viable en moyenne pendant 10 à 30 minutes, mais il peut rester viable plus longtemps dans des conditions froides et humides (Coe *et al.*, 1988; Herrero et Johnson, 1980; Hoekstra *et al.*, 1989; Jones et Newel, 1948).

- iii) **temps de génération ;**

Le maïs est une culture annuelle. Le temps de génération depuis le semis jusqu'à la récolte varie en fonction du patrimoine génétique de la variété et du climat. Il peut varier de 60 -70 jours pour les types très précoces à 10-11 mois pour les type tardifs des régions tropicales. En France, le temps de génération est de l'ordre de 6 mois, les semis se déroulent généralement à partir d'avril, avec une récolte à partir de septembre.

- b) **Compatibilité sexuelle avec d'autres espèces végétales sauvages ou cultivées, y compris la répartition en Europe des espèces compatibles.**

- Autres espèces de plantes cultivées: la compatibilité sexuelle du maïs avec d'autres plantes cultivées se limite au genre *Zea*.

- Plantes sauvages: il n'existe pas de maïs sauvage en Europe. Dès lors, le maïs ne peut échanger de gènes avec une quelconque autre espèce au sein de l'Union Européenne (Niebur, 1993).

3. Capacité de survie :

a) capacité à former des structures de survie ou de dormance ;

Le maïs est une plante annuelle. Les graines sont les seules structures de survie; elles ne peuvent être dispersées sans égrenage mécanique des épis et montrent peu ou pas de dormance. La régénération naturelle à partir de tissu végétatif n'est pas connue.

b) le cas échéant, facteurs spécifiques affectant la capacité de survie.

La survie du maïs dépend de la température, du taux d'humidité des graines, du génotype, de la protection par les spathes et du stade de développement. Le maïs ne peut persister à l'état de mauvaise herbe. Les graines de maïs ne peuvent survivre que dans des conditions climatiques bien définies. Les repousses sont éliminées par le gel ou facilement contrôlées par les pratiques agronomiques actuelles, incluant la culture et l'utilisation d'herbicides sélectifs (Niebur, 1993). Le maïs est incapable de reproduction prolongée en dehors de la culture domestique et n'est pas envahissant dans les habitats naturels (OECD, 2003).

4. Dissémination :

a) voies et étendue de la dissémination (par exemple, estimation de la manière dont la qualité de pollen viable et/ou des graines décline à mesure que la distance augmente) ;

Le maïs en Europe n'est qu'une espèce de grande culture, sa dissémination n'intervient que dans les espaces agricole par semis.

La dissémination du maïs peut s'accomplir par les graines et par le pollen.

La dispersion des graines ne se produit pas naturellement, en raison de la structure de l'épis (OECD, 2003).

La viabilité du pollen est de l'ordre de 30 minutes, la fécondation croisée qui peut se produire pendant cette période devient plus improbable lorsque les conditions climatiques affectent cette viabilité et lorsque la distance entre les plantes augmente. Une distance de 200m est reconnue comme permettant de produire des semences aux normes de pureté internationalement autorisé (normes de certification OCDE).

b) le cas échéant, facteurs spécifiques affectant la dissémination.

Le maïs a une inflorescence femelle polystiche appelée épis. Les grains sont disposés en plusieurs rangées autour d'un axe centrale appelé rafle. L'épis est enveloppé dans des spathes (feuilles modifiées). En raison de la structure des épis, la dispersion de graine individuelle ne se produit pas naturellement. Le maïs n'est pas envahissant dans les habitats naturels (OECD, 2003).

5. Distribution géographique de la plante.

Le maïs, qui a des caractéristiques morphologiques et physiologiques très diversifiées, est cultivé sur environ 147 millions d'hectares à travers le monde (FAO, 2005). On le rencontre dans un large éventail de conditions: de 56° Lat. N à 40° Lat. S, en dessous du niveau de la mer des plaines Caspiennes, jusqu'à 3000m dans les Andes et dans des régions semi-arides à arides (Russell et Hallauer, 1980).

Le maïs est dépendant de l'homme pour sa dispersion géographique. Il s'agit de la troisième culture céréalière du monde en terme d'importance.

La production française de maïs est localisée principalement dans les régions suivantes :

- Aquitaine et Midi-Pyrénées
- Façade atlantique et notamment en Poitou-Charentes
- L'Est avec notamment les régions Rhône-Alpes et Alsace
- La zone Nord-Loire (Centre, Ile-de-France, Picardie, Champagne-Ardenne...)

Il n'existe pas de maïs sauvage en Europe.

6. Pour les espèces végétales qui ne poussent pas habituellement dans les Etats membres, description de l'habitat naturel de la plante, y compris les informations sur les prédateurs naturels, les parasites, les concurrents et les symbiotes.

On pense que l'introduction du maïs en Europe remonte à l'époque de Christophe Colomb, au 15^{ème} siècle (Rebourg *et al.*, 2003) et il est largement cultivé dans les Etats membres de l'Union Européenne.

7. Autres interactions potentielles, pertinentes pour l'OGM, de la plante avec des organismes dans l'écosystème habituel, ou ailleurs, y compris les informations sur sa toxicité pour les hommes, les animaux et d'autres organismes.

On sait que le maïs interagit avec d'autres organismes dans l'environnement, incluant les insectes, les oiseaux et les mammifères. Il est sensible à diverses maladies fongiques et à certains insectes, ainsi qu'à la compétition avec les mauvaises herbes voisines (OECD, 2003). Le maïs est abondamment cultivé et son utilisation en tant qu'aliment pour l'homme et l'animal est sûre. Aucune toxine native importante associée au genre *Zea* n'a été signalée (CFIA, 2003).

C. INFORMATIONS CONCERNANT LA MODIFICATION GENETIQUE

1. Description des méthodes utilisées pour la modification génétique.

L'événement de transformation GA21 a été obtenu par bombardement de micro projectiles sur des suspensions de cultures de cellules de maïs. Ce procédé est décrit dans *l'International Patent PCT/US98/06640* (pages 75-77; Spencer *et al.*, 1998a).

2. Nature et source du vecteur utilisé.

Le plasmide pDPG434 a été utilisé pour produire l'événement de transformation GA21, par bombardement de micro-projectiles (voir Spencer *et al.*, 1998b et Spencer *et al.*, 1998a). Le plasmide est dérivé d'un vecteur habituellement utilisé en biologie moléculaire, le vecteur pSK lui même dérivé de pUC19 (Short *et al.*, 1988). La carte du plasmide pDPG434 est donnée en figure 1.

Le fragment de restriction *NotI* contenant la cassette d'expression a été utilisé pour la transformation.

Les différentes séquences composant le plasmide avec des informations sur leur origine sont données dans les tableaux 1 et 2 ci-dessous. Le fragment de restriction *NotI* contient la cassette d'expression de l'enzyme 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate-synthase (*mepsps*) modifiée, il ne contient pas l'origine de la réplication, le gène *bla* et la séquence partielle *lacZ*.

Tableau 1: Composants du vecteur (Spencer *et al.* 1988c P. 44)

Les différentes séquences du vecteur, autres que celles destinées à être introduites dans la plante sont les suivantes :

Composant du vecteur	Description
lac	Une séquence codante partielle <i>lacI</i> , le promoteur <i>lac</i> , et une séquence codante partielle pour la β -galactosidase ou les protéines LacZ (Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)
bla	Le gène TEM de type β -lactamase du plasmide pBR322 de <i>E. coli</i> qui confère aux bactéries la résistance à l'ampicilline et à d'autres pénicillines (Sutcliffe, 1978). Le gène est contrôlé par son promoteur bactérien natif.
ColE1ori	L'origine de la réplication d'ADN provenant du plasmide pUC19 de <i>E. coli</i> (Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)

Tableau 2: Séquences destinées à être introduites dans la plante (Spencer *et al.* 1988c P. 44) :

Composant du vecteur	Description
Promoteur et intron de l'actine du riz	Région 5' du gène de l'actine 1 du riz contenant le promoteur et le premier intron et le premier exon (McElroy <i>et al.</i> , 1990) <i>Note: ceci est décrit en tant que "Act promoter + intron" dans le vecteur représenté à la Fig. 1</i>

Peptide de transit optimisé	Peptide de transition en position N-terminale dont la séquence a été optimisée à partir des peptides de transition du gène codant pour la ribulose-1,5-bis -phosphate carboxylase-oxygénase (RuBisCo) du maïs et du tournesol. (Lebrun <i>et al.</i> , 1996) <i>Note: ceci est décrit en tant que "mssu (CTP) and sssu (CTP) » dans le vecteur en figure 1.</i>
Gène mutant <i>epsps</i> de maïs	Gène natif <i>epsps</i> du maïs (Genbank Accession X63374) contenant deux mutations correspondant aux acides aminés de position 102 (thréonine en isoleucine) de position 106 (Proline en sérine) . <i>Note : ceci a été noté « mEPSPS dm » dans le vecteur en figure 1.</i>
Termineur Nos3'	Région 3'non traduite du gène de la nopaline-synthase de l' <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Bevan, 1984)

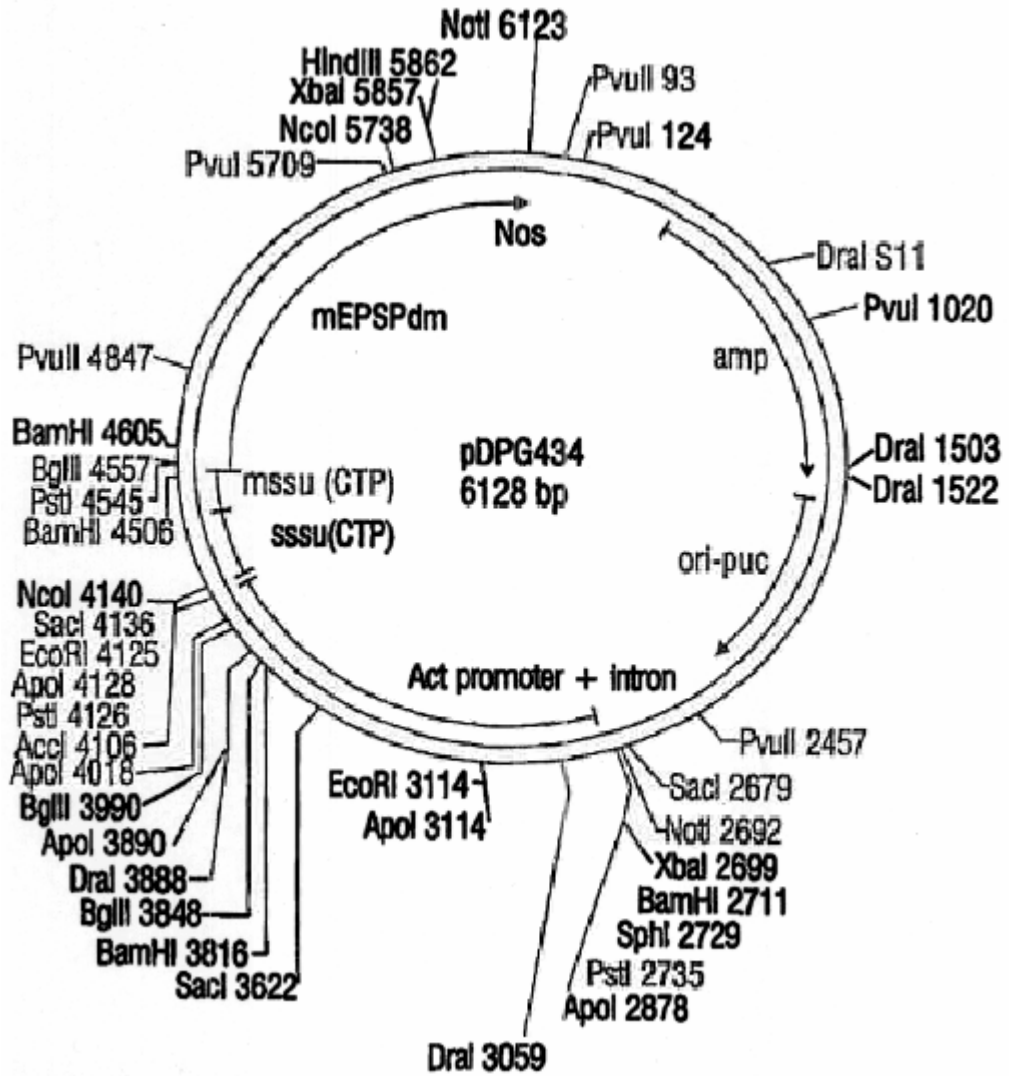
3. Taille, origine (nom) des organismes donneurs et fonction recherchée de chaque fragment constitutif de la région envisagée pour l'insertion.

Les éléments prévus pour l'insertion sont contenus dans le fragment de restriction *NotI* du plasmide pDPG434 montré à la Figure 1. Ce fragment de restriction *NotI* a été utilisé dans le processus de transformation. La source et la taille de chaque constituant figurent au tableau 2 ci-dessus. La taille et la fonction prévues de chaque composant sont résumées au tableau 3.

Tableau 3: Taille et fonction prévues des constituants prévus pour l'insertion

Composant du vecteur	Taille approximative (Kb)	Description de la fonction voulue
Promoteur et intron de l'actine du riz	1.4	Responsable de l'expression constitutive du gène <i>mepsps</i> dans le maïs. <i>Note: ceci est décrit comme "Act promoter + intron" dans le vecteur représenté à la Fig.1</i>
Peptide de transit optimisé	0.4	Dirige la protéine de l'enzyme 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate-synthase (mEPSPS) modifiée vers le chloroplaste (Lebrun <i>et al.</i> , 1996) <i>Note: ceci est décrit comme "mssu (CTP) and sssu (CTP)" dans le vecteur représenté à la Fig.1</i>
Gène mutant <i>epsps</i> du maïs	1.3	Séquence codant pour la protéine EPSPS du maïs (<i>Zea mays</i>) modifié (mEPSPS), ce qui confère la tolérance au glyphosate <i>Note: ceci est décrit comme "mEPSPdm" dans le vecteur représenté à la Fig.1</i>
Extrémité Nos 3'	0.3	Termine la transcription et dirige la polyadénylation de l'ARNm

Figure 1 : Carte du vecteur de transformation pDPG434 (Spencer et al., 1998b)



D. INFORMATIONS CONCERNANT LA PLANTE SUPERIEURE GENETIQUEMENT MODIFIEE

1. Description du ou des caractères et des caractéristiques qui ont été introduits ou modifiés.

L'événement de transformation GA21 est un maïs génétiquement modifié (GM), qui exprime une enzyme du maïs, la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (mEPSPS) mutée. L'EPSPS est une enzyme clé dans la voie de l'acide shikimique, impliquée dans la biosynthèse des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) et qui existe naturellement dans les plantes, les champignons et les bactéries, mais qui est absente chez les animaux. L'EPSPS est extrêmement sensible aux herbicides contenant du glyphosate. Les plantes de maïs transformées avec le gène *epsps* muté (*mepsps*), telles que celles contenant l'événement de transformation GA21, synthétisent une protéine mEPSPS qui confère une tolérance aux herbicides contenant du glyphosate (Spencer *et al.*, 2000; Lebrun *et al.*, 2003). La mutation a été introduite pour conférer cette tolérance et consiste en deux modifications spécifiques par rapport à l'EPSPS native du maïs.

2. Informations sur les séquences réellement insérées ou délétées :

a) taille et structure de l'insert et méthodes utilisées pour sa caractérisation, avec indication des parties de vecteur introduites dans la PSGM ou de tout ADN vecteur ou étranger restant dans la PSGM ;

L'analyse de l'insert démontre qu'il est constitué de six régions contiguës provenant du fragment de restriction *NotI* de 3.4 kb de pDPG434, utilisé pour produire l'événement GA21 (copies 1-6). La copie 1 contient le promoteur de l'actine du riz, qui a une délétion en 5' de 696 pb, le premier intron et exon de l'actine, le peptide de transit optimisé, le gène *mepsps* et le terminateur NOS. Les copies 2, 3 et 4 sont des versions intactes du fragment de restriction *NotI* de 3.4 kb de pDPG434. La copie 5 contient un promoteur complet de l'actine du riz, le premier intron et exon de l'actine, le peptide de transit optimisé et les 288 premières paires de base du gène *mepsps*, qui se termine par un codon stop et ne contient pas le terminateur NOS. La copie 6 contient le promoteur de l'actine du riz et un premier exon tronqué de l'actine; elle ne contient pas d'autres éléments de pDPG434.

Une analyse par Southern a été faite pour démontrer l'absence d'autres copies de l'insert, ailleurs dans le génome (cf Annexe 1).

b) en cas de délétion, taille et fonction des régions supprimées ;

Sans objet, étant donné qu'il n'y a pas de délétion dans ce cas.

c) nombre de copies de l'insert ;

Le type d'hérédité de l'insert dérivé de pDPG434 dans l'événement GA21 a fait l'objet d'investigations; les résultats ont montré que l'insertion s'est faite dans le noyau. L'analyse statistique a confirmé l'hérédité mendélienne attendue pour la caractéristique de tolérance à l'herbicide. Les résultats figurent en Annexe 1.

d) localisation de l'insert dans les cellules de la plante (intégré au chromosome, aux chloroplastes ou aux mitochondries, ou sous forme non intégrée), et méthodes utilisées pour sa détermination.

Une analyse par Southern-blot a montré la présence de la cassette d'expression à un seul locus d'insertion dans le génome du maïs. Ceci figure à l'Annexe1. Voir également le paragraphe D2(a) .

3. Informations concernant l'expression de l'insert :

a) informations concernant l'expression évolutive de l'insert durant le cycle de vie de la plante et les méthodes utilisées pour sa caractérisation ;

Les concentrations de la protéine mEPSPS ont été déterminées par test ELISA dans différents tissus végétaux et dans les plantes entières.

Des concentrations quantifiables de protéine mEPSPS ont été détectées dans la majorité des tissus végétaux de plantes contenant l'événement GA21. A tous les stades de développement, la concentration moyenne de la protéine mEPSPS mesurées dans les feuilles, les racines et la plante entière variaient entre une valeur inférieure à la limite de quantification (<0.2 µg/gfw) et environ 15 µg/gfw (<0.4—71 µg/gdw). La concentration moyenne de mEPSPS mesurées dans le grain varie de 4 à 7 µg/gfw (5—10 µg/gdw) et elle est d'environ 168 µg/gfw dans le pollen.

Cette expression constitutive était attendue en raison de l'utilisation du promoteur de l'actine du riz (Zhong *et al.*, 1996).

b) parties de la plante où l'insert est exprimé (par exemple les racines, la tige, le pollen, etc.).

Voir Section C.3 (a)

4. Description des différences entre la plante génétiquement modifiée et la plante réceptrice :

a) mode(s) et/ou vitesse de reproduction ;

Le maïs se reproduit par voie sexuée en produisant des semences. Sachant que la nouvelle caractéristique introduite a pour objet la tolérance aux herbicides, il n'y a pas d'évidence pour penser qu'elle affecte directement le mode de reproduction. Les résultats provenant de précédents essais au champ, réalisés aux Etats-Unis avec l'événement GA21, ne laissent pas supposer que les lignées génétiquement modifiées diffèrent de la plante receveuse au niveau du mode ou de la vitesse de reproduction.

b) dissémination ;

La dissémination peut se produire par les grains et le pollen. Sachant que la nouvelle caractéristique introduite a pour objet la tolérance aux herbicides, il n'y a pas d'évidence pour penser qu'elle affecte directement le mode de dissémination.

Les résultats provenant de précédents essais sur le terrain, réalisés aux Etats-Unis avec l'événement GA21, ne laissent pas supposer que les lignées génétiquement modifiées diffèrent de la plante receveuse au niveau du mode ou de la vitesse de reproduction.

c) capacité de survie.

Les semences sont les seules structures de survie du maïs. Des plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 ont été cultivées en serre pendant plusieurs générations. Elles ont fleuri normalement et ont produit des graines. Les essais au champ réalisés préalablement avec l'événement GA21 aux Etats-Unis n'ont pas fourni d'éléments suggérant que la modification affecte la survie de la plante.

5. Stabilité génétique de l'insert et stabilité phénotypique de la PSGM.

L'analyse moléculaire réalisée sur trois générations par Southern-blot laisse supposer que l'insert a été intégré de manière stable dans le génome de la plante. Les résultats figurent à l'Annexe 1.

En outre, les concentrations de mEPSPS ont été mesurées sur trois générations et les résultats ont démontré une expression stable de la protéine mEPSPS sur ces générations. Les semences des trois générations de rétro-croisement ont été cultivées en serre et des échantillons de matériel foliaire ont été prélevés à l'anthesis pour analyser les concentrations de protéine mEPSPS. Les concentrations moyennes de mEPSPS mesurées sur toutes les générations de rétro-croisement avoisinent 13—14 µg/gfw (82—96 µg/gdw). Globalement, les concentrations de mEPSPS étaient similaires sur les trois générations analysées, démontrant une expression stable de la protéine mEPSPS sur plusieurs générations.

6. Toute modification de la capacité de la PSGM à transférer du matériel génétique dans d'autres organismes.

Le pollen est le vecteur potentiel d'un éventuel transfert de matériel génétique vers d'autres organismes végétaux compatibles.

Toutefois, ceci est hautement improbable avec le maïs en Europe, étant donné qu'il n'existe pas d'espèces sauvages de maïs sexuellement compatibles poussant dans la région. Une pollinisation croisée avec du maïs conventionnel pourrait survenir, toutefois l'agencement et la conception de ces petits essais au champ contribuent à réduire cette possibilité au minimum.

Une autre voie proposée pour la dispersion à d'autres organismes est le transfert de matériel génétique à des micro-organismes du sol. Un grand nombre d'études ont été réalisées à ce sujet et à ce jour, on n'a pas mentionné de mouvements de gènes intacts au départ de plantes transgéniques vers des micro-organismes présents dans le sol, dans les systèmes naturels (O'Callaghan et Glare, 2001; Nielsen *et al.*, 1997).

Ces essais au champ, de taille réduite, sont destinés à des fins expérimentales; aucun produit provenant des essais ne sera utilisé comme aliment pour l'homme ou les animaux. Dès lors, on peut considérer que le risque de transfert de matériel génétique à d'autres organismes est négligeable.

7. Information concernant les effets toxiques, allergisants ou autres effets nocifs résultant de la modification génétique sur la santé humaine.

Il n'y a pas de raisons de penser qu'il puisse y avoir un quelconque effet toxique, allergénique ou néfaste sur la santé de l'homme et l'environnement, survenant du fait de la modification génétique, étant donné que l'effet voulu est la tolérance aux herbicides.

Aucun produit issu des essais ne sera utilisé comme aliment pour l'homme ou les animaux.

L'événement de transformation GA21 exprime le gène *mepsps*, dérivé du maïs, qui confère une tolérance aux herbicides contenant du glyphosate. Le gène *mepsps* est sous le contrôle de séquences régulatrices provenant du riz, du tournesol et d'*Agrobacterium tumefaciens*, organismes présents dans la nature. Aucun des composants introduits dans l'événement GA21 n'est considéré comme dangereux pour la santé de l'homme ou l'environnement.

Evaluation des effets sur la santé de l'homme et l'environnement

- L'organisme receveur, le maïs, est connu pour la sécurité de son utilisation dans le monde entier.
- Aucune des séquences géniques ou de leurs donneurs n'est connue comme pathogène pour les humains et aucune séquence pathogène n'a été introduite.
- La protéine mEPSPS dérive de *Zea mays* et présente au moins 99.3% d'homologie avec la protéine EPSPS du maïs. Les protéines EPSPS sont omniprésentes dans la nature et elles sont présentes dans les aliments dérivés de plantes et de microorganismes.
- La protéine mEPSPS est exprimée à des taux extrêmement faibles dans la plante.
- Une étude de toxicité orale aiguë n'a pas montré d'indications de toxicité aiguë chez des souris ayant reçu 2000mg/kg de protéine purifiée de mEPSPS.
- La protéine mEPSPS n'a pas d'homologie de séquence significative au niveau des acides aminés avec les toxines protéiques connues pour les mammifères ou avec des allergènes, et elle est facilement dégradée dans les essais de digestibilité *in vitro*.
- Des études comparant la composition de plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 et de plantes de maïs non génétiquement modifié ont été réalisées. Les taux de tous les composants évalués étaient compris dans les limites des valeurs rapportées dans la littérature pour le maïs, excepté en ce qui concerne l'inositol, pour lequel les valeurs de trois entrées (transgéniques et non transgéniques) étaient légèrement supérieures aux valeurs maximales rapportées dans la littérature. Ceci amène à conclure que ce maïs est substantiellement

équivalent au maïs conventionnel.

- Des études comparant les caractéristiques agronomiques de plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 et de plantes de maïs non génétiquement modifié ont été menées. En analysant les résultats "par lieu" ou "par hybride", aucune tendance n'a pu se détacher, qui indiquerait de façon consistante des différences dues à la modification génétique. Toutes les études mènent à la conclusion que ce maïs est substantiellement équivalent au maïs conventionnel.

Aucun effet néfaste de cette modification génétique n'est anticipé sur la santé de l'homme ou l'environnement.

8. Information concernant la sécurité de la PSGM pour la santé des animaux notamment en ce qui concerne tout effet toxique, allergisant ou autre effet nocif résultant de la modification génétique, lorsque la PSGM est destinée à être utilisée dans l'alimentation des animaux.

Voir le paragraphe 7 ci-dessus. De plus, il s'agit d'essais de recherche de taille réduite et aucun produit provenant de ces essais ne sera utilisé comme aliment pour l'homme ou les animaux.

9. Mécanisme d'interaction entre la plante génétiquement modifiée et les organismes cibles (le cas échéant).

Les plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21, produisent une enzyme EPSPS mutée (mEPSPS) qui confère une tolérance aux herbicides contenant du glyphosate (Spencer *et al.*, 2000; Lebrun *et al.*, 2003). La mutation a été introduite pour conférer cette tolérance et elle consiste en deux modifications spécifiques de la protéine EPSPS native du maïs.

Dans le cas du maïs GA21 il n'y a pas d'organisme cible car le seul caractère modifié exprimé par ce maïs est celui de tolérance aux herbicides.

10. Modifications potentielles des interactions de la PSGM avec les organismes non-cibles résultant de la modification génétique.

Les organismes non cibles qui peuvent interagir avec les plantes étudiées sont les animaux se nourrissant de la plante ou des tissus de la plante, les insectes herbivores qui peuvent visiter la plante ou les bactéries du sol.

Le maïs GA21 exprime une protéine mEPSPS qui confère une tolérance aux herbicides contenant du glyphosate. Ainsi, l'interaction avec les organismes non cibles sur le terrain est susceptible d'être identique à celle du maïs non modifié.

Le mode d'action de la protéine mEPSPS indique que les effets potentiels des plantes de maïs GA21 sur les organismes non cibles seront négligeables.

La culture de maïs génétiquement modifié contenant l'événement de transformation GA21 a été approuvée aux Etats-Unis, au Canada, en Argentine et au Japon. Il est cultivé à des fins commerciales aux Etats-Unis et au Canada, sans que l'on n'ait mentionné d'effets néfastes.

Cette demande concerne des essais au champ de taille réduite, dès lors l'exposition d'organismes non cibles sera faible et transitoire. En outre, les produits de ces essais au champ ne seront pas utilisés comme aliments pour l'homme ou les animaux.

Un grand nombre d'études ont été faites et, à ce jour, le transfert de gènes intacts de plantes transgéniques à des micro-organismes du sol dans les systèmes naturels (O'Callaghan et Glare, 2001; Nielsen *et al.*, 1997) n'a pas été mentionné.

11. Interactions potentielles avec l'environnement abiotique.

Les effets sur les processus biogéochimiques résultant des interactions avec les organismes non-cible ne doivent pas différer de ceux résultants de la culture de maïs non génétiquement modifié.

Il n'y a aucune indication laissant supposer que la dégradation des protéines ou la décomposition des feuilles puissent être altérées par la modification génétique introduite. Les gènes introduits sont dérivés d'organismes existant dans l'environnement et ne sont pas supposés affecter les processus biogéochimiques.

12. Description des méthodes de détection et d'identification de la plante génétiquement modifiée.

Les plantes génétiquement modifiées peuvent être détectées et identifiées par différentes techniques :

- culture de tissus : des fragments de tissus cultivés *in-vitro* sur un milieu contenant du glyphosate peuvent régénérer des plantules
- techniques de PCR ou de Southern pour vérifier la présence du (des) gène(s) introduits dans la plante
- dosages de protéines (western, ou ELISA) pour vérifier la présence de la protéine synthétisée par le gène introduit.

13. Informations, le cas échéant, sur les précédentes disséminations de la plante génétiquement modifiée.

La culture de maïs génétiquement modifié contenant l'événement de transformation GA21 a été approuvée aux Etats-Unis, au Canada, en Argentine et au Japon. Il est cultivé à des fins commerciales aux Etats-Unis et au Canada, et aucun effet néfaste n'a été rapporté.

L'événement de transformation GA21 a fait l'objet d'une évaluation par Syngenta dans des essais au champ multi-locaux aux Etats-Unis au cours de l'année 2004, et aucun effet néfaste n'a été rapporté.

L'événement de transformation GA21 a été cultivé dans des essais au champ aux Etats-Unis avant 2004 par d'autres sociétés.

E. INFORMATIONS CONCERNANT LE SITE DE DISSEMINATION

1. Localisation et étendue des sites de dissémination.

Les plantes génétiquement modifiées qui font l'objet de ce dossier seront implantées sur un maximum de 5 sites d'essai situés dans différentes régions de France. Pour l'année 2006, il est prévu d'implanter ces sites dans les régions Midi-Pyrénées, Centre (Gatinais) et Charente-Poitou.

Pour chacune des années, la surface totale de chacun des sites (plantes génétiquement modifiées, témoins non génétiquement modifiés et bordure) n'excédera pas 3000 m² avec une surface de plantes génétiquement modifiée de 1000m².

Il ne s'agit que de prévisions qui peuvent être modifiées en fonction du déroulement du projet.

2. Description de l'écosystème des sites de dissémination, y compris le climat, la flore et la faune.

Les essais seront implantés dans des zones agricoles de polyculture représentative de la culture du maïs et possédant des conditions pédoclimatiques différentes. La faune et la flore ne présentent pas de caractéristique particulière.

3. Présence d'espèces apparentées sauvages sexuellement compatibles ou d'espèces végétales cultivées sexuellement compatibles.

Aucune espèce sauvage liée au maïs *Zea* n'existe dans l'Union Européenne. La seule espèce cultivée compatible présente est le maïs lui-même. La probabilité d'avoir des pollinisations croisées est très réduite de part la taille réduite de l'essai et les mesures prises (point G.1).

4. Proximité des sites de biotopes officiellement reconnus ou de zones protégées susceptibles d'être affectées.

Les essais seront implantés dans des zones agricoles qui ne seront pas à proximité de sites de biotopes officiellement reconnus ou de zones protégées susceptibles d'être affectées.

F. INFORMATIONS CONCERNANT LA DISSEMINATION

1. Objectif de la dissémination.

Les objectifs des essais au champ sont :

- De produire du matériel végétal qui sera utilisé pour conduire des analyses de comparaison entre du matériel génétiquement modifié et sa contrepartie non génétiquement modifiée.
- D'acquérir de l'information complémentaire sur les performances de l'événement de transformation dans les conditions agro-climatiques européennes.

2. Date(s) et durée prévues de l'opération.

Ce dossier est une demande d'autorisation pour réaliser des essais au champ pendant 3 années, de 2006 à 2008. Ces essais seront réalisés pendant la période habituelle de culture de maïs, c'est à dire un semis en avril-mai et une récolte en octobre-novembre.

3. Méthode de dissémination envisagée.

Protocole classique de culture du maïs : semis mécanique précédé d'un travail de préparation du sol, puis traitement herbicide en pré-levée.

4. Méthode de préparation et gestion du site avant, pendant et après la dissémination, y compris les pratiques culturales et les modes de récolte.

Les pratiques usuelles de préparation de sol sont appliquées sur les parcelles destinées à recevoir les essais :

Avril :	Préparation du sol (désherbage avec des désherbants spécifiques du maïs et épandage d'engrais) Semis
Mai – Juin :	Si nécessaire, Traitement de rattrapage (passage d'herbicide, insecticide, épandage d'engrais)
juin-sept :	Observations
sept-nov. :	Récolte et collecte d'échantillons.
novembre :	Passage au girobroyeur du matériel végétale resté sur l'essai.
novembre ou printemps :	Labour, enfouissage de tous les débris épandus
1 an après la récolte :	Suivi de l'apparition des repousses potentielles

5. Nombre approximatif de plantes (ou de plantes par mètre carré).

Le nombre maximal de plantes transgéniques total qu'il est prévu d'implanté par lieux d'essai est 10 000.

G. INFORMATIONS SUR LES PLANS DE SURVEILLANCE, DE CONTROLE, ET DE TRAITEMENT DU SITE ET DES DECHETS APRES DISSEMINATION

1. Précautions prises :

Aucune autre espèce végétale sexuellement compatible avec le maïs n'est présente en Europe.

a) distance(s) des autres espèces végétales sexuellement compatibles, espèces parentales sauvages et cultivées ;

Aucune autre espèce végétale n'est compatible avec le maïs en Europe.

b) mesures visant à minimiser ou à empêcher la dissémination de tout organe reproducteur de la PSGM (par exemple pollen, graines, tubercules).

Les organes reproducteurs susceptibles de se disséminer sont les graines et le pollen.

Différentes mesures sont prise pour empêcher ou minimiser la dispersion de ces organes :

Les opérations de semis et de récolte sont assurées par des personnes informées des précautions à prendre,

Attention particulière à ce qu'aucune semence ou plante ne soit disséminée à l'extérieur du site d'essai pendant les opérations de semis et de récolte,

Application d'une procédure de nettoyage rigoureux du semoir dès que l'opération de semis est terminée,

Implantation d'une barrière pollinique constituée de 8 rangs de maïs conventionnel et isolement des essais à une distance de 200 mètres de toute autre culture de maïs.

2. Description des méthodes de traitement du site après dissémination.

A la fin de des essais, le matériel végétal non récolté restant sur la parcelle sera détruit par broyage suivi d'un labour.

L'apparition de repousses pendant l'année qui suit fera l'objet d'une surveillance afin d'éliminer toute éventuelle repousse de maïs avant la floraison. Aucune culture de maïs commercial ne sera implantée sur le site.

3. Description des méthodes de traitement après dissémination pour le matériel issu de plantes génétiquement modifiées, y compris les déchets.

Les plantes restant sur le champ et les épis non récoltés seront détruits par broyage puis enfouis dans le sol.

Le matériel végétal récolté pour analyse sera ramené sur une station Syngenta en sacs dûment étiquetés pour stockage pour être ensuite utilisés pour différentes analyses à visée réglementaire.

4. Description des plans et des techniques de surveillance.

La surveillance des sites d'essai sera réalisée au cours des visites régulières faites pour les besoins agronomiques de la culture ainsi que pour réaliser les différentes interventions requises par les besoins expérimentaux.

Les essais feront l'objet d'une surveillance l'année suivant sa récolte, ils seront visités régulièrement afin de surveiller les éventuelles repousses de maïs. Si des repousses étaient trouvées celles-ci seraient éliminées avant floraison.

Aucune culture de maïs commercial ne sera pratiquée sur les sites d'essai l'année suivante.

D'autre part, ces essais font l'objet de contrôles et de visites par les agents assermentés du Service Régional de la Protection des Végétaux en charge de vérifier la conformité de ces essais par rapport aux conditions mentionnées dans la décision d'autorisation.

5. Description des plans d'urgence.

En cas d'urgence les essais peuvent être interrompus par traitement avec un herbicide conventionnel non sélectif du maïs (approprié à l'événement de transformation GA21) ou bien par destruction mécanique.

6. Méthodes et procédures de protection du site.

Les sites d'essais sont situés dans des zones agricoles et soumis aux mêmes risques que les autres cultures. Les pratiques agricoles habituelles seront donc appliquées et aucune méthode et procédure de protection du site n'est envisagée.

H. CONCLUSIONS CONCERNANT LES INCIDENCES POTENTIELLES SUR LA SANTE PUBLIQUE ET L'ENVIRONNEMENT DE LA DISSEMINATION DE PLANTES SUPERIEURES GENETIQUEMENT MODIFIEES (PSGM)

Cette évaluation des risques a été conduite pour identifier et évaluer les effets néfastes potentiels du maïs génétiquement modifié contenant l'événement de transformation GA21 sur la santé humaine et l'environnement. Une évaluation de l'impact environnemental potentiel immédiat et/ou retardé, résultant d'interactions directes et indirectes entre ce maïs et des organismes cibles et non cibles a été pratiquée conformément à l'Annexe II de la Directive 2001/18/EC de l'Union Européenne. Les données scientifiques disponibles obtenues à ce jour ont été utilisées pour l'évaluation des risques.

Il est important de noter que les essais au champ prévus sont des essais de taille réduite destinés à obtenir des informations et du matériel végétal de maïs génétiquement modifié et non génétiquement modifié dans des conditions agronomiques standard, afin de pratiquer des analyses sur les grains et le fourrage. Le maïs génétiquement modifié sera cultivé en respectant les bonnes pratiques d'essai. Pour les essais décrits dans ce dossier, cela signifie:

- La distance des sites d'essai par rapport au champ de maïs le plus proche ne sera pas inférieure à 200m.
- Les essais seront entourés d'une bordure constituée d'au moins huit rangées de plantes de maïs non génétiquement modifié, qui serviront de piège à pollen. Les plantes et épis de cette bordure seront détruits par broyage et enfouissage à la fin de l'essai, et ne seront pas utilisés en tant qu'aliments.
- Pendant la durée des essais, la parcelle sera visitée régulièrement à des fins d'observations et de suivi agronomique (contrôle des insectes nuisibles et les maladies).
- Le grain produit dans les essais sur le terrain sera récolté et enfoui sur place. Certains échantillons seront prélevés pour analyse.
- A la fin des essais, tout matériel végétal restant après la récolte et non nécessaire pour une analyse ultérieure sera incorporé dans le sol, dès que les conditions agronomiques et environnementales le permettent.
- Dans l'éventualité où des épis tomberaient lors de la récolte, les grains resteront dans l'épi et seront probablement tués par le gel lors de l'hiver (Southworth *et al.*,

2000), de sorte que l'apparition de repousses durant la saison suivante est peu probable. Il en est de même pour les semences n'ayant pas germé après le semis et grains issus de la récolte. Toutefois, afin de faciliter l'identification des éventuelles repousses qui seront détruites, aucune culture de maïs commercial ne sera implantée sur les sites d'essai,

Toutes les plantes utilisées dans les essais seront détruites à la fin de l'essai et ne seront pas utilisées en tant qu'aliments pour les êtres humains ou les animaux. Au regard des caractéristiques agronomiques du maïs et de celles de la modification génétique introduite les potentiels effets seront temporaires et limités au site de l'essai.

1. Probabilité que les PSGM deviennent plus persistantes que les plantes parentales ou réceptrices dans les habitats agricoles ou se propagent plus rapidement dans les habitats naturels.

Le maïs est une plante annuelle qui ne peut survivre sans l'intervention humaine (Niebur, 1993). Les grains, qui sont les seules structures de survie, peuvent donner naissance à des repousses dans les zones de culture de maïs mais elles sont aisément contrôlées par les pratiques agricoles actuelles, incluant la culture et l'utilisation d'herbicides non sélectifs.

On ne s'attend pas à ce que la protéine exprimée par le gène *mepsps* dans l'événement GA21 soit de nature à affecter ces caractéristiques agronomiques. Il est peu probable que la tolérance aux herbicides entraîne une persistance accrue, en raison de la sensibilité au gel et de la prédominance de la compétition avec les plantes pérennes. L'événement GA21 est cultivé à visée commerciale aux Etats-Unis et au Canada, sans qu'on n'ait mentionné d'apparition de persistance.

En résumé, la probabilité que les plantes génétiquement modifiées deviennent plus persistantes que les plantes réceptrices ou parentales dans les zones agricoles ou plus envahissantes dans les habitats naturels, suite à ces essais au champ, peut être considérée comme négligeable.

2. Avantages ou inconvénients sélectifs conférés aux PSGM.

Les plantes de maïs GM ont été modifiées pour contenir un gène conférant une tolérance aux herbicides contenant du glyphosate.

L'expression du gène *mepsps* dans les plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 est susceptible de leur donner un avantage de survie, pendant les essais au champ, si les plantes étaient traitées avec des herbicides contenant du glyphosate. Cet effet est l'effet spécifique et voulu de la modification génétique. Toutefois, étant donné que les produits des essais seront récoltés ou incorporés dans le sol et que toute repousse sera détruite, il n'en résultera aucun avantage sélectif dans les conditions de ces essais.

3. Possibilité de transfert de gènes aux mêmes espèces ou à d'autres espèces végétales sexuellement compatibles dans les conditions de plantation du PSGM et avantages ou inconvénients sélectifs conférés à ces espèces végétales.

Le maïs est une plante monoïque, les fleurs mâles sont séparées des fleurs femelles ce qui favorise les fécondations croisées par le pollen transporté par le vent. Cependant la dispersion du pollen de maïs est limitée par sa grande taille (0,1 mm) et sa vitesse rapide de dépôt (Raynor *et al.*, 1972). Sa durée de vie est relativement brève (Coe *et al.*, 1988).

Il n'existe pas de maïs sauvage en Europe, de sorte que le risque de transfert de gènes à des plantes sauvages sexuellement compatibles au sein de l'Union Européenne est égal à zéro. Telle fut la conclusion du rapport de l'Agence européenne pour l'Environnement, sur la circulation des gènes (EEA 2002). D'après ce rapport 98% du pollen de maïs est déposé dans les 25m de la bordure du champ.

La dissémination du pollen à d'autres plantes de maïs cultivées pourrait survenir et ceci pourrait entraîner une pollinisation croisée.

La distance d'isolement pratiquée pour les essais faisant l'objet de cette notification (200m de toute culture de maïs commercial) ainsi que la taille réduite des essais et la mise en place de « piège à pollen » (8 rangs de maïs non génétiquement modifiés autour des essais pouvant être fécondé par du pollen émis par les plantes génétiquement modifiées) réduiront encore l'éventuelle possibilité de transfert de gènes.

D'autre part, les lieux d'essai feront l'objet d'une surveillance l'année suivant la récolte et les repousses de maïs susceptibles d'apparaître seront détruites avant la floraison, empêchant ainsi un éventuel transfert de gènes.

Dans l'éventualité improbable d'une pollinisation croisée entraînant la présence de repousses dans les champs voisins, celles-ci seraient contrôlées par des facteurs environnementaux ou des pratiques agricoles, incluant la culture et l'utilisation d'autres herbicides non sélectifs.

4. Incidences immédiates et/ou différées que les interactions directes ou indirectes entre les PSGM et les organismes cibles, tels que prédateurs, parasitoïdes et agents pathogènes peuvent avoir sur l'environnement (le cas échéant).

L'événement de transformation GA21 est un maïs génétiquement modifié, qui exprime une enzyme EPSPS modifiée du maïs (mEPSPS). L'EPSPS est une enzyme clé dans la voie de l'acide shikimique, impliquée dans la biosynthèse des acides aminés aromatiques et elle est extrêmement sensible aux herbicides contenant du glyphosate. Les plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 produisent donc une enzyme EPSPS mutée, qui leur confère une tolérance aux herbicides contenant du glyphosate. La protéine introduite n'est pas destinée à cibler des organismes spécifiques et on ne peut dès lors décrire d'organismes cibles.

5. Incidences immédiates et/ou différées que les interactions directes ou indirectes entre le PSGM et des organismes non-cibles (compte tenu également des interactions d'organismes avec les organismes cibles), notamment les incidences sur les niveaux de population des concurrents, herbivores, symbiotes (le cas échéant), parasites et agents pathogènes.

Les plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 expriment la protéine mEPSPS, ce qui confère une tolérance aux herbicides contenant du glyphosate. L'organisme receveur, le maïs, est connu pour la sécurité de son utilisation dans le monde entier.

Aucune des séquences de gènes introduites dans l'événement GA21 ni leurs donneurs ne sont connues comme pathogènes pour les êtres humains.

La protéine mEPSPS dérivée de *Zea mays*, présente une homologie de séquence supérieure à 99.3% par rapport à l'EPSPS native du maïs et est exprimée à des taux extrêmement faibles dans la plante. Les protéines EPSPS sont omniprésentes et existent naturellement dans les aliments dérivés des plantes et les microorganismes. Ainsi, l'interaction avec les organismes non cibles sur le terrain est susceptible d'être identique à celle du maïs non modifié.

Les organismes non cibles qui peuvent interagir avec les plantes étudiées sont les animaux se nourrissant de la plante ou des tissus des plantes, ou les insectes herbivores qui peuvent visiter la plante. Cette demande d'autorisation d'essai au champ est destinée à des essais expérimentaux de taille réduite; dès lors, l'exposition à des organismes non cibles sera faible et transitoire. En outre, les produits de ces essais ne seront pas utilisés pour l'alimentation de l'être humain ni des animaux.

Un grand nombre d'études ont été faites et, à ce jour, le transfert de gènes intacts de plantes transgéniques à des micro-organismes du sol dans les systèmes naturels (O'Callaghan et Glare, 2001; Nielsen *et al.*, 1997) n'a pas été mentionné. Dès lors, il est hautement improbable qu'un transfert de gènes aux micro-organismes se produise suite à ces essais au champ de taille réduite.

Donc, les effets potentiels des plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 sur les organismes non cibles seront négligeables.

En résumé, aucun impact environnemental immédiat et/ou retardé, résultant d'interactions directes ou indirectes entre les plantes contenant l'événement de transformation GA21 et les organismes non cibles dans le cadre de ces essais au champ n'est attendu.

6. Effets immédiats et/ou différés éventuels sur la santé humaine résultant des interactions directes ou indirectes potentielles entre les PSGM et les personnes travaillant ou entrant en contact avec la/les PSGM disséminée(s) ou se trouvant à proximité.

Les études sont des essais de recherche à petite échelle, et aucun matériel végétal ne sera utilisé en tant qu'aliment pour les êtres humains ni les animaux. Dès lors, aucun effet direct sur la santé des êtres humains n'est attendu. Cette hypothèse est étayée par la bibliographie et les études de sécurité qui ont été conduites:

- L'organisme receveur, le maïs, est connu pour la sécurité de son utilisation dans le monde entier.
- Aucune des séquences géniques ou de leurs donneurs n'est connue comme pathogène pour les humains et aucune séquence pathogène n'a été introduite.
- La protéine mEPSPS dérive de *Zea mays* et présente au moins 99.3%

d'homologie avec la protéine EPSPS du maïs. Les protéines EPSPS sont omniprésentes dans la nature et elles sont présentes dans les aliments dérivés de plantes et de microorganismes.

- La protéine mEPSPS est exprimée à des taux extrêmement faibles dans la plante.
- Une étude de toxicité orale aiguë n'a pas montré d'indications de toxicité aiguë chez des souris ayant reçu 2000mg/kg de protéine purifiée de mEPSPS.
- La protéine mEPSPS n'a pas d'homologie significative au niveau des acides aminés avec les toxines protéiques connues pour les mammifères ou les allergènes, et est facilement dégradée dans les essais de digestibilité *in vitro*.
- Des études comparant la composition de plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 et de plantes de maïs non génétiquement modifié ont été réalisées. Les taux de tous les composants évalués étaient compris dans les limites des valeurs rapportées dans la littérature pour le maïs, excepté en ce qui concerne l'inositol, pour lequel les valeurs de trois entrées (transgéniques et non transgéniques) étaient légèrement supérieures aux valeurs maximales rapportées dans la littérature. Ceci amène à conclure que ce maïs est substantiellement équivalent au maïs conventionnel.
- Des études comparant les caractéristiques agronomiques de plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21 et de plantes de maïs non génétiquement modifié ont été menées. En analysant les résultats "par lieu" ou "par hybride", aucune tendance n'a pu se détacher, qui indiquerait de façon consistante des différences dues à la modification génétique. Toutes les études mènent à la conclusion que ce maïs est substantiellement équivalent au maïs conventionnel.

En résumé, les effets immédiats et/ou retardés sur la santé des êtres humains, résultant d'interactions potentielles directes et indirectes des plantes génétiquement modifiées décrites dans ce dossier avec les personnes travaillant ou entrant en contact direct avec ces plantes, ou dans le voisinage de l'étude, peuvent être considérés comme négligeables.

7. Effets immédiats et/ou différés éventuels sur la santé des animaux et conséquences pour la chaîne alimentaire résultant de la consommation de l'OGM ou de tout produit dérivé s'il est destiné à être utilisé en tant qu'aliment pour animaux.

Les essais sont des essais de recherche à petite échelle, et aucun produit des essais sur le terrain ne sera utilisé comme aliment pour l'homme ou les animaux.

8. Incidences immédiates et/ou différées sur les processus biogéochimiques résultant des interactions directes et indirectes potentielles de l'OGM et des organismes cibles et non-cibles à proximité du/des OGM disséminé(s).

Les effets sur les processus biogéochimiques résultant des interactions avec les organismes non cible ne doivent pas différer de ceux résultants de la culture de maïs non génétiquement modifié.

Les effets sur les processus bio-géochimiques, résultant d'interactions avec des organismes cibles sont également improbables, étant donné qu'on n'a pas identifié d'organismes cibles. Il n'y a aucune indication en faveur d'une altération de la dégradation

des protéines ou de la décomposition foliaire dans les plantes de maïs contenant l'événement de transformation GA21.

- 9. Incidences immédiates et/ou différées, directes ou indirectes, que les techniques spécifiques de culture, de gestion et de récolte utilisées pour la PSGM peuvent avoir sur l'environnement lorsqu'elles sont différentes de celles utilisées pour des plantes supérieures non génétiquement modifiées.**

Les techniques de culture et de gestion utilisées pour le maïs dans ces essais sont identiques à celles utilisées dans les essais classiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bevan M.**, (1984). Binary *Agrobacterium* vectors for plant transformation. *Nucleic acids Res.*, **12**:8711-8721.
- CFIA** (2003). (Canadian Food Inspection Agency. Downloaded August 2003). "The Biology of Zea mays L. (Corn/Maize)" – a companion document to the assessment criteria for determining environmental safety of plants with novel traits.
Regulatory Directive Dir94-11: <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dir/dir9411e.shtml>
- Coe, E H J, Nueffer, M G and Hoisington, D A (1988).**The Genetics of Maize. In *Corn and Corn Improvement. Agronomy Monographs*. E. G.F Sprague and J.W. Dudley. Wisconsin, American Society of Agronomy: Madison,. **18**: 81-236.
- EEA** (2002). "Maize . Genetically Modified Organisms (GMO's): The significance of gene flow through pollen transfer. A review and interpretation of published literature and recent/current research from the ESF ' Assessing the Impact of GM plants' AIGM programme". A. E. K. a. S. J. . Environmental Issue Report. **28**: 38-42
- FAO** (2005). Downloaded July 2005. FAOSTAT Data 2005. <http://apps.fao.org/default.htm>
- Herrero, M P and Johnson, R R (1980).** High temperature stress and pollen viability of maize. *Crop Science* **20**: 796-800.
- Hoekstra, F A, Crowe, L M and Crowe, J H (1989).** Differential desiccation sensitivity of maize and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose content. *Plant, Cell and Envir.* **12**: 83-91.
- Jones, M Dand Newel, L C (1948).** Longevity of pollen and stigmas of grasses: buffalograss, *Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm., and maize, *Zea mays* L. *J. Am. Soc. Agr.* **40**: 195-204.
- Lebrun, M., Leroux, B. and Sailland, A.** (1996) Chimeric gene for the transformation of plants. U.S. patent number 5,510,471.
- Lebrun, M., Sailland, A., Freyssinet, G., Degryse, E.** (2003) Mutated 5-enoylpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. Bayer CropScience S.A. (Lyons, FR) Patent # 6,566,587.
- McElroy, D., Zhang, W., Cao, J. and Wu, R.** (1990). Isolation of an efficient actin promoter for use in rice transformation. *Plant Cell*, **2**(2): 163-171.
- Niebur, W S. (1993).** Traditional Crop Breeding Practices: An Historical Review to Serve as a Baseline for Assessing the Role of Modern Biotechnology., OECD: 113-121.
- Nielsen, K M, Gebhard, F, Smalla, K, Bones, A and vanElsas, J (1997).** Evaluation of Possible Horizontal Gene Transfer from Transgenic Plants to the Soil Bacterium *Acinetobacter Calcoaceticus* Bd413. *Theoretical and Applied Genetics* **95**Oct(N-5-6): 815-821.
- O'Callaghan, M and Glare, T R (2001).** Impacts of Tansgenic Plants and Micro-Organisms on Soil Biota. *New Zealand Plant Protection* **54**: 105-110.
- OECD** (2003). "Consensus document on the biology Zea mays subsp. mays (Maize)." Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (Number 27)

Raynor, G, Ogden, E and Hayes, J (1972). Dispersion and Deposition of Corn Pollen from Experimental Sources. *Agronomy Journal* **64**: 420 - 427.

Rebourg, C., M. Chastanet, B. Gouesnard, C. Welcker, P. Dubreuil and A. Charcosset (2003). "Maize introduction into Europe: the history reviewed in the light of molecular data." *Theor Appli Genet.* **106**: 895-903

Russell, W A and Hallauer, A R (1980). Maize. In "Hybridization of crop plants". Ed. Fehr and Hadley. American Society of Agronomy and Crop Science of America, Publishers, Madison, Wisconsin, USA. pp299-312.

Short, J.M., Fernandez, J.M., Sorge, J.A. and Huse, W.D. (1998). λ ZAP: a bacteriophage λ expression vector with *in vivo* excision properties. *Nucleic acids Res.*, **16**:7583-7600

Southworth, J, Randolpha, J, Habeckb, M, Doeringb, O, Pfeiferb, R, Raoc, D and Johnstona, J (2000). Consequences of Future Climate Change and Changing Climate Variability on Maize Yields in the Midwestern United States. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **82**(1-3): 139-158.

Spencer, T.M., Mumm, R., Gwyn, J., McElroy D and Stephens, M. (1998a) Glyphosate resistant maize lines. Patent application WO 9844140, published 8 October 1998 (pages 75-77).

Spencer, T.M., Mumm, R., Gwyn, J., McElroy D and Stephens, M. (1998b) Glyphosate resistant maize lines. Patent application WO 9844140, published 8 October 1998 (cover page).

Spencer, T.M., Mumm, R., Gwyn, J., McElroy D and Stephens, M. (1998c) Glyphosate resistant maize lines. Patent application WO 9844140, published 8 October 1998 (page 44).

Spencer, T.M., Mumm, R., Gwyn, J. (2000) Glyphosate resistant maize lines. Official Gazette of the United States Patent and Trademark Office Patents. 1232(3) #6,040,497.

Sutcliffe (1978). Nucleotide sequences of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **75**: 3737-3741.

Yanisch-Perron, C, Viera, J and Messing, J (1985). Improved M13 Phage Cloning Vectors and Host Strains; Nucleotide Sequence of M13mp18 and Puc19 Vectors. *Gene* **33**: 103-109.

Zhong H, Sun B, Warkentin D, Zhang S, Wu R, Wu T, Sticklen MB (1996). The competence of maize shoot meristems for integration transformation and inherited expression of transgenes. *Plant Physiol* **110**: 1097-1107.