

CSNB - AVIS TECHNIQUE PRÉALABLE

I. Identification de l'OGM

Désignation de l'OGM: niébé Bt

Structure demandeuse: INERA

Espèce: *Vigna unguiculata* (L.) Walp. ssp. *unguiculata* var *unguiculata* – niébé.

Caractéristiques insérées: résistance à *Maruca vitrata* Fab.

Méthode de modification: Transformation par l'*Agrobacterium*

Utilisation proposée: Importation de semences et mise en œuvre des essais en champ confiné

II. Information générale

L'INERA a soumis à l'ANB une demande d'autorisation relative à l'importation de semences de la variété de niébé transgénique (niébé Bt) et la mise en œuvre des essais en champ confiné au Burkina Faso. Le niébé Bt est résistant à *Maruca vitrata*, un des principaux déprédateurs du niébé cultivé et du niébé sauvage.

Le niébé est une des principales légumineuses alimentaires mondiales. Il est cultivé sur plus de 9 millions d'hectares, dans toutes les zones tropicales et dans le bassin méditerranéen. Sa production dépasse 2,5 millions de tonnes de graines et provient pour les deux tiers de l'Afrique. Dans certains pays tropicaux, le niébé fournit plus de la moitié des protéines consommées et joue un rôle clé dans l'alimentation. Cependant, le niébé est attaqué par de nombreux insectes. Les principaux sont les pucerons, les thrips, les punaises suceuses des gousses, les foreurs des gousses (*Maruca* et *Cydia*), les coléoptères (Cuculionidae et Bruchidae), ainsi que les diptères (Agromizidae).

Le niébé Bt a été génétiquement modifié à travers une transformation par l'*Agrobacterium*, avec le vecteur binaire *Agrobacterium* ou plasmide ADN-T (pMB4). Il exprime le gène Cry1Ab dans ses tissus et c'est la toxine Bt présente dans les tissus de la plante qui lui confère une résistance à *Maruca*.

Deux essais confinés en champ ont été réalisés sur le niébé Bt à Porto Rico en 2008 et en 2009, et un essai en champ confiné a été réalisé au Nigéria en 2009. Des essais d'infestation des fleurs et des feuilles provenant du niébé Bt en culture avec des larves d'une population locale de *Maruca vitrata*, ont montré un très bon niveau d'efficacité des différentes lignées transformées.

Les expérimentations présentes prévues sur le niébé Bt ont pour objectif global de contribuer à atténuer la crise alimentaire par l'amélioration de la productivité du niébé Bt à travers la diffusion de variétés de niébé Bt résistant à *Maruca vitrata*, un des déprédateurs du niébé cultivé et du niébé sauvage.

III. Description de l'OGM

Le niébé Bt a été génétiquement modifié à travers une transformation par l'*Agrobactérium*, avec le vecteur binaire *Agrobactérium* ou plasmide ADN-T (pMB4). La séquence du vecteur est dérivée du vecteur binaire pArt27, qui contient les extrémités gauche et droite pour une transformation par l'*Agrobactérium*. Le niébé Bt transformé exprime le gène Cry1Ab dans ses tissus et la toxine Bt présente dans les tissus de la plante lui confère une résistance à *Maruca*.

Le gène Cry1Ab (1869 bp) est dérivé de la souche *kurstaki* HD1 de *Bacillus thuringiensis*. La séquence du gène a été modifiée pour obtenir une meilleure expression dans la plante : les signaux de polyadénylation ont été enlevés, le pourcentage d'AT a été abaissé, les séquences déstabilisantes ont été enlevées. Le promoteur du gène Cry1Ab (1725 bp) provient du gène de la petite sous-unité de la Rubisco d'*Arabidopsis thaliana*. Il est ajouté à l'extrémité 5' de la région codant pour la protéine Cry1Ab. Le signal de fin de transcription (485 bp), à l'extrémité 3' de la région codant pour la protéine Cry1Ab, provient du gène de la petite sous-unité de la Rubisco de *Nicotiana tabacum*. Cette séquence contient un seul signal de fin de transcription. Le marqueur de sélection est nptII. La région codant pour la protéine neomycine phosphotransférase II (971 bp) est dérivée du transposon Tn5 d'*Escherichia coli* et inclut l'intron de la catalase I (184 bp) de *Ricinus communis* pour réduire l'expression du gène de la bactérie. Le promoteur du gène nptII (531 bp) provient du virus "Subterranean clover stunt". Il est ajouté à l'extrémité 5' de la partie codant pour la protéine nptII. Le signal de fin de transcription (138 bp), à l'extrémité 3' de la région codant pour la protéine nptII, provient du virus "Subterranean clover stunt". Cette séquence contient un seul signal de fin de transcription.

L'analyse en "Southern Blot" montre que les différentes lignées transformées ont un seul gène. Ce gène est dominant et on retrouve un ratio Mendélien 3 :1 dans la génération F2 du croisement lignée transformée par lignée non transformée. Cette même analyse "Southern Blot" a été utilisée pour tester la présence de séquences provenant du vecteur (hors des limites

de l'ADN-T). Aucune séquence du vecteur (hors ADN-T) n'a été décelée dans les différentes lignées transformées.

IV. Les protéines exprimées (gènes exprimés)

La protéine Cry1Ab, naturellement, provient de *Bacillus thuringiensis*, un bacille à Gram positif, aérobic et sporulé qui est présent dans pratiquement tous les sols. Les protéines cristallisées (telle que la protéine Cry1Ab) exercent leurs effets sur l'hôte en lysant les cellules épithéliales de l'intestin moyen et en provoquant la paralysie du tube digestif. L'insecte infecté cesse de se nourrir et finit par mourir s'il ne parvient pas à se rétablir. Une fois ingérés, les cristaux se dissolvent dans l'environnement alcalin de l'intestin moyen de l'hôte. La protéolyse de la protéine cristallisée solubilisée ou protoxine produit le fragment toxique (toxine). Une fois liée à des récepteurs spécifiques présents sur les membranes des cellules épithéliales de l'intestin moyen, la toxine induit la formation de pores dans la membrane des cellules épithéliales et, ce faisant, provoque la mort des cellules et de la larve infectée (Joung and Côté, 2000).

Les différentes lignées de niébé Bt transformées ont des degrés variables d'expression de la protéine Bt. Le gène est exprimé dans les tissus végétatifs, les sépales, les pétales, les anthères, les tissus de la gousse et les jeunes graines immatures.

V. Les caractéristiques agronomiques

La caractéristique intéressante du niébé Bt par rapport aux autres variétés de niébé est sa résistance à *Maruca vitrata* Fab. La modification génétique ne vise pas à modifier les caractéristiques allélopathiques du niébé, elle ne modifie aussi ni la dormance, ni la viabilité ou la germination des graines. Elle ne vise à modifier ni la dispersion des pollens, ni la dispersion des graines, ni la multiplication végétative. On ne prévoit pas aussi la survenue d'effets génétiques secondaires indésirables. L'expérimentation en champ confiné permettra d'évaluer les performances agronomiques du niébé Bt (production en grain etc.).

VI. Les aspects environnementaux – Sécurité environnementale

Pour le niébé Bt (génétiquement modifié), sa viabilité dans des environnements ouverts est limitée ; en effet, il s'agit d'une plante cultivée annuelle ne survivant pas à la saison sèche.

La toxine Bt dans les tissus du niébé Bt est spécifique et n'est toxique que pour les insectes lépidoptères. Elle n'est pas toxique pour les pollinisateurs (hyménoptères), les mammifères (l'homme inclus), et les oiseaux. Par ailleurs, l'OGM n'a pas été signalé comme source d'allergène affectant les humains.

La transformation génétique opérée dans le niébé Bt ne confère pas des avantages de compétition ou de sélection par rapport aux autres espèces; le seul avantage conféré est la résistance à *Maruca* et donc, seule la présence (pression de sélection) de *Maruca* peut conférer un avantage sélectif aux lignées transformées.

Pour ce qui est du risque de transfert de gènes de l'OGM aux autres plantes, le caractère génétique introduit est stable dans les différentes lignées transformées. Une analyse PCR (Polymerase Chain Reaction) des descendances a confirmé que le caractère se transmet normalement dans la descendance après autofécondation des fleurs. Certaines formes spontanées pérennes, ailleurs en Afrique, sont allogames mais au Burkina Faso, les formes sauvages sont principalement autogames. Une étude non publiée sur des populations sauvages échantillonnées en 2003 montre un taux de croisement moyen de 3,5% avec un plus haut taux de 9% dans une population près de Dionkoudougou. Ces taux diminuent fortement dès lors que les différents génotypes (cultivés et sauvages) ne sont pas mélangés (comme dans une population naturelle) mais placés dans des lignes alternées ou des parcelles adjacentes. Les taux de croisements sont alors inférieurs à 1%. Les fleurs de niébé sont visitées par un grand nombre d'insectes, mais seules des abeilles de grandes tailles, appartenant au genre *Xylocopa* ou à la famille des Megachilidae, sont capables de faire bouger les pièces florales et de transporter du pollen. De ce fait, le pollen peut théoriquement être transporté sur plusieurs km, mais la très grande majorité des transports de pollen se font dans un périmètre réduit. Les études utilisant, des plantes sources et des plantes cibles n'ont pas permis de déceler des transports de pollen sur plus de 30 m (Fatokun et Ng, 2007). Par ailleurs, même si chaque fleur de niébé est visitée au moins une fois par un pollinisateur, l'autofécondation qui commence pendant la nuit conduit aux faibles taux de croisement observés.

Dans l'expérimentation prévue, le dispositif expérimental sera entouré par des rangées concentriques de plantes non transgéniques en bordure. Le protocole expérimental prévoit aussi de n'avoir aucune parcelle de niébé à moins de 100 m de l'essai. Tout ceci permettra de limiter le transfert de gène au milieu extérieur.

Les graines constituent une autre possibilité de mouvement des gènes. A ce titre, l'expérimentation prévoit après la récolte, de stimuler la germination des graines éventuellement tombées au sol par une irrigation du terrain ; les éventuelles plantules seront

détruites (incinérées et/ou enfouies en présence d'un huissier de justice et de représentants de l'ANB).

L'utilisation des plantes OGM résistants aux insectes en lieu et place des insecticides a d'autres répercussions positives telles que la réduction des dépenses (coûts de production) en Agriculture, la diminution de la pollution chimique de l'environnement et la diminution des risques d'intoxication des travailleurs agricoles.

VII. Les aspects liés à la santé humaine et animale

Les tests de toxicité n'ont pas encore été réalisés sur du niébé exprimant la protéine Cry1Ab. Les protéines produites par les deux gènes (Cry1Ab et nptII) impliqués dans la transformation ont, cependant, déjà été caractérisées dans d'autres plantes génétiquement transformées (maïs par exemple) et ont été déclarées sans aucun danger pour l'environnement, l'alimentation animale et humaine par les agences de régulation d'un certain nombre de pays de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques). Ces deux protéines n'altèrent pas les qualités nutritionnelles et la physiologie de la plante transformée. Cet OGM n'a pas été signalé comme source d'allergène affectant les humains. L'utilisation du niébé Bt aura un effet indirect sur la santé humaine et animale (ex: réduction de l'utilisation des insecticides, réduisant ainsi les intoxications possibles des travailleurs agricoles)

VIII. Mesures sécuritaires pour l'expérimentation

Les expérimentations se dérouleront à la station de Kamboinsé en zone Soudano-sahélienne et à la station de Farako-Bâ en zone Soudanienne. Le site de l'essai en champ sera sécurisé par une clôture grillagée de 1,80 m de haut avec un portail cadenassé pour éviter que le matériel modifié ne soit prélevé par la faune et l'homme. Pendant la durée de l'essai, le terrain sera surveillé 24h/24 par des gardes spécialement formé pour cette tâche. Les visites guidées seront réglementées sous la supervision d'une équipe de chercheurs et de techniciens.

L'essai en champ aura une taille d'un ha au total. Il portera sur 880 plantes : 20 plantes par lignée, 10 lignées transformées et 10 lignées non transformées, en 4 blocs, le tout entouré par des rangées concentriques de plantes non transgéniques en bordure. Le protocole expérimental prévoit aussi de n'avoir aucune parcelle de niébé à moins de 100 m de l'essai.

Après la récolte, on stimulera la germination des graines éventuellement tombées au sol par une irrigation du terrain ; les éventuelles plantules seront détruites (incinérées et/ou enfouies en présence d'un huissier de justice et de représentants de l'ANB).

IX. Conclusion

L'ANB, après analyse du rapport du Comité Scientifique National de Biosécurité (CSNB) du Burkina Faso sur la biosécurité du niébé transgénique (niébé Bt), rapport de la première session ordinaire 2010 du CSNB, conclut qu'il s'agit d'un nouvel organisme génétiquement modifié, de l'absence de documents de référence des tests précédents sur le niébé Bt, de l'absence de précisions de certaines exigences du formulaire de demande et de la fragilité du dispositif de confinement. Le CSNB, à travers les arrêtés numéro 2010-412 et 2010-413 /MESSRS/SG/ANB du 15 Novembre 2010, approuve l'importation de 300 grammes de semences de douze (12) lignées de niébé transgénique (709A, 710B, 711B2, 708A, 808B1, 162B2, 716F, 717B, 715A, 152D, 155A, 720D) résistant à *Maruca vitrata* Fab. et, la mise en œuvre des essais pour la campagne agricole 2011-2012, dans une serre de biosécurité de niveau 2 (en lieu et place de l'expérimentation en champ confiné, jugée insuffisamment sécurisée), dans les conditions suivantes :

- (i) L'INERA est tenu de fournir à l'Agence Nationale de Biosécurité (ANB) dans un délai de deux (2) semaines à compter de la date de réception des arrêtés ci-dessus :
 - les informations et/ou documents complémentaires sur l'innocuité du gène Cry1Ab
 - les résultats des premiers tests sur le niébé Bt à Porto Rico et au Nigéria
 - les seuils de toxicité
 - le schéma de l'essai
 - le plan d'intervention et les mesures d'urgence qui doivent être adaptés au dispositif présenté.
- (ii) L'INERA est tenu de prendre toutes les mesures nécessaires pour garantir la sécurité de l'ensemble des matériels faisant l'objet de mouvements transfrontières conformément aux règles et normes nationales et internationales correspondantes. Il doit en particulier :
 - Notifier à l'ANB, au moins sept (07) jours à l'avance, le premier mouvement transfrontière de semences ; cette notification doit se faire par écrit et doit comporter les informations suivantes : la nature des semences,

la date d'envoi, la date d'arrivée présumée sur le territoire national, le moyen de transport et l'adresse complète de la compagnie de transport, l'adresse complète de la personne morale ou physique chargée de la réception des colis et un plan de gestion d'urgence en cas de dissémination involontaire incluant le coût estimatif de l'opération ;

- Importer les semences en utilisant des contenants parfaitement étanches et indiquer sur le document accompagnant le colis et si possible sur le contenant, la mention : « ce colis contient des semences transgénique et est destiné à (adresse du destinataire) » ;
 - Présenter le colis au service des douanes à l'entrée ;
 - S'acquitter des formalités douanières ;
 - Ne retirer le colis que lorsque l'autorisation d'enlèvement est accordée par le service des douanes ;
 - S'assurer que les mesures nécessaires sont prises pour prévenir toute dissémination involontaire durant les opérations de déchargement et de transport jusqu'au destinataire final ;
 - Respecter toutes autres conditions prescrites pour développer, utiliser, disséminer les OGM sur tout le territoire Burkinabè ;
 - Se conformer à toute autre législation applicable et réglementaire dans le domaine des importations au Burkina Faso.
- (iii) L'INERA est tenu de s'acquitter des frais de contrôle et d'inspection des opérations auprès de l'ANB avant toute opération d'importation des semences. Il est aussi tenu de s'acquitter des frais de contrôle et d'inspection des sites d'expérimentation auprès de l'ANB avant le début des semis.
- (iv) L'INERA est soumis au respect des mesures de sécurité nécessaires conformément aux éléments ci-dessous :
- Présentation des résultats des études comparatives nutritionnelles et de toxicité par rapport au *Codex Alimentarius* (toxicité chronique, seuil de toxicité, espèces et organes concernés) ;
 - Respect du dispositif expérimental défini ;
 - Notification à l'ANB de toute modification intervenant au cours de la mise en œuvre du protocole expérimental ;

- Notification à l'ANB, au moins quatorze (14) jours à l'avance, des dates de semis et de récolte ;
- Collecte des données relatives à la sécurité alimentaire ;
- Utilisation de contenants étanches lors des opérations de récolte, de transport et de stockage des semences ;
- Destruction par brûlage en présence d'huissier et de représentant de l'ANB des semences et des résidus de récolte ;
- Présentation des résultats de l'expérimentation réalisée sur le niébé Bt résistant au *Maruca vitrata* Fab.

L'Agence Nationale de Biosécurité (ANB) devra s'assurer du respect de l'avis technique, notamment procéder périodiquement au contrôle et à l'inspection des dispositifs de sécurité ainsi qu'au suivi de l'évaluation des impacts environnementaux tout au long de la durée de l'expérimentation.

Références bibliographiques

Fatokun CA, Ng Q, 2007 - Outcrossing in cowpea. J. Food Agric. Environ. 5-3/4: 334-338.

Joung K. and Côté J. C., 2000. Une analyse des incidences environnementales de l'insecticide microbien *Bacillus thuringiensis*. Bulletin technique no. 29. Agriculture et Agroalimentaire Canada.