



Pêches et Océans
Canada

Fisheries and Oceans
Canada

Sciences des écosystèmes
et des océans

Ecosystems and
Oceans Science

Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS)

Document de recherche 2021/013

Région de la capitale nationale

Évaluation des risques pour l'environnement posés par le danio GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD} : un poisson d'ornement transgénique importé au Canada pour le commerce des animaux domestiques

Sandra Noble Brzezinski, Rosalind Leggatt, Neville Johnson et Colin McGowan

Pêches et Océans Canada
Sciences de l'aquaculture, de la biotechnologie et de la santé des animaux aquatiques
200, rue Kent
Ottawa (Ontario) K1A 0E6

Avant-propos

La présente série documente les fondements scientifiques des évaluations des ressources et des écosystèmes aquatiques du Canada. Elle traite des problèmes courants selon les échéanciers dictés. Les documents qu'elle contient ne doivent pas être considérés comme des énoncés définitifs sur les sujets traités, mais plutôt comme des rapports d'étape sur les études en cours.

Publié par :

Pêches et Océans Canada
Secrétariat canadien de consultation scientifique
200, rue Kent
Ottawa (Ontario) K1A 0E6

[http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/
csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca](http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca)



© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, 2021
ISSN 2292-4272

La présente publication doit être citée comme suit :

Noble Brzezinski, S., Leggatt, R., Johnson, N., et McGowan, C. 2021. Évaluation des risques pour l'environnement posés par le danio Glofish^{MD} Sunburst Orange^{MD} : un poisson d'ornement transgénique importé au Canada pour le commerce des animaux domestiques. Secr. can. de consul. du MPO. Avis. de rech. 2021/013. viii + 39 p.

Also available in English :

Noble Brzezinski, S., Leggatt, R., Johnson, N., and McGowan, C. 2021. Environmental Risk Assessment of the Glofish[®] Sunburst Orange[®] Danio: a Transgenic Ornamental Fish imported to Canada for sale in the pet trade. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2021/013. viii + 35 p.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	V
LISTE DES SIGLES.....	V
GLOSSAIRE.....	VI
RÉSUMÉ.....	VIII
SOMMAIRE.....	1
RENSEIGNEMENTS DE BASE.....	1
L'ORGANISME DÉCLARÉ.....	1
ÉVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT.....	2
Exposition.....	2
Danger.....	2
CONCLUSIONS RELATIVES AUX RISQUES.....	3
PARTIE 1 : FORMULATION DU PROBLÈME.....	3
1.1. OBJET DE LA PARTIE 1.....	3
1.2. CONTEXTE JURIDIQUE, CADRE D'ÉVALUATION DES RISQUES ET PRISE DE DÉCISION RÉGLEMENTAIRE.....	3
1.3. CARACTÉRISATION DE YZ2018.....	4
1.3.1. Caractérisation moléculaire.....	4
1.3.2. Caractérisation phénotypique.....	6
1.4. CARACTÉRISATION DES ESPÈCES DE COMPARAISON.....	8
1.4.1. Statut taxonomique.....	8
1.4.2. Aire de répartition.....	9
1.4.3. Habitat.....	9
1.4.4. Tolérances physiologiques.....	9
1.4.5. Morphologie, cycle de vie et croissance.....	10
1.4.6. Bagage génétique.....	12
1.4.7. Caractère envahissant.....	13
1.4.8. Interactions trophiques (régime alimentaire, proies, concurrents, prédateurs).....	13
1.5. CARACTÉRISATION DU MILIEU RÉCEPTEUR POTENTIEL.....	14
1.6. SOMMAIRE.....	14
PARTIE 2 : ÉVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT.....	15
2.1. OBJET DE LA PARTIE 2.....	15
2.2. ÉVALUATION DE L'EXPOSITION.....	15
2.2.1. Probabilité de rejet.....	16
2.2.2. Probabilité de survie.....	17
2.2.3. Probabilité de reproduction.....	19
2.2.4. Probabilité de prolifération et de dissémination.....	20
2.2.5. Conclusions.....	20

2.3. ÉVALUATION DES DANGERS.....	21
2.3.1. Dangers potentiels liés à la toxicité pour l'environnement.....	23
2.3.2. Dangers potentiels liés à la transmission horizontale de gènes	24
2.3.3. Dangers potentiels liés aux interactions avec d'autres organismes	24
2.3.4. Dangers potentiels liés à l'hybridation avec des espèces indigènes	27
2.3.5. Dangers potentiels en tant que vecteur de maladies	27
2.3.6 Dangers potentiels pour le cycle biogéochimique	28
2.3.7. Dangers potentiels pour l'habitat	29
2.3.8. Dangers potentiels pour la diversité biologique.....	29
2.3.9. Conclusions.....	29
2.4. ÉVALUATION DES RISQUES	30
2.4.1. Conclusion de l'évaluation des risques posés par l'YZ2018.....	31
2.5. SOMMAIRE ET CONCLUSIONS	32
RÉFÉRENCES	33

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Variantes de <i>Danio rerio</i> disponibles dans le commerce des poissons d'ornement à l'échelle mondiale (a, b) et variante transgénique déclarée uniquement disponible aux États-Unis (c). Poisson-zèbre non transgénique (a), poisson-zèbre doré (b), le danio GloFish ^{MD} Sunburst Orange ^{MD} (c) (images de : (a) www.petsmart.ca; (b) MPO; (c) www.glofish.com).....	4
Figure 1.2 Tirée de Ribas et Piferrer (2014). Cycle vital du poisson-zèbre élevé en laboratoire. nhaf = nombre d'heures après la fécondation; njaf = nombre de jours après la fécondation.	12
Figure 2.1 : Survie et changements d'activité et de niveau d'alimentaire chez la variété dorée non transgénique lorsque la température est abaissée progressivement de 20 °C à un rythme de 1 °C par jour (40 poissons-zèbres, <i>Danio rerio</i> , répartis dans deux réservoirs). Figure modifiée à partir de Leggatt et al. 2018b.....	18
Figure 2.2 : Survie à une exposition graduelle au froid de trois lignées de poissons-zèbres (<i>Danio rerio</i>) transgéniques (y1, mi2001, zp4) à la protéine verte fluorescente et leur lignée de progéniteurs non transgéniques (AB). La température a été abaissée de 28 à 12 °C à un rythme d'environ 1 °C par jour, puis de 12 à 5,1 °C à un rythme d'environ 0,1 °C par jour (80 poissons-zèbres par lignée, répartis dans quatre réservoirs). Figure modifiée à partir de Leggatt et al. 2018b.	18
Figure 2.3 : Matrice des risques et échelle de couleur pour illustrer comment l'exposition et le danger sont intégrés pour établir un niveau de risque dans l'évaluation des risques pour l'environnement. Les évaluations des risques associées aux composantes de danger au niveau d'exposition évalué sont désignées par des chiffres : 1) risques liés à la toxicité pour l'environnement; 2) risques liés à la transmission horizontale de gènes; 3) risques liés aux interactions avec d'autres organismes; 4) risques liés à l'hybridation; 5) risques en tant que vecteur de maladie; 6) risques pour le cycle biogéochimique; 7) risques pour l'habitat; 8) risques pour la biodiversité.....	31

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : Classement de la probabilité d'exposition de l'environnement canadien à l'organisme.....	15
Tableau 2.2 : Classement de l'incertitude associée à la probabilité de la présence de l'organisme et à son devenir dans l'environnement canadien (exposition de l'environnement)..	16
Tableau 2.3 : Classement du danger pour l'environnement découlant de son exposition à l'organisme.....	21
Tableau 2.4 : Classement du niveau d'incertitude associé au danger pour l'environnement.	22
Tableau 2.5 : Sommaire du classement des dangers et du niveau d'incertitude connexe pour l'YZ2018 dans l'environnement canadien.	30

LISTE DES SIGLES

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

DL₅₀ : Dose létale tuant 50 % d'une population

ECCC : Environnement et Changement climatique Canada

eGFP : Protéine verte fluorescente améliorée

E. T. : Erreur-type

GM : Génétiquement modifié

GxE : Interactions génotype-environnement

LCPE : *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)*

MPO : Pêches et Océans Canada

nhaf : Nombre d'heures après la fertilisation

njaf : Nombre de jours après la fécondation

pb : Paire de bases

PE : Protocole d'entente

RFP : Protéine rouge fluorescente

RRSN(O) : *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)*

SC : Santé Canada

TCmin : Température minimale critique

THG : Transmission horizontale de gènes

TLCmin : Température létale chronique minimale

GLOSSAIRE

Caractère envahissant : Propriété d'un organisme qui a été introduit dans un nouvel écosystème aquatique, qui s'y est établi et s'y est répandu et qui a eu des conséquences nuisibles sur les ressources naturelles de l'écosystème aquatique indigène ou l'utilisation humaine de la ressource.

Concurrence : Le besoin simultané de deux organismes ou espèces ou plus (concurrents) pour une ressource commune essentielle dont la quantité est limitée ou potentiellement limitée (concurrence par exploitation), ou une interaction nuisible entre deux organismes ou espèces ou plus ayant besoin d'une ressource commune non limitée (concurrence par interférence).

Cycle de vie : La séquence des événements, à partir des origines d'un zygote jusqu'à la mort d'un individu; les étapes par lesquelles un organisme passe entre la production de gamètes par une génération et la production de gamètes par la génération suivante.

Danger : Potentiel de causer des effets nocifs.

Devenir : Le résultat final ou les résultats attendus d'un développement normal.

Dissémination : Déplacement d'une population établie avec succès au-delà de son aire de répartition.

Diversité biologique : Selon la LCPE, la « diversité biologique » se définit comme la variabilité des organismes vivants de toute origine, y compris, sans limiter le caractère générale de ce qui précède : les écosystèmes terrestres, marins et les autres écosystèmes aquatiques ainsi que les complexes écologiques dont ils font partie, ce qui comprend la diversité au sein des espèces et entre espèces ainsi que celle des écosystèmes.

Écosystème : Selon la LCPE, un « écosystème » est un complexe dynamique formé de communautés de plantes, d'animaux et de micro-organismes qui y vivent et de leur environnement non vivant.

Effet nocif : Effet négatif immédiat ou à long terme sur la structure ou la fonction de l'écosystème, y compris la diversité biologique.

Établie : Population autosuffisante qui grandit et se reproduit avec succès dans une région donnée.

Exposition : Probabilité qu'un organisme entre en contact avec des espèces ou des composantes environnementales vulnérables au Canada.

Facteurs abiotiques : Facteurs physiques, chimiques et autres facteurs environnementaux non vivants.

Fluorescent : Une substance qui absorbe la lumière associée à une longueur d'onde courte et qui émet de la lumière à une longueur d'onde plus longue.

Génétiquement modifié : Modification délibérée des caractéristiques d'un organisme en manipulant ses gènes de façon artificielle.

Habitat : La zone ou le type d'endroit où un individu ou une espèce sauvage se trouve dans la nature et dont il dépend directement ou indirectement pour la réalisation de ses processus de vie. Comprend les caractéristiques biologiques, chimiques et physiques de l'environnement dont les organismes vivants ont besoin pour réaliser leurs processus et leur cycle de vie.

Hybridation : Tout croisement d'individus de composition génétique différente, ceux-ci faisant habituellement partie de souches ou d'espèces différentes.

Incertitude : Connaissances insuffisantes en ce qui concerne la vraie valeur d'un paramètre parce que celui-ci est aléatoire ou qu'il n'a pas été suffisamment étudié, ou les deux.

Interactions génotype-environnement (GxE) : Comment le génotype interagit avec l'environnement pour moduler le phénotype observé; réactions morphologiques, physiologiques ou comportementales différentielles d'un moins deux génotypes aux fluctuations environnementales; plasticité.

Marché de l'aquariophilie : Le secteur industriel qui vend légalement des organismes aquatiques à des clients.

Mésocosme : Milieu aquatique expérimental confiné où il y a une masse d'eau limitée dont les conditions sont proches des conditions naturelles et où les facteurs environnementaux peuvent être modifiés de façon réaliste.

Paramètre de mesure : Une caractéristique mesurable du paramètre d'évaluation sélectionné.

Paramètre d'évaluation : Entités écologiques susceptibles de subir des effets nocifs en cas d'exposition à un agent de stress devant être protégées pour atteindre des objectifs de protection établis.

Persister : Survivre jusqu'au stade de la reproduction.

Probabilité : Le degré de certitude en fonction de preuves; le degré de correspondance entre une proposition, un modèle ou une hypothèse et les données recueillies.

Risque : Probabilité qu'un effet nocif se produise en raison d'une exposition à un danger. Le risque intègre la nature et la gravité de l'effet nocif ainsi que la probabilité que celui-ci se réalise.

Survie : Un organisme survit lorsque ses exigences physiologiques immédiates sont satisfaites.

Toxique au sens de la LCPE : Une substance ou un organisme est considéré comme toxique s'il pénètre ou peut pénétrer dans l'environnement en quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à: a) avoir ou pouvoir avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique; b) mettre en danger ou pouvoir mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie; ou c) constituer ou pouvoir constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Transgénique : Organisme contenant du matériel génétique dans lesquels l'ADN d'un organisme sans lien a été introduit de façon artificielle.

Transmission horizontale de gènes : Transfert de gènes entre des organismes d'une manière autre que la reproduction asexuelle ou sexuelle traditionnelle.

RÉSUMÉ

Conformément à la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (LCPE), un avis a été soumis en vertu du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)] par GloFish LLC à Environnement et changement climatique Canada (ECCC) pour un *Danio rerio* génétiquement modifié, le danio GloFishMD Sunburst OrangeMD (YZ2018), pour les vents commerciales au Canada. L'évaluation des risques pour l'environnement a été réalisée en incluant une analyse des dangers potentiels, des probabilités d'exposition, et des incertitudes associées pour parvenir à des conclusions sur les risques. L'évaluation de l'exposition environnementale a conclu que la présence de YZ2018 dans l'environnement canadien, en dehors des aquariums, devrait être rare, isolée et éphémère en raison de leur incapacité à survivre aux basses températures hivernales typiques des environnements d'eau douce du Canada. Par conséquent, la probabilité d'exposition de YZ2018 à l'environnement canadien est faible. L'incertitude associée à l'évaluation de l'exposition est faible, compte tenu des données disponibles sur la tolérance à la température de lignée notifiée et des espèces comparables pertinents, et de l'absence d'établissement en raison de la longue histoire d'utilisation du *Danio rerio* non transgénique en Amérique du Nord. L'évaluation des dangers environnementaux a conclu que les dangers potentiels de YZ2018 associés à la toxicité environnementale, aux interactions trophiques, à l'hybridation, aux maladies, à la biodiversité, au cycle biogéochimique et à l'habitat, sont négligeables. La transmission horizontale de gènes présente un faible danger (c'est-à-dire aucun effet nocif prévu). Les niveaux d'incertitude associés aux cotes de danger environnemental, vont de faibles à modérés en raison des limites et de la qualité des données pour les organismes notifiés et de substitution, ou d'une certaine dépendance à l'égard des avis d'experts et des preuves anecdotiques. Il existe un faible risque d'effets environnementaux négatifs aux niveaux d'exposition prévus pour l'environnement canadien en raison de l'utilisation de YZ2018 comme poissons d'aquarium ornementaux ou d'autres utilisations potentielles.

SOMMAIRE

RENSEIGNEMENTS DE BASE

Le 4 mars 2019, GloFish LLC a présenté un ensemble de documents réglementaires à Environnement et Changement climatique Canada (ECCC), en vertu du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)] de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (1999) (LCPE 1999) pour l'importation de poisson-zèbre GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD} (YZ2018); un poisson-zèbre (*Danio rerio*) fluorescent de couleur orange qui a été génétiquement modifié, soit un poisson d'ornement destiné aux aquariums domestiques.

En vertu de la LCPE, un organisme est considéré comme « toxique » s'il pénètre ou peut pénétrer dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à : a) avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique; b) mettre en danger ou pouvoir mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie; ou c) constituer ou pouvoir constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines. Toute personne proposant d'importer ou de fabriquer un produit animal vivant issu de la biotechnologie au Canada, y compris du poisson génétiquement modifié (GM), doit fournir à ECCC les renseignements prescrits dans le RRSN(O) au moins 120 jours avant le début de l'importation ou de la fabrication de l'organisme. Ces renseignements sont utilisés pour réaliser une évaluation des risques pour l'environnement et une évaluation des répercussions indirectes sur la santé humaine (risques pour la santé humaine si l'environnement est exposé à l'organisme) qui servent ensuite à déterminer si l'organisme est toxique ou peut le devenir en vertu de la LCPE.

En vertu d'un protocole d'entente (PE) avec ECCC et Santé Canada (SC), pour les produits du poisson issus de la biotechnologie et relevant du RRSN(O), le MPO fournit un avis scientifique sous la forme d'une évaluation des risques pour l'environnement. Ces conseils servent à éclairer l'évaluation des risques selon la LCPE menée par ECCC et SC. Conformément à cette entente, le ministre d'ECCC reçoit un avis scientifique du MPO et a la responsabilité de prendre la décision réglementaire définitive en ce qui concerne l'utilisation du poisson déclaré.

C'est dans ce contexte que le MPO a réalisé une évaluation des risques pour l'environnement posés par l'organisme déclaré (YZ2018) en fonction de son utilisation proposée. Dans le présent document, le **risque** est défini comme une fonction du potentiel que les environnements canadiens soient **exposés** à l'organisme déclaré et du potentiel que l'organisme déclaré représente un **danger** pour l'environnement canadien. L'évaluation de l'exposition et des dangers sont réalisées séparément, puis intégrées dans une évaluation des risques. L'incertitude liée à l'évaluation de l'exposition et celle liée à l'évaluation des dangers sont déterminées et l'incertitude associée à l'évaluation des risques finale est analysée.

L'ORGANISME DÉCLARÉ

L'YZ2018 est une lignée de poissons-zèbres transgénique diploïdes, hémizygotes ou homozygotes, et orange fluorescents génétiquement modifiés créés à partir du poisson-zèbre doré (*D. rerio*). L'expression des transgènes produit une coloration orange du poisson sous la lumière naturelle. La protéine s'exprime dans la peau, les muscles, les nageoires, les yeux et probablement dans d'autres organes de l'organisme. Tous les individus YZ2018 sont des descendants d'un seul individu fondateur (G0), le transgène ayant été micro-injecté en tandem lorsque l'organisme ne formait qu'une seule cellule. La présence de multiples copies du transgène inséré à un seul site a été confirmée à la génération F1.

L'YZ2018 est vendu aux États-Unis dans le marché des aquariums ornementaux depuis 2006 sous le nom de danio GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD}. Le changement phénotypique ciblé est l'expression d'une couleur orange fluorescente formant un nouveau morphe coloré destiné au marché des aquariums ornementaux. Parmi les autres changements phénotypiques signalés par l'entreprise, mentionnons une tolérance au froid légèrement altérée et une réduction du succès de reproduction en concurrence avec les congénères non transgéniques.

ÉVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT

L'évaluation des risques pour l'environnement est réalisée selon le scénario d'utilisation proposé par GloFish LLC : l'importation de l'YZ2018 au Canada pour distribution à des magasins d'aquariophilie de tout le pays pour être achetés par des consommateurs canadiens pour leurs aquariums domestiques.

Exposition

Il est prévu que l'YZ2018 soit confiné dans des aquariums fixes à l'intérieur de bâtiments de grossistes, de magasins d'aquariophilie et de maisons de consommateurs. En fonction des dossiers de l'historique sur les poissons d'aquarium introduits dans des écosystèmes naturels canadiens et du monde entier, il est très probable que l'YZ2018 soit introduit volontairement ou par inadvertance dans les écosystèmes d'eau douce du Canada. Il est prévu que de tels événements se produisent très rarement et soient de très faible ampleur (p. ex. cinq poissons ou moins par rejet), bien qu'il soit toujours possible qu'un plus grand nombre soit introduit dans l'environnement.

Comme le poisson-zèbre est une espèce tropicale, il ne devrait pas pouvoir survivre en région tempérée, là où la température de l'eau est inférieure à sa température optimale de survie et de reproduction. La grande majorité des lacs du Canada atteignent des températures de 4 °C ou moins en hiver; comme le *D. rerio* cesse de s'alimenter au-dessous de 8 °C et meurt en bas de 5 °C, sa survie à l'hiver canadien reste peu probable. L'YZ2018 présente une tolérance moindre au froid et un succès reproducteur plus faible que le poisson-zèbre non transgénique. La présence de l'YZ2018 dans l'environnement canadien devrait être rare, isolée, éphémère et ne représente que peu d'individus. Par conséquent, la probabilité d'exposition de l'environnement canadien à l'YZ2018 est considérée comme faible. L'incertitude associée à cette estimation est faible étant donné la qualité des données sur la tolérance à la température de l'YZ2018 et des organismes similaires valides et des données recueillies sur les paramètres environnementaux du milieu récepteur canadien.

Danger

La potentialité que l'YZ2018 présente un danger pour les environnements canadiens a été examinée dans le contexte de la toxicité environnementale (c.-à-d. le potentiel toxique), de la transmission horizontale de gènes (THG), des interactions avec d'autres organismes, y compris l'hybridation, en tant que vecteur de maladies et des répercussions sur le cycle biogéochimique, l'habitat et la biodiversité. Le *D. rerio* non transgénique est un petit poisson non agressif dont l'activité devrait être limitée en raison des basses températures des eaux au Canada. Il ne s'agit pas d'une espèce envahissante au Canada ni dans le monde, malgré son utilisation répandue dans le commerce des aquariums. Il n'y a aucun rapport indiquant que les effets phénotypiques du transgène peuvent rendre le potentiel de danger de l'YZ2018 supérieur à celui du *D. rerio* non transgénique et rien n'indique qu'une transmission horizontale de gènes potentielle puisse être nuisible pour l'environnement canadien.

Le classement des dangers particuliers examinés variait de négligeable à faible. Le niveau d'incertitude lié à chaque danger variait de faible à modéré en raison du caractère limité des

données propres à l'YZ2018 et des données directes limitées sur les espèces comparables, de la variabilité des données concernant les modèles comparables (poisson-zèbre porteur du transgène de la protéine rouge fluorescente) et de la dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour l'évaluation de certains dangers. L'YZ2018 ne devrait présenter aucun danger particulier outre ceux associés à son utilisation prévue comme poisson d'ornement destiné aux aquariums domestiques.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RISQUES

Le risque global de l'YZ2018 pour l'environnement canadien est jugé faible, et l'organisme déclaré ne devrait pas y provoquer d'effet nocif au niveau d'exposition évalué. Bien que l'incertitude associée à l'estimation de certains dangers soit modérée en raison du manque de données directes sur l'organisme déclaré, rien ne permet de croire que l'YZ2018, dans le cadre de l'utilisation proposée ou d'autres utilisations possibles, puisse nuire à l'environnement canadien en cas d'exposition.

PARTIE 1 : FORMULATION DU PROBLÈME

1.1. OBJET DE LA PARTIE 1

La partie 1 de ce document définit la formulation du problème pour l'évaluation des risques pour l'environnement qui sera réalisée en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (LCPE) pour le poisson-zèbre GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD} (YZ2018), variante génétiquement modifiée du poisson-zèbre doré (*Danio rerio*) déclarée par GloFish LLC en vertu du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)], pour l'utilisation dans le commerce d'espèces destinées aux aquariums. La formulation du problème permet de poser les fondements pour l'évaluation des risques en déterminant les objectifs de protection environnementale et la portée de l'étude. Elle permet aussi de définir les objectifs de protection et les paramètres d'évaluation correspondant aux objectifs de protection législatifs de la LCPE. En outre, dans le cadre de la formulation du problème, l'YZ2018, les espèces de comparaison et le milieu récepteur potentiel canadien sont caractérisés.

Pour de plus amples renseignements sur la LCPE et le RRSN(O), y compris les directives relatives sur les règlements, les indications détaillées sur l'information requise, l'obtention de dispenses, les nouvelles activités, les résultats des évaluations des risques et la gestion des risques, consulter la [page de biotechnologie](#) du site Web d'ECDC.

1.2. CONTEXTE JURIDIQUE, CADRE D'ÉVALUATION DES RISQUES ET PRISE DE DÉCISION RÉGLEMENTAIRE

Un aperçu détaillé du contexte juridique du processus d'évaluation des risques, du cadre d'évaluation des risques et du processus décisionnel réglementaire en vertu de la LCPE est fourni dans [Leggatt et al. \(2018a\)](#).

En bref, l'évaluation des risques est effectuée dans le contexte législatif de la LCPE et des exigences en matière d'information de l'annexe 5 du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)*. Les risques potentiels pour l'environnement canadien qui peuvent être associés à l'importation ou à la fabrication de poissons génétiquement modifiés sont déterminés selon le paradigme classique de l'évaluation des risques, où le risque est directement lié à l'exposition et au danger que pose l'organisme. L'évaluation de l'exposition est fondée sur la probabilité et l'ampleur du rejet dans

l'environnement ainsi que sur la probabilité et l'importance de la survie, de la reproduction, de l'établissement et de la dissémination de l'organisme et de ses descendants potentiels dans les milieux naturels du Canada. L'évaluation des dangers met l'accent sur les répercussions possibles de l'organisme sur : (1) les proies, prédateurs et concurrents potentiels de l'organisme; (2) la diversité biologique et (3) l'habitat. Le niveau d'incertitude pour la détermination de l'exposition et du danger est évalué et communiqué en fonction de son incidence sur l'évaluation finale des risques. Le MPO fournit des avis scientifiques sous forme d'évaluations des risques revues par les pairs à ECCC aux fins de la prise de décisions réglementaires en vertu de la LCPE, en fonction des risques pour l'environnement et de l'incertitude associée à la conclusion.

1.3. CARACTÉRISATION DE YZ2018

1.3.1. Caractérisation moléculaire

YZ2018 est un « poisson-zèbre doré » génétiquement modifié issu d'une variété de poisson-zèbre rayé à faible pigmentation et qui possède plusieurs copies d'une cassette transgénique insérée contenant des promoteurs issus d'un poisson qui dirigent l'expression de protéines exogènes. Le matériel génétique inséré produit une coloration jaune-orange généralisée visible à la lumière ambiante, notamment celle du jour. Cette modification génétique a pour but de créer un nouveau phénotype de couleur orange chez *D. rerio*; ce nouvel organisme est destiné au commerce des aquariums d'ornement (figure 1.1).

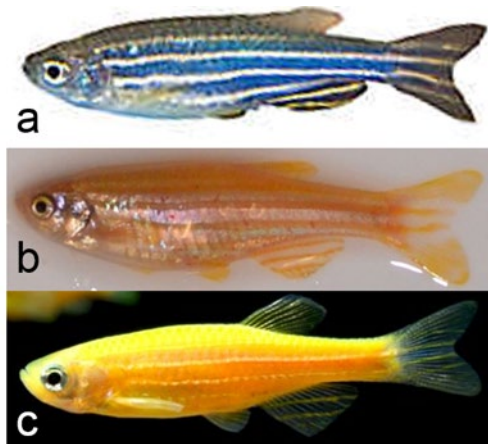


Figure 1.1. : Variantes de *Danio rerio* disponibles dans le commerce des poissons d'ornement à l'échelle mondiale (a, b) et variante transgénique déclarée uniquement disponible aux États-Unis (c). Poisson-zèbre non transgénique (a), poisson-zèbre doré (b), le danio GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD} (c) (images de : (a) www.petsmart.ca; (b) MPO; (c) www.glofish.com).

Bien que plus de détails sur la structure, l'élaboration et la fonction de la construction transgénique aient été fournis par l'entreprise à des fins d'examen, ces renseignements sont considérés de nature commerciale et confidentielle et ne sont donc pas inclus dans le présent rapport.

1.3.1.1. Production de l'organisme déclaré

La cassette d'expression transgénique décrite ci-dessus a été injectée dans des œufs nouvellement fécondés de la variante dorée non transgénique du poisson-zèbre (*D. rerio*). Un seul individu précurseur (en phase G0) a été identifié par son phénotype jaune fluorescent et a été croisé séparément à trois poissons-zèbres dorés non transgéniques pour produire plusieurs

groupes F1 qui ont été examinés visuellement pour détecter une fluorescence et les poissons non transgéniques ont été retirés. Le respect de la loi de ségrégation de Mendel (50:50) pour l'intégration du transgène à un seul locus a été confirmé chez les mâles transgéniques de la F1 qui ont été utilisés pour calculer le nombre de copies transgéniques. Ces poissons F1 ont été croisés à un nombre non précisé de poissons-zèbres dorés non transgéniques pour produire des poissons hémizygotes F2, dont un échantillon a été utilisé pour confirmer la présence d'une lignée génétique par hybridation de Southern. Bien que tous les poissons présentaient des spectre de bandes identiques, ce qui indique que la copie transgénique s'est insérée au même locus, la petite taille de l'échantillon ne permet pas de conclure définitivement à l'absence d'autres génotypes au sein de la population F2.

1.3.1.2. Caractérisation du transgène intégré

La séquence de la construction génique qui s'est insérée dans l'YZ2018 n'a pas été déterminée, et l'emplacement précis de l'insertion dans le génome de l'organisme n'a pas été fourni. Par conséquent, on ne connaît pas les réarrangements que la construction aurait pu subir ni les effets potentiels en découlant sur la transcription des gènes à proximité du site d'insertion.

L'YZ2018 peut comprendre des individus hémizygotes (porteurs d'une seule copie du transgène au locus d'insertion) ou homozygotes (possédant les deux copies au même locus). Le déclarant a indiqué qu'il était impossible de distinguer les individus hémizygotes des spécimens homozygotes par leur phénotype.

1.3.1.3. Hérité et stabilité du transgène

Comme le site d'insertion précis du transgène n'a pas été déterminé, on ne sait pas si le phénomène se produit dans un lieu du génome d'expression stable ou dans une région sujette au silençage.

Il a été confirmé que plusieurs individus F1 utilisés pour produire la lignée YZ2018 présentaient une ségrégation mendélienne du transgène, comme l'indique la présence ou l'absence de la couleur jaune fluorescente du phénotype de la progéniture. Le transgène se transmet donc de façon stable dans cette génération de poissons, bien que le phénotype et le génotype n'aient pas été comparés afin d'évaluer la présence de transgènes silencieux chez les poissons non fluorescents. De plus, l'héritage et la stabilité n'ont pas été examinées dans les générations suivantes. L'individu porteur d'un transgène silencieux ne présenterait pas de phénotype de couleur jaune et serait donc retiré de la population des YZ2018 (la fréquence de ces cas est inconnue). Les stocks de géniteurs YZ2018 sont choisis avec soin et une pression sélective en faveur des stocks de couleur vive empêcherait vraisemblablement les spécimens au transgène partiellement silencieux de transmettre cette caractéristique à la génération suivante. Selon le déclarant, la progéniture non fluorescente est retirée de la population et n'est pas vendue comme poisson-zèbre doré.

Yorktown Technologies et GloFish LLC maintiennent la lignée généalogique depuis plus de cinq générations, et la lignée est offerte commercialement depuis plus de cinq ans sans qu'aucune preuve de silençage de l'expression génique ne soit signalée. De plus, GloFish LLC indique que « 5-D Tropical Inc., l'un des plus importants producteurs de poissons d'ornement tropicaux au monde, produit YZ2018 (et toutes les autres lignées de GloFish^{MD} vendues sur le marché) depuis des années et a constaté que le phénotype est durable et stable d'une génération à l'autre ». Toutefois, aucune étude rigoureuse n'est disponible.

1.3.1.4. Méthodes de détection de YZ2018

Les individus YZ2018 se distinguent facilement des poissons-zèbres dorés par leur couleur uniforme phénotypique jaune-orange fluorescente visible sous la lumière ambiante, y compris la lumière du soleil. Comme il n'existe actuellement aucune espèce connue de poisson-zèbre non transgénique pouvant être fluorescente sous la lumière ambiante ou la lumière du soleil, les individus YZ2018 se distinguent par leur phénotype des autres espèces de poisson-zèbre non transgéniques. De plus, les poissons YZ2018 peuvent être distingués génétiquement par l'amplification PCR de l'insert transgénique.

1.3.2. Caractérisation phénotypique

Le poisson-zèbre doré utilisé dans la production de YZ2018 est une lignée de poisson-zèbre doré sans rayures, une variante pigmentaire d'origine naturelle du poisson-zèbre coloré de type sauvage (Clark et Ekker 2015; voir la figure 1.1). Les poissons utilisés pour produire YZ2018 ont été obtenus d'un producteur de poissons d'aquarium d'ornement (5-D Tropical) en 2007. Tous les poissons YZ2018 descendent d'un seul individu G0 dans lequel la construction transgénique a été injectée au stade unicellulaire. Cet individu G0 a été croisé avec plusieurs poissons-zèbres dorés non transgéniques pour produire plusieurs groupes hémizygotes F1; plusieurs individus F1 ont ensuite été croisés avec des poissons-zèbres dorés non transgéniques pour produire le groupe d'hémizygotes F2. La poursuite de la lignée YZ2018 s'est faite par reproduction en lots au sein de populations mixtes d'individus hémizygotes et homozygotes pour le transgène, les poissons de type sauvage étant retirés de la population au fur et à mesure. Les stocks de géniteurs YZ2018 sont hébergés séparément par deux producteurs de poissons d'aquarium de Floride.

1.3.2.1. Effets phénotypiques ciblés de la modification

L'effet phénotypique ciblé de la modification génétique est que YZ2018 apparaisse orange à la lumière ambiante. Ce nouveau phénotype de couleur se voit dans les muscles, la peau et les yeux. En ce qui trait à l'insertion du transgène, GloFish LLC rapporte que les individus YZ2018 hémizygotes et homozygotes ne peuvent être distingués les uns des autres par leur phénotype et sont tous destinés à la vente.

1.3.2.2. Effets phénotypiques non ciblés de la modification

GloFish LLC a identifié deux effets non ciblés chez YZ2018, soit une plus faible tolérance aux basses températures et une diminution de la réussite de reproduction lorsqu'il est en concurrence avec le poisson-zèbre non transgénique. Les effets de la modification génétique sur les autres phénotypes, notamment la capacité de survie, la fécondité et le comportement, n'ont pas fait l'objet d'un examen formel.

1.3.2.3. Effets pléiotropiques des transgènes de la protéine fluorescente chez le poisson-zèbre

De nombreuses protéines fluorescentes, particulièrement la protéine verte fluorescente améliorée (eGFP), sont largement utilisées dans la recherche sur différents organismes, et on dispose de certaines données pertinentes à l'évaluation des risques sur le poisson-zèbre transgénique à la protéine rouge fluorescente (RFP).

On a observé que le poisson-zèbre porteur du transgène de la RFP était moins tolérant au froid que le type sauvage non apparenté dans des études sous différentes températures d'acclimatation (Cortemeglia et Beitinger 2005, 2006a), bien que les différences dans le bagage génétique de la souche et les conditions d'élevage (Schaefer et Ryan 2006) préalables à l'expérimentation aient pu avoir une incidence sur la tolérance relative aux températures

extrêmes. En outre, Leggatt *et al.* (2018b) ont signalé que le poisson-zèbre porteur du transgène eGFP dirigé par le promoteur *fli1a* était moins tolérant au froid que la souche non transgénique de source. Toutefois, deux autres lignées eGFP dirigées par d'autres promoteurs ne présentaient pas ce caractère. Cela indique que différentes lignées transgéniques peuvent présenter des réactions différentes aux facteurs de stress environnementaux extrêmes. Il a été rapporté que cinq des six tétras GloFish^{MD} déclarés antérieurement et porteurs de constructions similaires à celle de l'YZ2018 présentaient également une tolérance au froid réduite (MPO 2019).

Aucun effet de la transgénèse des protéines fluorescentes n'a été observé sur la survie des poissons-zèbres exprimant la RFP par rapport à leurs congénères sauvages dans des conditions de laboratoire (Howard *et al.* 2015). Dans une population de poissons-zèbres eGFP, RFP, eGFP-RFP et non transgénique, la survie des poissons eGFP était plus faible. La survie des porteurs du transgène de la RFP ou du double transgène n'était toutefois pas affectée (Gong *et al.* 2003), ce qui indique que différents transgènes ou sites d'insertion peuvent également avoir des effets différents sur la survie. Les transgènes fluorescents ne semblent pas modifier le comportement alimentaire des espèces.

Les rapports décrivant les effets de la transgénèse RFP sur la vulnérabilité à la prédation présentent des résultats variés. Cortemeglia et Beitinger (2006b) constatent que les poissons-zèbres RFP et de type sauvage font l'objet d'une prédation égale. Hill *et al.* (2011) notent que le poisson-zèbre GloFish^{MD} exprimant la RFP est deux fois plus vulnérable à la prédation que les poissons-zèbres capturés à l'état sauvage non apparentés. En revanche, Jha (2010) a découvert qu'une souche indienne de poisson-zèbre exprimant la RFP était moins recherchée par les têtes-de-serpent capturés en milieu naturel que les poissons-zèbres sauvages non apparentés. Les facteurs qui influent sur la différence de vulnérabilité relative du poisson-zèbre RFP à la prédation ne sont pas connus, mais pourraient comprendre des différences de bagage génétique ou les conditions antérieures d'élevage des poissons-zèbres transgéniques et non transgéniques, les préférences innées ou les habitudes de vie des prédateurs utilisés, les promoteurs ou les sites d'insertion de la transgénèse utilisés et/ou les conditions expérimentales (p. ex. présence d'abris pour les espèces-proies).

Les effets déclarés de la RFP et d'autres transgènes fluorescents sur le succès ou les préférences de reproduction du poisson-zèbre varient également d'une étude à l'autre. Les poissons-zèbres RFP et non transgéniques atteignent la maturité à un âge semblable chez les femelles, et les mâles et les femelles présentent une fécondité comparable (Howard *et al.* 2015). Dans une population comprenant un nombre égal de souches exprimant eGFP dans les muscles et des poissons-zèbres non transgéniques, les descendants eGFP n'affichaient ni avantage ni désavantage reproductif (Gong *et al.* 2003). En revanche, Owen *et al.* (2012) constatent que les femelles non transgéniques et exprimant la RFP préfèrent toutes deux s'associer aux mâles RFP plutôt qu'aux mâles non transgéniques, quel que soit le ratio de spécimens RFP et transgéniques dans leur cohorte d'élevage. Dans une autre étude, les mâles RFP présentaient un succès d'accouplement plus faible que les mâles non transgéniques, ainsi que des niveaux d'agressivité plus faibles à l'égard des mâles comme des femelles (Howard *et al.* 2015).

Jha (2010) constate que les poissons-zèbres RFP sont plus agressifs que leurs congénères sauvages non apparentés. Snekser *et al.* (2006) rapportent que le transgène RFP n'influe pas sur les préférences des partenaires sociaux en matière d'étanchéisation ou dans un contexte se prêtant à la reproduction chez des populations vraisemblablement non apparentées de poissons-zèbres RFP et non transgéniques. Howard *et al.* (2015) ont étudié le devenir du transgène RFP sur 15 générations dans le cadre d'une expérience de reproduction concurrentielle en série dans 18 populations de poisson-zèbre GloFish^{MD}. Dans toutes les

populations, la fréquence du transgène RFP a diminué rapidement et a été éliminée dans toutes les populations sauf une, ce qui indique un fort désavantage reproducteur associé à l'insert transgénique RFP. Chez les tétras GloFish^{MD} précédemment déclarés, seulement trois des six lignées affichaient une diminution du succès reproducteur en contexte de compétition (MPO, 2019). Parmi ces lignées, le tétra GloFish^{MD} porteur du transgène de la RFP a connu la diminution la plus forte de succès reproducteur concurrentiel, ce qui laisse penser que les résultats présentés dans Howard *et al.* (2015) peuvent représenter l'exemple le plus extrême de baisse du succès reproducteur attribuable à la transgénèse de protéines fluorescentes, un phénomène qui peut ne pas être présent dans toutes les lignées GloFish^{MD} actuelles.

Les études publiées pertinentes sur d'autres poissons-zèbres transgéniques porteurs de protéines fluorescentes et les données provenant d'autres lignées de GloFish^{MD} déclarées peuvent être utilisées comme données de substitution pour démontrer les effets généraux potentiels de la transgénèse des protéines fluorescentes sur les phénotypes liés aux risques de l'organisme déclaré. Toutefois, l'utilisation de ces données doit tenir compte des différences potentielles entre l'organisme déclaré et les organismes de substitution, notamment les transgènes utilisés (tant les gènes des protéines fluorescentes que leurs promoteurs, et si le type de transgène est connu), le bagage génétique (p. ex. spécimens domestiqués comparés aux spécimens sauvages) et l'effet des sites d'insertion potentiels, entre autres facteurs.

1.4. CARACTÉRISATION DES ESPÈCES DE COMPARAISON

Aux fins de la présente évaluation, le poisson-zèbre domestiqué non transgénique a servi de comparateur pour l'organisme déclaré. On connaît aussi le poisson-zèbre sous le nom de danio, danio zébré et danio rayé. Ce poisson tropical d'eau douce, originaire du sous-continent de l'Inde (Lessman 2011), est un poisson d'aquarium populaire que l'on trouve dans toutes les animaleries au Canada. Sa petite taille (environ 4 cm à l'âge adulte), son régime alimentaire varié, son faible coût et le fait qu'il nécessite peu d'entretien et de soins contribuent à sa popularité. Comme le poisson-zèbre est souvent utilisé comme espèce modèle dans la recherche scientifique, on en connaît bien l'histoire naturelle et les effets de la domestication sur son phénotype et son génotype.

1.4.1. Statut taxonomique

Le *Danio rerio* fait partie des quelque 45 espèces de *Danio* qu'on trouve partout en Inde, au Pakistan, au Népal, au Bangladesh, au Sri Lanka, au Myanmar, en Thaïlande, en Malaisie, à Sumatra (Indonésie) et dans la province du Yunnan en Chine (Fang 2003). Il appartient à la famille des cyprinidés, à l'ordre des cypriniformes, tout comme les carpes et les ménés (Spence *et al.* 2008). Réputé avoir évolué en Asie du Sud il y a quelque 320 millions d'années (Ribas et Piferrer 2014), *D. rerio* a été décrit pour la première fois par Francis Hamilton en 1822. Il a ensuite été attribué au sous-genre *Brachydanio* par Weber et de Beaufort (1916), tout comme les autres petites espèces de *Danio* afin de réserver l'emploi du terme « Danio » aux plus grandes espèces du genre (Barman 1991). Les genres *Danio* et *Brachydanio* ont été regroupés par Barman (1991) principalement parce qu'il n'y avait aucun caractère diagnostique qui séparait les deux genres (Spence *et al.* 2008). Selon la première phylogénie moléculaire du groupe effectuée, *Danio* était monophylétique avec deux sous-clades, au corps bien développé ou élancé (Meyer *et al.* 1993; Meyer *et al.* 1995). Toutefois, une phylogénie plus complète basée sur une analyse morphologique classait *Danio* comme paraphylétique (Fang 2003). Le clade « corps bien développé » a maintenant été attribué au genre distinct propre *Devario* (qui compte actuellement 35 espèces valides), et le genre *Danio* est réservé aux espèces élancées (Fang 2003). De nombreuses souches différentes de *D. rerio* ont été créées pour les laboratoires et comme poisson d'aquarium (Howe *et al.* 2013).

1.4.2. Aire de répartition

La répartition du *Danio rerio* comprend l'Inde, le Pakistan, le Népal, le Bangladesh, le Sri Lanka, le Myanmar, la Thaïlande, la Malaisie, à Sumatra (Indonésie) et la province du Yunnan en Chine (Fang 2003). L'habitat naturel du poisson-zèbre se retrouve surtout dans les régions tropicales soumises aux fluctuations climatiques de la mousson, qui comprend les bassins fluviaux du Gange et du Brahmapoutre dans le nord-est de l'Inde, le Bangladesh et le Népal, les bassins versants de la Krishna et les bassins fluviaux se jetant dans la mer d'Arabie (Barman 1991; Engeszer *et al.* 2007; Spence *et al.* 2008; Ribas et Piferrer 2014). Le poisson-zèbre est largement distribué sur le sous-continent indien, mais il est tout simplement omis des relevés en raison de sa petite taille et de sa faible valeur alimentaire (Spence *et al.* 2008). La ville de Khulna au Bangladesh représente probablement la limite sud de son aire de répartition (Spence *et al.* 2006).

1.4.3. Habitat

Le poisson-zèbre vit habituellement dans les étangs stagnants, les fossés peu profonds, les rivières et les ruisseaux à courant lent, souvent reliés à des rizières, mais pas dans les champs eux-mêmes (McClure *et al.* 2006; Spence *et al.* 2006; Engeszer *et al.* 2007; Spence *et al.* 2008). On suppose que leur association avec les rizières est attribuable aux engrais qui contribuent à la croissance du zooplancton, une source importante de nourriture pour le poisson-zèbre (Spence *et al.* 2007; Ribas et Piferrer 2014). Ces milieux sont susceptibles d'être exempts de poissons prédateurs, surtout dans les zones aquatiques créées par le régime des moussons. Le long des cours d'eau se jetant dans le Gange et le Brahmapoutre, les poissons-zèbres vivent en eaux peu profondes, sur fond limoneux, et généralement dégagées (visibilité jusqu'à 30 cm), souvent dans des endroits ouverts et non ombragés, bordés de végétation aquatique (McClure *et al.* 2006; Spence *et al.* 2006; Engeszer *et al.* 2007). On sait qu'ils s'adaptent aisément à différentes conditions et à différents milieux et qu'ils affichent une forte plasticité comportementale dans différents environnements (Suriyampola *et al.* 2016; Ribas et Piferrer 2014).

1.4.4. Tolérances physiologiques

1.4.4.1. Oxygène

Les poissons-zèbres ont un métabolisme plus élevé que les poissons plus gros et consomment donc plus d'oxygène par unité de poids (Lawrence 2007). Les besoins en oxygène dissous des poissons-zèbres sauvages n'ont pas été déterminés (Lawrence 2007). Des études simulant l'hypoxie environnementale en culture montrent que la teneur idéale en oxygène dissous est de 7,5 mg/L avec des niveaux tolérés (c.-à-d. sans effet observable sur le poisson, du moins à court terme) allant de 5,5 à 9 mg/L (Cortemeglia et Beitinger 2006a; Lawrence 2007; Lawrence *et al.* 2012; Ribas et Piferrer 2014). Les larves tolèrent des niveaux en oxygène aussi faibles que 3,3 mg/L sans anomalie du développement (Strecker *et al.* 2011b).

1.4.4.2. Température

Le poisson-zèbre est eurytherme et tolère un large éventail de températures dans son aire de répartition naturelle, soit de 6 °C en hiver à plus de 38 °C en été (Spence *et al.* 2008; López-Olmeda et Sánchez-Vázquez 2011; Arunachalam *et al.* 2013; Little *et al.* 2013). Selon des études en laboratoire, les climats tempérés inférieurs à 24 °C peuvent affecter la reproduction et induire des anomalies de développement aux divers stades embryonnaires et larvaires (Schirone et Gross 1968; Barrionuevo et Burggren 1999; Hallare *et al.* 2005) et Sfakianakis *et al.* (2012) rapportent que la reproduction à des températures extrêmes modifierait le sex-ratio dans les souches de laboratoire. Leggatt *et al.* (2018) ont observé que le

poisson-zèbre doré diminue son activité et son alimentation à 16 °C, cesse de s'alimenter à 8 °C et cesse toute activité à 7 °C. Des études sur le terrain et des études en microcosme montrent qu'il ne survivrait pas dans les eaux aux températures inférieures ou égales à 5 °C (Cortemeglia *et al.* 2008; Ribas et Piferrer 2014). Leggatt *et al.* (2018b) signalent également que les souches de recherche non transgéniques et transgéniques à la eGFP ne peuvent survivre à l'élevage à long terme à 6 °C (80 à 100 % de mortalité à l'intérieur d'une semaine).

1.4.4.3. pH

Le poisson-zèbre peut tolérer un large éventail de niveau de pH, mais une fourchette de 7 à 8,2 assurera sa croissance et sa reproduction en laboratoire (Brand *et al.* 2002; Cortemeglia et Beiting 2006a). Un pH moyen d'environ 8,0 est observé dans les habitats naturels du Bangladesh et de l'Inde (McClure *et al.* 2006; Spence *et al.* 2006; Lawrence 2007), bien que sa présence ait été signalée dans une fourchette de pH de 5,9 à 9,8 (Engeszer *et al.* 2007; Arunachalam *et al.* 2013; Parichy 2015), ce qui démontre que le poisson-zèbre résiste à un pH très varié dans son habitat naturel.

1.4.4.4. Salinité

Le poisson-zèbre est une espèce d'eau douce, mais elle peut tolérer l'eau saumâtre (Lawrence 2007). Cette adaptation est probablement attribuable à la variabilité de son habitat naturel; la géologie sous-jacente combinée aux fluctuations saisonnières des précipitations peut faire varier considérablement la salinité des eaux lentes que le poisson-zèbre préfère (Lawrence 2007). Bien que Spence *et al.* (2006) aient enregistré des salinités oscillant entre 0 et 0,8 ppt au Bangladesh, il a été démontré que les embryons de poisson-zèbre élevés dans des salinités aussi élevées que 2 ppt affichaient des taux de survie et d'éclosion semblables à ceux des témoins maintenus à 0,3 ppt (Sawant *et al.* 2001).

1.4.5. Morphologie, cycle de vie et croissance

Le poisson-zèbre est fusiforme et comprimé latéralement; sa bouche oblique terminale est orientée vers le haut (Spence *et al.* 2008). *D. rerio* se distingue par la présence d'une ligne latérale incomplète qui s'étend jusqu'à la base de la nageoire pelvienne, deux paires de barbillons et de cinq à sept rayures longitudinales qui se prolongent de l'arrière de l'opercule jusqu'à la nageoire caudale (Barman 1991). Ces bandes apparaissent à différents stades de développement : les deux premières se forment au centre, puis les suivantes s'ajoutent successivement de part et d'autre (McClure 1999). La nageoire anale est également rayée, tandis que la dorsale présente un bord supérieur bleu foncé bordé de blanc (Spence *et al.* 2008). La souche de danio doré ressemble à celle du poisson-zèbre non transgénique, mais l'absence de pigments bleus et noirs lui donne une livrée dorée à rayures blanches (Laale 1977; Yossa *et al.* 2013).

La coloration des mâles et des femelles est souvent légèrement différente, les mâles affichant des rayures dorées et bleues, tandis que les femelles ont un ventre blanchâtre orné de rayures argent et bleues (Parichy 2006; Ribas et Piferrer 2014). Bien que le sexe des juvéniles ne puisse être établi de façon fiable, les femelles matures et gravides sont habituellement plus grosses et avec un ventre plus arrondi que les mâles, plus petits et longilignes (Parichy 2006; Ribas et Piferrer 2014). Les nageoires anales des mâles sont souvent plus grandes, et les femelles présentent une petite papille génitale devant l'amorce de la nageoire anale (Laale 1977; Yossa *et al.* 2013). Les tubercules reproducteurs présents sur les nageoires pectorales constituent une autre caractéristique distinctive du mâle (McMillan *et al.* 2015).

Le poisson-zèbre sauvage se reproduit habituellement chaque année; la principale période de recrutement se déroule d'avril à août et la ponte coïncide avec le début de la saison des

moussons en août (Spence *et al.* 2007; Ribas et Piferrer 2014). Il semble donc qu'un changement de saison soit le principal facteur d'influence des comportements reproducteurs, bien que la disponibilité alimentaire soit probablement un facteur aussi important de réussite en matière de reproduction puisque des femelles gravides ont été trouvées dans la nature en janvier, la période de ponte pouvant s'étendre à l'année en conditions d'élevage (Spence *et al.* 2006; Spence *et al.* 2007; Clelland et Peng 2009).

On croit que le poisson-zèbre sauvage a une détermination chromosomique sexospécifique WZ pour la femelle et ZZ pour le mâle, bien que les femelles de type WZ puissent se développer en mâles fonctionnels (Wilson *et al.* 2014). En revanche, les poissons-zèbres domestiqués semblent suivre un système de détermination polygénique du sexe soumis à plusieurs facteurs génétiques susceptibles de varier d'une souche à l'autre et qui peuvent être modulés par l'environnement, la température, l'hypoxie, la disponibilité alimentaire et la densité de population entre autres (Liew *et al.* 2012; Liew et Orban 2014; Dranow *et al.* 2016). Les mécanismes environnementaux qui contrôlent la détermination du sexe chez le poisson-zèbre ne sont pas connus, mais des conditions difficiles ou mauvaises peuvent accroître la proportion de poissons se développant en mâles (Wilson *et al.* 2014).

Le poisson-zèbre est ovipare et, en laboratoire, se caractérise par un frai asynchrone par lots, habituellement réalisé en petits groupes (Laale 1977; Lawrence 2007), bien que Hutter *et al.* (2010) pensent que le frai en groupe découle de la forte densité et du faible volume des aquariums en laboratoire, et que les poissons-zèbres vivant dans la nature sont davantage susceptibles de frayer en paire avec sélection sexuelle. La maturité reproductive survient dans les 75 jours suivants lorsque les femelles atteignent une longueur moyenne d'environ 25 mm (Eaton et Farley 1974; Laale 1977). Normalement l'aube venue, les femelles matures disséminent leurs amas d'œufs au-dessus du substrat dans la végétation aquatique des eaux peu profondes et ne fournissent aucun soin parental d'accompagnement (Sessa *et al.* 2008; Adatto *et al.* 2011). La ponte a lieu tous les quatre à sept jours, mais elle est plus abondante en conditions d'élevage lorsqu'elle se fait à intervalle de dix jours ou plus (Niimi et LaHam 1973; Laale 1977). La ponte peut varier considérablement, allant de moins de 200 à 1 800 œufs (Laale 1977; Spence et Smith 2006; Kurtzman *et al.* 2010). La lumière du soleil et la température semblent également influencer le développement et l'éclosion des œufs, car ces phénomènes s'accélèrent avec un éclairage adéquat et une température optimale (Laale 1977). Les œufs sont démersaux et, selon les conditions environnementales, l'éclosion survient généralement de trois à sept jours après la fertilisation (voir les étapes du cycle de vie à la figure 1.2) (Kimmel *et al.* 1995; Lawrence 2007). Le stade larvaire dure environ deux semaines, passant d'un stade métamorphosé à des juvéniles vers quatre semaines (Ribas et Piferrer 2014). Les deux mois suivants sont caractérisés par une croissance rapide, parfois exponentielle (Spence *et al.* 2007; Chen et Ge 2012 2013). En milieu naturel, ce phénomène coïncide avec les températures élevées et une plus grande disponibilité alimentaire caractéristiques de la saison des moussons (Ribas et Piferrer 2014).

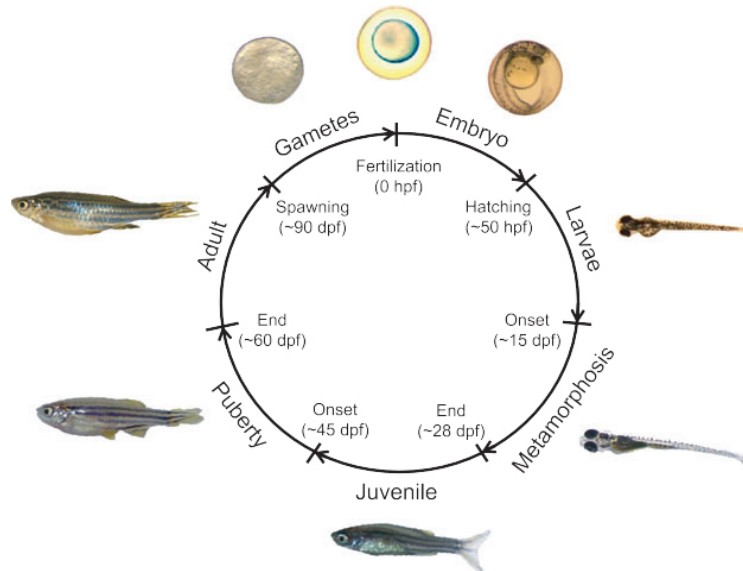


Figure 1.2. : Tirée de Ribas et Piferrer (2014). Cycle vital du poisson-zèbre élevé en laboratoire. nhaf = nombre d'heures après la fécondation; njaf = nombre de jours après la fécondation.

Les taux de croissance des souches domestiquées en laboratoire ont été signalés comme étant supérieurs à ceux des souches sauvages, et ces différences se maintiennent lorsque les deux souches sont élevées ensemble, les hybrides F1 présentant un taux de croissance intermédiaire entre les souches sauvages et les souches de laboratoire (Eaton et Farley 1974; Robison et Rowland 2005; Spence *et al.* 2007). Cela est probablement attribuable à la sélection involontaire d'une croissance rapide due à une plus grande abondance alimentaire en laboratoire ou en milieu de culture (Robison et Rowland 2005; Spence *et al.* 2008). Bien que les souches domestiquées aient une taille corporelle moyenne plus élevée que celle du type sauvage, la domestication n'a pas d'incidence significative sur la longueur corporelle maximale de l'espèce (Wright *et al.* 2006; Suriyampola *et al.* 2016). La domestication nuitrait plutôt à la croissance globale, le poisson-zèbre adulte de laboratoire mesurant en moyenne de 22 à 30 mm alors que le type sauvage peut atteindre 38 mm (Spence *et al.* 2007; Spence *et al.* 2008; Siccardi *et al.* 2009; Augustine *et al.* 2011; Yossa *et al.* 2011). La durée de vie moyenne du poisson-zèbre domestiqué est de 42 mois; le plus vieux survivant atteignant 66 mois. Aucune étude n'a été publiée sur la durée de vie du poisson-zèbre dans la nature (Spence *et al.* 2006).

1.4.6. Bagage génétique

Une analyse de la variation génétique au sein et entre les poissons-zèbres sauvages du Népal, de l'Inde et du Bangladesh a permis de comparer ces populations sauvages à plusieurs souches de laboratoire d'usage courant (Whiteley *et al.* 2011). L'examen de la variation génétique de près de 2 000 polymorphismes mononucléotidiques (PNS) et du gène mitochondrial du cytochrome B révèle que les populations sauvages se subdivisent en trois grandes classes d'ADN mitochondrial : Bangladesh et sud de l'Inde, centre du Népal et nord de l'Inde et régions est et ouest du Népal (voir aussi Gratton *et al.* 2004). Les interconnexions de nature physique et climatique (c.-à-d. le régime de mousson) entre lieux rapprochés géographiquement semblent avoir assuré un flux génétique élevé, ce qui a permis de maintenir au minimum la divergence au sein de ces groupes. Toute sous-structure observée a été attribuée à l'isolement par la distance ou à un effet direct des cours d'eau sur la dispersion. Des

études détaillées sur les causes potentielles de divergence entre les groupes ont été réalisées par Silas (1952), Daniels (2001), Gupta *et al.* (2003), Karanth (2003) et Whiteley *et al.* (2011).

Les origines des souches d'aquarium et de laboratoire sont souvent inconnues, bien que Whiteley *et al.* (2011) aient trouvé trois souches de laboratoire dérivées de deux populations d'aquarium provenant probablement de la région du Gange et du Brahmapoutre. La génomique des populations démontre que les populations sauvages sont génétiquement distinctes du poisson-zèbre de laboratoire et que, dans la plupart des cas, la variation génétique est beaucoup plus faible dans les souches de laboratoire que dans les souches sauvages (Spence *et al.* 2008; Coe *et al.* 2009; Whiteley *et al.* 2011). La diversité génétique des souches domestiquées peut varier grandement selon leur origine et les pratiques de dissémination.

1.4.7. Caractère envahissant

L'omniprésence du poisson-zèbre dans le commerce des aquariums et en recherche ne s'est pas traduite par une forte présence environnementale en dehors de son aire de répartition naturelle en Asie du Sud-Est. Compte tenu surtout de la capacité limitée du poisson-zèbre à s'adapter aux environnements froids, la plupart des cas non indigènes ont été recensés dans le sud des États-Unis. Un établissement local temporaire a été signalé au Nouveau-Mexique et des incidents isolés ont été rapportés en Californie, en Floride et au Connecticut (Nico *et al.* 2016), ainsi qu'en Colombie, bien que la situation actuelle ne soit pas connue (Welcomme 1998). Alors que l'on croyait que les individus des États du Sud provenaient de fermes du marché des poissons d'aquarium, souvent situées près du lieu de découverte, on croit que le cas au Connecticut serait attribuable au rejet des eaux d'un aquarium (Nico *et al.* 2016). Bien que l'éradication du poisson ait été confirmée au Nouveau-Mexique, rien n'indique que les autres rejets ont été un échec (Nico *et al.* 2016). Tuckett *et al.* (2017) ont trouvé des poissons-zèbres non transgéniques et des poissons-zèbres GloFish^{MD} dans des plans d'eau naturels à moins de 500 m de fermes de poissons d'aquarium en Floride, mais l'espèce n'a pas été trouvée à plus de 500 m des fermes, ce qui indique une faiblesse de dispersion, d'établissement et de dissémination après la libération. On recense un cas de libération et d'établissement intentionnels de poisson-zèbre dans au moins un bassin-réservoir japonais dans le [nord d'Okinawa](#).

1.4.8. Interactions trophiques (régime alimentaire, proies, concurrents, prédateurs)

Dans la nature, le régime alimentaire du poisson-zèbre adulte repose principalement sur le zooplancton et les insectes (Ribas et Piferrer 2014). L'analyse du contenu intestinal du poisson-zèbre dans son habitat naturel indique que son alimentation est surtout composée de zooplancton et d'insectes aquatiques; phytoplancton, algues filamenteuses, matière végétale vasculaire, œufs de puces d'eau et certains insectes et arachnides terrestres y ont également été retrouvés (Spence *et al.* 2007; Arunachalam *et al.* 2013). Il semble donc que le poisson-zèbre se nourrit directement dans toute la colonne d'eau et le substrat ainsi qu'à la surface de l'eau.

Le poisson-zèbre est une proie de diverses espèces de poissons (p. ex. tête-de-serpent, poisson-couteau, poisson-chat, aiguille), d'insectes (larve de libellule), d'oiseaux (martin-pêcheur, héron, aigrette) et de serpents d'eau prédateurs (Gerlai 2013; Parichy 2015; Suriyampola *et al.* 2016).

On connaît peu les espèces concurrentes des poissons-zèbres, mais certains ont été vus en banc avec *Rasbora* spp en milieu naturel. Les poissons-zèbres domestiqués ont changé leur comportement par rapport au poisson-zèbre non transgénique; ils se nourrissent davantage en

surface et leur réaction de sursaut est amoindrie (Robison et Rowland 2005), ce qui pourrait avoir une incidence sur la recherche de nourriture et le succès d'évitement des prédateurs.

1.5. CARACTÉRISATION DU MILIEU RÉCEPTEUR POTENTIEL

Leggatt *et al.* (2018a) offrent une caractérisation détaillée des milieux récepteurs potentiels au Canada dans le contexte de l'introduction de poissons tropicaux d'eau douce.

Bien que les profils de température annuels de nombreux lacs et cours d'eau du Canada varient, tout comme les températures minimales et maximales moyennes, la plupart atteignent 4 °C ou moins, à un moment ou à un autre de l'année, et seuls quelques lacs isolés situés dans le sud de la région côtière de la Colombie-Britannique affichent des températures minimales supérieures à cette valeur. Par conséquent, si un poisson introduit ne peut survivre à 4 °C ou moins, sa présence dans l'environnement canadien sera, au mieux, saisonnière. Soulignons toutefois que les températures moyennes des eaux douces de surface au Canada augmente en raison des changements climatiques, et qu'elle devrait connaître une hausse de 1,5 à 4,0 °C au cours des 50 prochaines années (MPO 2013). Par conséquent, les tendances de température locales et à long terme doivent être prises en compte dans l'évaluation des risques pour l'environnement des organismes nouveaux et peuvent constituer un facteur d'incertitude dans les évaluations des risques.

1.6. SOMMAIRE

La formulation du problème fournit une base pour l'évaluation des risques en déterminant les objectifs de protection environnementale et la portée de l'étude. Elle permet aussi de définir les objectifs de protection et les paramètres d'évaluation correspondant aux objectifs de protection légaux de la LCPE. En outre, l'organisme déclaré y est dans le cadre la définition caractérisée ainsi que les espèces de comparaison et le milieu récepteur potentiel canadien.

L'organisme déclaré (YZ2018) est un poisson-zèbre (*D. rerio*) génétiquement modifié; il possède plusieurs copies d'une cassette d'expression qui lui donne une coloration jaune orange générale sous la lumière ambiante, y compris à la lumière du soleil. Parmi les autres changements apportés à l'organisme, mentionnons une diminution de la tolérance aux températures froides et du succès reproducteur par rapport à une espèce comparable appropriée.

L'espèce de comparaison, le poisson-zèbre non transgénique, est une espèce tropicale d'eau douce, originaire du sous-continent indien (Lessman 2011). Ce poisson d'aquarium populaire est vendu dans toutes les animaleries au Canada et ne présente pas de comportement d'envahissement.

La plupart des lacs et des cours d'eau du Canada atteignent une température de 4 °C ou moins à un moment donné de l'année. Cela limitera la persistance de tout poisson tropical d'eau douce, qui ne survit pas à cette température ou en deçà.

PARTIE 2 : ÉVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT

2.1. OBJET DE LA PARTIE 2

La partie 2 du présent document présente l'évaluation des risques pour l'environnement réalisée en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*, 1999 (LCPE) pour le poisson-zèbre GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD} (YZ2018), variante dorée du poisson-zèbre rayé (*D. rerio*) génétiquement modifié et déclaré par GloFish LLC en vertu du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)].

L'évaluation des risques pour l'environnement de l'YZ2018, également connu sous le nom de poisson-zèbre GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD}, a fait l'objet d'un examen scientifique par les pairs et a été réalisée à l'intérieur de la période de 120 jours définie par le RRSN(O) pour les avis remis conformément à l'annexe 5.

2.2. ÉVALUATION DE L'EXPOSITION

L'évaluation de l'exposition pour l'YZ2018 aborde tant la probabilité de le voir pénétrer dans l'environnement (rejet) que son devenir (survie, reproduction, propagation et dissémination) une fois dans ce dernier. La probabilité et l'ampleur de l'exposition environnementale sont déterminées par l'intermédiaire d'une évaluation approfondie du berceau à la tombe qui détaille les potentiels de rejet, de survie, de persistance, de reproduction, de prolifération et de dissémination de l'organisme dans l'environnement canadien. Le tableau 2.1 présente le classement de la probabilité d'exposition de l'environnement canadien.

Tableau 2.1 : Classement de la probabilité d'exposition de l'environnement canadien à l'organisme.

Classement de l'exposition	Évaluation
Négligeable	Aucune occurrence; aucune observation ¹
Faible	Présence rare, isolée ou éphémère
Modérée	Présence fréquente, mais seulement à certaines périodes de l'année ou dans des régions isolées
Élevée	Présence fréquente tout au long de l'année et dans diverses régions

¹extrêmement improbable ou imprévisible

L'absence de données empiriques sur la survie, la valeur adaptative et la capacité de reproduction de l'YZ2018 dans l'environnement naturel contribue à l'incertitude dans l'évaluation de l'exposition. L'incertitude quant au devenir environnemental d'un organisme peut dépendre de la disponibilité et de la qualité des données scientifiques sur les paramètres biologiques et écologiques de l'organisme, les substituts valides et le milieu récepteur. Le tableau 2.2 présente le classement de l'incertitude associée à la probabilité de présence de l'organisme et à son devenir dans l'environnement canadien.

Tableau 2.2 : Classement de l'incertitude associée à la probabilité de la présence de l'organisme et à son devenir dans l'environnement canadien (exposition de l'environnement).

Classement de l'incertitude	Renseignements disponibles
Négligeable	Données de grande qualité sur l'organisme (p. ex. stérilité, tolérance aux températures, valeur adaptative). Données relatives aux paramètres environnementaux du milieu récepteur et au point d'entrée. Preuve de l'absence d'interactions génotype-environnement (GxE) ou parfaite compréhension de ces derniers dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Signes d'une faible variabilité.
Faible	Données de grande qualité sur des organismes apparentés ou des substituts valides. Données sur les paramètres environnementaux du milieu récepteur. Compréhension des interactions GxE potentiels dans différentes conditions environnementales pertinentes. Signes de variabilité.
Modéré	Données limitées sur l'organisme, les organismes apparentés ou les substituts valides. Données limitées concernant les paramètres environnementaux du milieu récepteur. Lacunes dans les connaissances. Dépendance à l'égard de l'historique de l'utilisation ou l'expérience avec des populations dans d'autres zones géographiques présentant des conditions environnementales semblables ou meilleures qu'au Canada. Manque ou absence de compréhension des interactions GxE dans l'ensemble des conditions environnementales pertinentes.
Élevé	Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts.

2.2.1. Probabilité de rejet

Bien que l'organisme soit destiné à la vente sur le marché des poissons d'ornement et que la plupart des amateurs qui achètent le produit suivent les instructions d'élimination recommandées par le détaillant ou la société elle-même, il est fort probable que l'YZ2018 sera introduit dans l'environnement canadien. De nombreux poissons d'aquarium se sont établis dans des milieux naturels en Amérique du Nord; des cas isolés témoignent de la présence de poissons d'aquarium dans les eaux canadiennes et il y a lieu de croire que le rejet de ces organismes dans l'environnement est pratique courante (Dumont *et al.* 2002). En effet Rixon *et al.* (2005) et Kerr *et al.* (2005) mentionnent le secteur de l'aquariophilie amateur comme source importante d'introduction d'organismes aquatiques exotiques dans le bassin des Grands Lacs. Dans le nord-ouest du Pacifique, Strecker *et al.* (2011a) estiment que les aquariophiles rejettent annuellement 2 500 poissons dans la région du détroit de Puget, et un sondage mené

après des propriétaires de poissons d'aquarium en Ontario révèle que 2 % des poissons ornementaux non désirés sont rejetés dans l'environnement (Marson *et al.* 2009). Une fois l'organisme rendu sur le marché de détail, il n'est plus sous le contrôle direct de l'importateur et rien ne garantit le respect des mesures de confinement et d'élimination appropriées. Par conséquent, il convient d'évaluer l'YZ2018 selon un scénario de rejet complet. Le degré d'exposition de l'organisme à l'environnement dépendra donc fortement de sa capacité à survivre et à se reproduire dans les lacs et les rivières du Canada. Même si chaque rejet devrait être minime, la possibilité de rejets plus importants découlant d'achats plus gros, ou de l'élevage d'YZ2018 dans les aquariums de particuliers ne peut pas être exclue.

2.2.2. Probabilité de survie

La température de l'eau est un facteur abiotique clé qui influe sur la survie et la reproduction de la plupart des populations de poissons d'eau douce; c'est aussi un facteur important dans la détermination de l'adéquation de l'habitat (Magnuson *et al.* 1979; Jobling 1981; Elliott et Elliott 2010). Comme le poisson-zèbre est une espèce tropicale, il ne devrait pas pouvoir survivre en région tempérée où la température de l'eau est inférieure à la température optimale pour sa survie. Bien que sa température optimale de reproduction se situe entre 26 et 28,5 °C, l'espèce tolère de grandes variations thermiques dans son aire de répartition naturelle, soit de 6 °C en hiver à plus de 38 °C en été (Spence *et al.* 2008; López-Olmeda et Sánchez-Vázquez 2011; Arunachalam *et al.* 2013; Little *et al.* 2013). En laboratoire, les poissons-zèbres adultes non transgéniques et les poissons-zèbres transgéniques (avec un gène codant une protéine fluorescente) survivent tous deux à une large gamme de températures, qui va de 5,3 à 41,7 °C et de 5,6 à 41,4 °C, respectivement (Essner 2003; Cortemeglia et Beitinger 2005, 2006a; Schaefer et Ryan 2006). Puisque de nombreuses études de tolérance thermique sont réalisées en laboratoire où les propriétés abiotiques et biotiques peuvent différer de celles trouvées dans la nature, des études ont été réalisées sur le terrain pour confirmer la tolérance au froid du poisson-zèbre (Cortemeglia *et al.* 2008; Ribas et Piferrer 2014). Ces études ont montré que les poissons-zèbres non transgéniques et transgéniques ne survivraient pas dans des eaux à 5 °C ou moins et que leur survie est peu probable durant l'hiver canadien.

Les données recueillies par le MPO sur le potentiel d'hivernage du poisson-zèbre transgénique au Canada indiquent une plage de températures létales minimales de 6,6 à 4,8 °C pour le poisson-zèbre doré (voir la figure 2.1), alors que les lignées non transgéniques et transgéniques de poisson-zèbre produites aux fins de la recherche se déstabilisent entre 5,38 et 5,90 °C en moyenne (voir la figure 2.2) et ne peuvent survivre à long terme à 6 °C (Leggatt *et al.* 2018b), même si la tolérance thermique peut varier selon différents stades de vie. Selon des études en laboratoire, les climats tempérés inférieurs à 24 °C peuvent affecter la reproduction, modifier le sex-ratio et induire des anomalies de développement à divers stades embryonnaires et larvaires (Schirone et Gross, 1968; Barrionuevo et Burggren 1999; Hallare *et al.* 2005); Sfakianakis *et al.* 2012). Par conséquent, les poissons-zèbres transgéniques testés ne devraient pas survivre à l'hiver dans les écosystèmes aquatiques canadiens (Leggatt *et al.* 2018b).

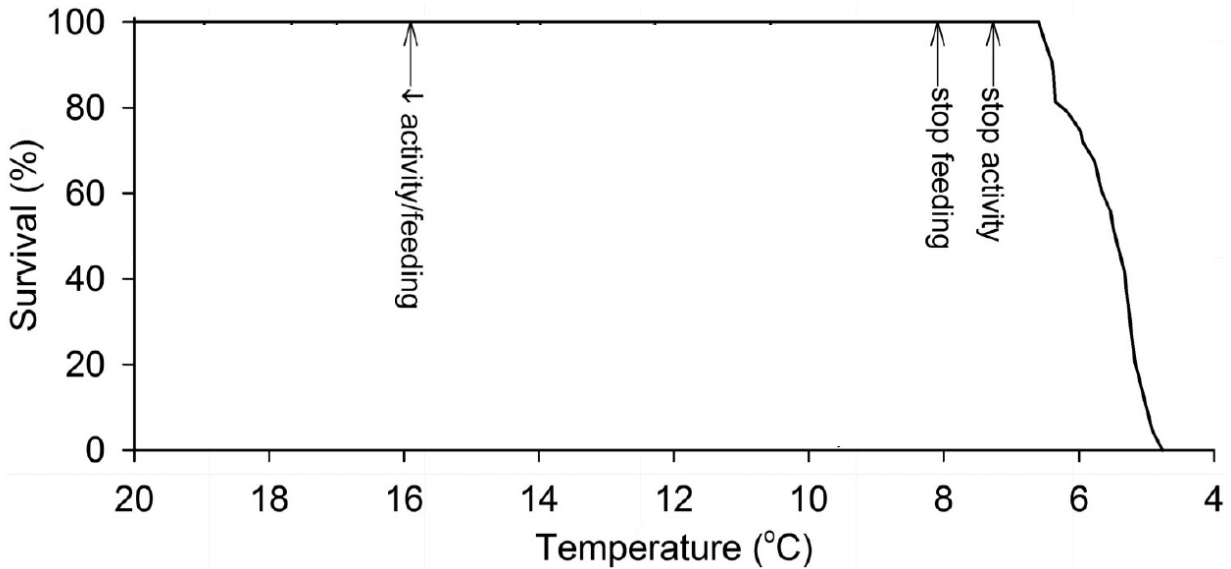


Figure 2.1. : Survie et changements d'activité et de niveau d'alimentaire chez la variété dorée non transgénique lorsque la température est abaissée progressivement de 20 °C à un rythme de 1 °C par jour (40 poissons-zèbres, *Danio rerio*, répartis dans deux réservoirs). Figure modifiée à partir de Leggatt et al. 2018b.

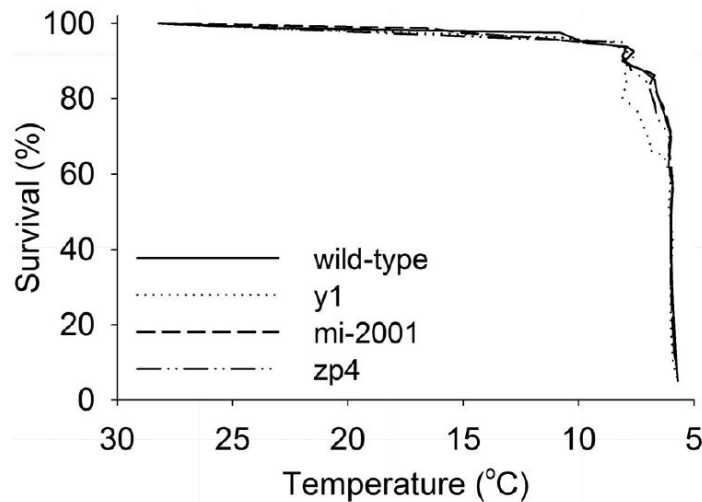


Figure 2.2. : Survie à une exposition graduelle au froid de trois lignées de poissons-zèbres (*Danio rerio*) transgéniques (*y1*, *mi2001*, *zp4*) à la protéine verte fluorescente et leur lignée de progéniteurs non transgéniques (AB). La température a été abaissée de 28 à 12 °C à un rythme d'environ 1 °C par jour, puis de 12 à 5,1 °C à un rythme d'environ 0,1 °C par jour (80 poissons-zèbres par lignée, répartis dans quatre réservoirs). Figure modifiée à partir de Leggatt et al. 2018b.

GloFish^{MD} Technologies a également effectué des recherches sur la tolérance thermique inférieure du poisson-zèbre doré et de l'YZ2018 et a fourni des données tirées de ses expériences dans son dossier de déclaration. Ces expériences concluent que la tolérance thermique inférieure de l'YZ2018 est significativement plus élevée que celle du poisson-zèbre doré non transgénique lorsque les températures baissent rapidement. Bien que la température

létale inférieure observée ait varié de 4,4 à 7,9 °C, le changement rapide de la température peut ne pas être représentatif d'un système naturel et permettre d'atteindre des températures plus basses. Quelle que soit la différence en termes de méthodologie et de résultats, lorsque ces études sont examinées ensemble, il est raisonnable de conclure que le poisson-zèbre doré et l'YZ2018 ne peuvent survivre à des températures inférieures à 4 °C et ne peuvent probablement pas survivre à long terme à des températures inférieures à 6 °C.

Comme cela a été mentionné dans la formulation du problème (voir Caractérisation du milieu récepteur potentiel), aucun lac au Canada ne demeure au-dessus de 6 °C pendant une année entière et presque tous ne restent pas au-dessus de 4 °C tout au long de l'année. Par conséquent, même si les températures nécessaires à la survie de l'YZ2018 peuvent être observées dans plusieurs lacs canadiens au cours du printemps, de l'été et de l'automne, il est très peu probable que l'YZ2018 puisse survivre à l'hiver canadien. Au mieux, sa présence dans l'environnement serait saisonnière ou éphémère. En Floride, Tuckett *et al.* (2017) ont observé des poissons-zèbres dans des systèmes naturels, mais seulement à proximité (500 m) d'installations d'aquaculture ornementale d'où ils se sont vraisemblablement échappés. Selon les auteurs, l'absence de dispersion observée peut être attribuable à la fraîcheur relative de l'eau en Floride subtropicale, aux poissons prédateurs et à d'autres facteurs physiques ou biologiques liés à l'habitat.

Soulignons toutefois que la température moyenne à la surface des eaux douces au Canada augmente en raison des changements climatiques, et qu'elle devrait connaître une hausse de 1,5 à 4,0 °C au cours des 50 prochaines années (MPO 2013). Par conséquent, les températures minimales annuelles de certains lacs canadiens pourraient un jour être tolérables pour les poissons-zèbres, ce qui leur permettrait de survivre à l'hiver, à condition d'avoir accès aux ressources nécessaires. Si cela devait se produire, le statut de l'organisme pourrait devoir être réévalué.

2.2.3. Probabilité de reproduction

Même si les températures de l'eau au Canada limiteront la présence de spécimens YZ2018 dans l'environnement (voir la section 2.2.2), ceux-ci pourraient encore avoir le temps de se reproduire s'ils sont introduits au début d'une saison chaude. Par exemple, le lac Osoyoos de l'intérieur de la Colombie-Britannique est l'un des plus chauds au Canada l'été, sa température moyenne se situant entre 20 et 25 °C environ deux mois par année (de la mi-juillet à la mi-septembre (BCLSS 2013). Bien qu'il s'agisse d'une plage de températures idéale pour la survie du poisson-zèbre, sa reproduction demande des températures idéales plus élevées (27-30 °C) (López-Olmeda et Sánchez-Vázquez 2011). Les poissons-zèbres peuvent être prolifiques si les conditions sont idéales. Dans la nature, le poisson-zèbre produit des larves d'avril à août, la ponte coïncidant avec le début de la saison des moussons en août (Spence *et al.* 2007; Ribas et Piferrer 2014). Le changement de saison constituerait donc le principal facteur d'influence des comportements reproducteurs. En outre, la disponibilité alimentaire est probablement un facteur aussi important de réussite en matière de reproduction puisque des femelles gravides ont été trouvées dans la nature en janvier (à l'intérieur de leur aire de répartition), tandis que les poissons-zèbres élevés frayent toute l'année (Spence *et al.* 2006; Spence *et al.* 2007; Clelland et Peng 2009). Les poissons-zèbres recourent à une fécondation externe par dispersion de leurs œufs et, par conséquent, se reproduisent avec succès dans des réservoirs dotés de substrats qui protègent les œufs des parents puisque les poissons-zèbres consomment leurs propres embryons et ne fournissent aucun soin parental (Axelrod et Vorderwinkler 1976; Mills et Vevers 1989; Hill et Yanong 2002; Spence et Smith 2006). Dans la nature, normalement, l'aube venue, les femelles matures dispersent des amas d'œufs au-dessus du substrat, dans les herbes aquatiques, en eaux peu profondes et ne fournissent

aucun soin parental d'accompagnement (Sessa *et al.* 2008; Adatto *et al.* 2011). Le frai a lieu tous les quatre à sept jours, mais des pontes plus massives ont été observées chez les poissons d'élevage lorsque l'intervalle entre deux pontes dépasse dix jours (Niimi et LaHam 1973; Laale 1977). L'âge de maturité sexuelle survient dans les 75 jours suivants lorsque les femelles atteignent une longueur moyenne d'environ 25 mm (Eaton et Farley 1974; Laale 1977). Par conséquent, toute reproduction se limiterait à une courte période de possibilités pendant l'été, peu importe l'âge au moment de l'introduction. Un spécimen YZ2018 introduit dans le lac Osoyoos au début du mois de juillet disposerait de deux mois dans un nouvel environnement pour trouver l'habitat et les ressources nécessaires à la reproduction, ainsi que les congénères avec lesquels se reproduire. Bien que les œufs fertilisés qui ne sont pas consommés comme aliments puissent éclore dans un laps de temps relativement court (3 à 7 jours) (Kimmel *et al.* 1995; Lawrence 2007), aucun descendant n'atteindrait la maturité avant l'arrivée des températures plus fraîches et ne survivrait à l'hiver. Bien qu'il puisse y avoir des possibilités isolées de reproduction dans l'environnement canadien, il est peu probable qu'il y ait plus d'une génération dans l'environnement.

Des hybrides interspécifiques ont été observés entre les espèces *D. rerio* et *D. albolineatus* (synonyme : *Brachydanio albolineatus*, nom courant : danio perlé) (Axelrod et Vorderwinkler 1976). Bien que des hybrides des deux espèces ont été trouvés, les hybrides F1 sont stériles. Plusieurs genres de poisson de la famille des cyprinidés sont présents au Canada, mais on ne sait pas si certains pourraient réussir à se reproduire avec le poisson-zèbre. Le déclarant a indiqué que cela semble peu probable vu les différences en matière d'adaptation. En outre, les données du déclarant suggèrent que l'YZ2018 a un succès reproducteur inférieur à celui des poissons-zèbres dorés non transgéniques, ce qui le rend encore moins susceptible de s'accoupler avec succès avec les cyprinidés indigènes.

2.2.4. Probabilité de prolifération et de dissémination

L'YZ2018 ne peut proliférer et se disséminer dans l'environnement canadien, puisque le poisson-zèbre ne peut survivre à l'hiver. Mentionnons que les spécimens d'YZ2018 relâchés occuperaient probablement des zones proches du rivage, d'après ce que l'on sait de l'habitat de prédilection de l'espèce non transgénique dans la nature (voir la section 1.4.3). On s'attend à ce que ces zones présentent des variations de température plus extrêmes que les eaux profondes ou la partie médiane des lacs, où sont souvent prises les mesures de la température de l'eau (Trumpikas *et al.* 2015). Les températures estivales peuvent être plus chaudes et les températures hivernales peuvent être plus froides que ne l'indiquent les données enregistrées, ce qui réduirait d'autant plus le potentiel d'hivernage de l'YZ2018. Le potentiel d'établissement dans des poches thermiques isolées (p. ex. sources thermales, effluents industriels) devrait être faible et limité à des zones très localisées (voir Leggatt *et al.* 2018a).

2.2.5. Conclusions

Au vu de l'analyse ci-dessus, la présence de l'YZ2018 dans l'environnement canadien devrait être rare, isolée et éphémère, et ne représenter que peu d'individus. Par conséquent, la probabilité d'exposition de l'environnement canadien à l'YZ2018 est considérée comme **faible** selon le tableau 2.1. L'incertitude associée à cette estimation est **faible** (tableau 2.2), compte tenu de la qualité des données disponibles sur l'YZ2018 et sur les substituts valides (températures tolérées), ainsi que des données dont on dispose sur les paramètres environnementaux du milieu récepteur au Canada.

L'entreprise déclarante indique que la seule utilisation prévue de l'organisme déclaré est celle de poisson d'ornement d'intérieur destiné aux aquariums domestiques fixes. Cependant, une fois ces poissons achetés par les consommateurs, les autres utilisations non prévues ne

peuvent être écartées. Certaines utilisations non prévues pourraient mener à la libération de poissons-zèbres YZ2018, mais elles ne devraient pas modifier la capacité de cet organisme à passer l'hiver dans un environnement canadien ni le faible niveau d'exposition de l'environnement à cet organisme.

L'évolution des courbes de température de l'eau liée au changement climatique mondial pourrait accroître l'incertitude concernant l'évaluation de la capacité de l'organisme déclaré à survivre, à se reproduire, à proliférer et à se disséminer dans les écosystèmes d'eau douce canadiens.

2.3. ÉVALUATION DES DANGERS

L'évaluation des dangers vise à déterminer les effets susceptibles de découler d'une exposition environnementale à l'YZ2018. Le processus d'identification des dangers tient compte des voies possibles des dommages, y compris ceux liés à la toxicité environnementale (c.-à-d. le potentiel d'être toxique), à la transmission de gènes, aux interactions trophiques, en tant que vecteur d'agents pathogènes, ainsi qu'à la capacité d'influer sur les composantes de l'écosystème (p. ex. habitat, cycle nutritif, biodiversité). Dans le tableau 2.3, le classement de la gravité des conséquences biologiques est décrit en fonction de la gravité et de la réversibilité des effets sur la structure et la fonction de l'écosystème. Toute différence dans les paramètres de mesure est évaluée par rapport à la variation « normale », selon les études publiées et les opinions des experts.

En raison d'un manque de données empiriques sur le comportement et la valeur adaptative de l'YZ2018 dans l'environnement naturel, il faut porter particulièrement attention aux facteurs d'incertitude dans le cadre de l'évaluation des dangers. L'incertitude entourant l'évaluation des dangers peut être importante en raison des lacunes dans les connaissances et des données empiriques insuffisantes sur le comportement et les effets de l'YZ2018 lorsqu'il est dans l'environnement naturel. Les paramètres d'évaluation de l'incertitude portent sur les effets potentiels sur l'environnement, qui peuvent s'appuyer fortement sur l'information et les données figurant dans la documentation scientifique publiée et évaluée par les pairs. Le tableau 2.4 décrit les classements relatifs à l'incertitude concernant les dangers potentiels posés par l'organisme dans l'environnement.

Tableau 2.3. : Classement du danger pour l'environnement découlant de son exposition à l'organisme.

Classement du danger	Évaluation
Négligeable	Aucun effet ¹
Faible	Aucun effet nocif ²
Modéré	Effets nocifs réversibles
Élevé	Effets nocifs irréversibles

¹Aucune réponse biologique au-delà de la variabilité naturelle n'est attendue. ²Effet nocif : Effet négatif immédiat ou à long terme sur la structure ou la fonction de l'écosystème, y compris la diversité biologique au-delà de la variabilité naturelle.

Tableau 2.4 : Classement du niveau d'incertitude associé au danger pour l'environnement.

Classement du niveau d'incertitude	Renseignements disponibles
Négligeable	Données de grande qualité sur l'YZ2018. Preuve de l'absence des interactions génotype-environnement (GxE) ou parfaite compréhension de ces derniers dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Signes d'une faible variabilité.
Faible	Données de grande qualité sur des organismes apparentés ou des substituts valides de l'YZ2018. Compréhension des effets des interactions GxE dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Une certaine variabilité.
Modéré	Données limitées sur des organismes apparentés ou des substituts valides de l'YZ2018. Compréhension limitée des effets des interactions GxE dans les conditions environnementales pertinentes. Lacunes dans les connaissances. Dépendance à l'égard de l'opinion des experts.
Élevé	Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts.

Dans ce contexte, la qualité des données renvoie aux données ou aux renseignements disponibles pour chaque paramètre examiné, à l'intégration de ces renseignements et à l'étendue des conditions expérimentales examinées, à la taille de l'échantillon, au caractère approprié des témoins, à l'analyse statistique ainsi qu'au plan expérimental et à l'interprétation des résultats. La variabilité réfère à la gamme de différences phénotypiques parmi les individus ou les souches du même environnement ainsi qu'à l'éventail de conditions physiques, chimiques et biologiques auxquelles un poisson génétiquement modifié peut être exposé dans le milieu récepteur.

L'utilisation proposée de l'YZ2018 au Canada (importation et transport dans des conteneurs fixes, entreposage dans des aquariums fixes de grossistes et de détaillants, élevage dans des aquariums fixes de résidences) minimise les séquences des effets de l'YZ2018 sur l'environnement canadien. La majorité des dangers posés par l'YZ2018 (p. ex. interactions avec d'autres organismes, vecteur de maladie, conséquences sur le cycle biogéochimique, l'habitat et la biodiversité) serait causée par une introduction directe du poisson dans des écosystèmes aquatiques naturels bien que certains dangers puissent en découler indirectement, par le rejet d'eaux usées ou de carcasses (p. ex. toxicité pour l'environnement, transmission horizontale de gènes).

Le Centre de recherche sur la réglementation de la biotechnologie aquatique du MPO a réalisé beaucoup de recherches en laboratoire sur la valeur adaptative et le comportement des poissons génétiquement modifiés pour aider à estimer la valeur adaptative de ceux-ci dans l'environnement naturel en utilisant et en comparant les résultats d'expériences réalisées dans des aquariums, des cours d'eau semi-naturels et des mésocosmes, alors plusieurs des sources

d'incertitude sont bien comprises (voir Devlin *et al.* 2015). Bien que la recherche ne puisse être réalisée sur l'organisme en tant que tel, elle a permis de cerner plusieurs principes généraux qui peuvent s'appliquer à l'organisme et qui représentent des sources d'incertitude potentielles indiquant jusqu'à quel point il est possible de se fier aux données de laboratoire sur le comportement des poissons GM lorsqu'ils sont dans un environnement naturel. Les résultats de ces recherches sont décrits ci-dessous :

- L'environnement d'élevage des poissons peut influencer grandement sur l'expression phénotypique du transgène (Sundström *et al.* 2007). L'influence de l'environnement d'élevage limite la capacité à extrapoler les données de laboratoire utilisées comme indications fiables du comportement des poissons génétiquement modifiés (p. ex. concurrence, survie) dans un environnement naturel à moins qu'il soit possible de démontrer que les poissons non transgéniques témoins élevés en laboratoire se comportent de la même façon que les poissons non transgéniques dans la nature et qu'il n'y a pas interactions génotype-environnement (GxE) entre les poissons non transgéniques et ceux génétiquement modifiés ou que celles-ci sont bien définies. En l'absence de telles données de contrôle, il existe une incertitude quant au degré de fiabilité des données de laboratoire utilisées comme indications fiables du comportement des poissons dans la nature;
- Les effets phénotypiques du transgène peuvent varier de façon importante en fonction du bagage génétique du parent (p. ex. espèce non transgénique par rapport à une espèce domestiquée). Par exemple, la performance d'un poisson non transgénique doté d'une construction du gène de l'hormone de croissance peut être très différente de la performance d'un poisson domestiqué de la même espèce dans laquelle la même construction a été inséré (p. ex. Devlin *et al.* 2001). Les organismes de réglementation doivent donc étudier de près le bagage génétique des témoins des expériences pour évaluer la validité scientifique des données expérimentales afin de déterminer si le phénotype est durable au sein des multiples génotypes observables en milieu naturel. Les données expérimentales sur l'expression d'un transgène chez une espèce ou une souche doivent être interprétées avec précaution parce qu'elles peuvent ne pas être représentatives de l'expression du même transgène chez une autre espèce ou souche; et
- Un transgène peut entraîner plusieurs expressions phénotypiques appelées « effets pléiotropiques ». Par exemple, des données empiriques démontrent que l'augmentation de croissance attribuable à la transgénèse chez certaines espèces de poissons peut aussi avoir des conséquences sur la résistance aux maladies (Jhingan *et al.* 2003). Donc, si le responsable de l'étude ne dirige pas son attention spécifiquement vers un effet non ciblé, celui-ci peut demeurer non détecté. Il convient également de noter que différents types de gènes modifiés peuvent avoir des effets pléiotropiques très différents. Par exemple, la modification d'une caractéristique de valeur adaptative principale, comme la taille ou le taux de croissance, devrait avoir des conséquences importantes pléiotropiques ou sur la valeur adaptative pour toutes les caractéristiques liées à la croissance tandis que les répercussions de nature pléiotropique pour des caractéristiques secondaires comme la couleur des yeux ou la pigmentation de la chair peuvent être limitées.

2.3.1. Dangers potentiels liés à la toxicité pour l'environnement

Leggatt *et al.* (2018a) ont présenté une analyse détaillée du potentiel de toxicité environnementale au Canada associé à l'introduction de poissons d'eau douce tropicaux transgéniques fluorescents. Les voies potentielles de toxicité environnementale comprennent l'exposition des écosystèmes aquatiques à l'animal en entier et à ses déchets, ainsi que son ingestion par des prédateurs. L'exposition de l'environnement à la protéine fluorescente devrait être plus faible que l'exposition de la protéine à l'YZ2018, mais les différentes voies d'exposition

ne sont pas forcément comparables. Les protéines fluorescentes sont souvent utilisées comme marqueurs neutres en recherche scientifique, et ce, chez une grande variété d'organismes; très peu d'effets toxiques ont été rapportés dans le cadre de cette utilisation (Stewart 2006). Les rares signalements d'effets négatifs étaient généralement propres aux organismes transgéniques ayant un niveau d'expression élevé des transgènes fluorescents (Huang *et al.* 2000; Devgan *et al.* 2004; Guo *et al.* 2007). Les effets toxiques sur les organismes hôtes sont probablement dus à la production de protéines dans la cellule hôte et on ne s'attend pas à des effets similaires suite à l'exposition par contact ou par ingestion.

La déclaration comprend un rapport analysant l'allergénicité de la séquence d'acides aminés de la protéine fluorescente sur [Allermatch](#). Cette analyse n'a révélé aucune similitude fonctionnelle avec des séquences d'acides aminés allergènes connues pour les humains. Après plusieurs années de production commerciale aux États-Unis, aucun effet toxique découlant d'une exposition à l'YZ2018 n'a été signalé. Par conséquent, le danger potentiel pour l'environnement lié à la toxicité de l'YZ2018 est jugé **négligeable**. L'incertitude liée à ce classement est **modérée** en raison des données directes limitées sur les organismes déclarés ou les organismes substitués, et du recours à des preuves anecdotiques et indirectes provenant d'autres organismes.

2.3.2. Dangers potentiels liés à la transmission horizontale de gènes

Leggatt *et al.* (2018a) présentent une évaluation détaillée du potentiel de transmission horizontales de gènes (THG) au Canada en ce qui concerne l'introduction de poissons tropicaux d'eau douce. Ce phénomène consiste en l'échange non sexuel de matériel génétique entre des organismes de la même espèce ou d'espèces différentes (MPO 2006). Les voies d'exposition de l'ADN transgénique libre à de nouveaux organismes (procaryotes pour la plupart) comprennent l'exposition à l'intérieur des intestins de l'YZ2018, ou par les excréments, le mucus et d'autres déchets rejetés par le poisson dans l'eau. La construction transgénique ne contient pas de vecteur viral, d'éléments transposables ou d'autres facteurs connus qui pourraient accroître le potentiel d'absorption ou de mobilité de l'ADN vers un nouvel organisme. Pour que le transgène s'exprime chez un nouvel organisme, il doit y avoir co-transfert des éléments régulateurs ou insertion de la région codante à proximité fonctionnelle des éléments régulateurs d'origine. La forte proximité des promoteurs avec le gène *zsYellow1* pourrait accroître la probabilité de co-transfert et d'expression, mais les promoteurs des vertébrés présentent généralement une faible activité chez les procaryotes.

Des gènes codants des protéines fluorescentes ont été introduits dans un large éventail d'organismes, et seuls quelques cas d'effet nocif découlant de l'introduction du transgène fluorescent ont été signalés. Il y a donc lieu de penser que l'introduction du transgène par THG dans un nouvel hôte ne devrait pas entraîner d'effet nocif. Même si l'introduction d'un transgène fluorescent par THG dans un autre organisme présent dans un environnement canadien ne peut être exclue, le danger est jugé **faible** en raison de l'absence d'effet nocif lié à un tel phénomène. Bien que le transgène soit bien défini, la connaissance limitée de l'emplacement du transgène dans le génome du poisson-zèbre ainsi que l'absence d'études sur la THG du transgène et l'expression en résultant donnent lieu à une incertitude **modérée**.

2.3.3. Dangers potentiels liés aux interactions avec d'autres organismes

Les interactions trophiques du *D. rerio* non transgénique dans son aire de répartition d'origine ne sont pas bien documentées (voir la section 1.4.8). C'est le cas également des interactions trophiques du poisson d'ornement non transgénique échappé ou du *D. rerio* YZ2018 dans d'autres régions. Si des YZ2018 étaient introduits dans l'environnement, ils pourraient interagir

avec d'autres organismes présents dans les écosystèmes d'eau douce canadiens, dont de possibles proies, concurrents et prédateurs.

Le poisson-zèbre est omnivore et se nourrit de zooplancton, de phytoplancton, d'insectes et de larves d'insectes, de vers et de petits crustacés. Dans un aquarium, il se nourrira d'aliments vivants (p. ex. crevettes des salines, *Artemia* sp), ainsi que de flocons de poisson d'ornement et de très petits poissons (p. ex. larves) du commerce (Westerfield 2000; Avdesh *et al.* 2012). Par conséquent, il peut affecter les populations localisées de petites proies sur le lieu de son introduction. L'incidence d'un tel phénomène sur ces populations n'a pas été étudiée. L'introduction d'YZ2018 pourrait affecter d'autres petites espèces de prédateurs par concurrence. Bien que la capacité concurrentielle de l'YZ2018 n'ait pas été étudiée, dans le commerce des poissons d'aquarium on dit généralement du poisson-zèbre qu'il est robuste, adapté aux aquariophiles débutants et bien ajusté aux autres espèces de poisson de l'aquarium. Il convient de faire état d'une étude menée avec le GloFish^{MD} sur la persistance d'un transgène sur plusieurs générations en présence de poissons-zèbres non transgéniques (Howard *et al.* 2015). Les mâles non transgéniques affichent un comportement agressif lorsqu'ils s'accouplent avec des femelles, ce qui exclut les mâles transgéniques et applique une pression sélective aboutissant à la disparition du transgène (Howard *et al.* 2015). Par conséquent, l'YZ2018 ne devrait pas avoir une forte capacité d'affecter les populations indigènes par une capacité concurrentielle marquée. Une étude non publiée du MPO a révélé qu'une souche de tétras GloFish^{MD} ne différait pas par son succès concurrentiel ou son comportement agressif de ses congénères non transgéniques (R. Leggatt, MPO, comm. pers.). La température optimale suggérée pour la santé et l'activité du poisson-zèbre élevé en aquarium d'ornement varie d'environ 24 à 28 °C (voir la section 1.4.4.2). Bien que les températures estivales de l'eau peuvent se situer dans cette fourchette dans de nombreux écosystèmes aquatiques au Canada, elles devraient baisser fortement le reste de l'année. Les poissons-zèbres non transgéniques diminuent leur niveau d'activité et d'alimentation aux environs de 16 °C, et cessent de se nourrir et de bouger sous 8 °C (Leggatt *et al.* 2018b, voir la figure 2.2). Étant donné que les niveaux d'activité et d'alimentation des poissons-zèbres diminuent avec la baisse de la température, on s'attend également à ce que leur incidence sur les proies et les concurrents diminue. Des recherches menées par GloFish^{MD} Technologies démontrent que l'YZ2018 est moins tolérant au froid que le poisson-zèbre doré non transgénique (voir la section 2.2.2). Compte tenu des faibles températures prévues presque toute l'année dans les écosystèmes d'eau douce du Canada, les possibles répercussions négatives d'YZ2018 sur les espèces aquatiques indigènes, par prédation ou compétition, devraient être négligeables presque toute l'année, et ne pas être plus importantes que celles des autres petites espèces de poissons en été.

Il n'y a pas d'étude sur la capacité de prédation ou de compétition alimentaire de l'YZ2018 par rapport aux poissons-zèbres dorés non transgéniques. Jha (2010) a constaté que le coélevage avec le poisson-zèbre transgénique à la RFP issu du commerce des animaux de compagnie en Inde réduisait considérablement le comportement agressif du poisson-zèbre non transgénique et de la barbe volante capturés en milieu naturel et que les espèces d'origine sauvage évitaient les interactions avec le poisson-zèbre transgénique. Les poissons-zèbres transgéniques étaient également beaucoup plus agressifs envers les poissons capturés en milieu naturel que l'inverse (Jha 2010). On ne sait pas si les différences de comportement agressif entre le poisson-zèbre transgénique à la RFP et les poissons capturés en milieu naturel sont attribuables au phénotype fluorescent, à des différences de bagage génétique (état domestiqué ou sauvage) ou encore aux conditions d'élevage (en aquarium ou en nature). L'étude a été menée dans de simples réservoirs et l'on n'a pas vérifié si des schémas comportementaux similaires s'observaient dans des environnements complexes comme la nature. De plus, on n'a pas examiné directement si des schémas comportementaux similaires se produiraient chez les spécimens YZ2018 de

poisson-zèbre transgénique. En plus de cinq ans d'utilisation commerciale dans le commerce des aquariums ornementaux, il n'existe aucun cas connu, anecdotique ou autre, de niveaux d'activité ou de comportements différents entre l'YZ2018 et le *D. rerio* non transgénique, dans des conditions normales.

Les spécimens YZ2018 relâchés dans l'environnement pourraient constituer de nouvelles proies et avoir ainsi une incidence sur les populations indigènes de prédateurs. Ils pourraient avoir un effet positif sur ces populations en fournissant une nouvelle source de nourriture, ou encore des effets négatifs dus à leur ingestion. Il s'agit d'une situation improbable, puisque l'YZ2018 ne devrait pas être toxique pour l'environnement et que l'ingestion de la protéine ZsYellow1 ne devrait pas être toxique (voir la section 2.3.1). Bien que la pression de prédation sur l'YZ2018 par rapport au *D. rerio* non transgénique n'ait pas été signalée, l'effet de la transgénèse fluorescente dans un autre modèle transgénique (poisson-zèbre exprimant la RFP) est difficile à cerner. Hill *et al.* (2011) a constaté que le poisson-zèbre exprimant la RFP subissait une pression de prédation deux fois plus élevée que le poisson-zèbre non transgénique lorsqu'il est élevé dans des habitats complexes comportant deux prédateurs nord-américains de taille différente (l'achigan à grande bouche et la gambusie de l'Est). Les auteurs ont formulé l'hypothèse que cela était dû à la couleur plus voyante du poisson-zèbre exprimant la RFP par rapport au poisson non transgénique. Il convient de noter que le poisson-zèbre exprimant la RFP dans l'article a été conçu à partir du morphe d'un poisson-zèbre doré dépourvu de rayures visibles et que cette absence de couleur cryptique peut également avoir contribué à la prédation plus élevée de poisson-zèbre exprimant la RFP indépendamment de sa couleur fluorescente. Une étude antérieure (Cortemeglia et Beitinger 2006b) utilisant la première variante commerciale rayée de poisson-zèbre exprimant la RFP (Gong *et al.* 2003) a révélé que les poissons-zèbres transgéniques et non transgéniques à la RFP ne présentaient pas de différence significative dans la susceptibilité à la prédation par l'achigan à grande bouche (ratio de 1,4:1, respectivement). Les différences de résultats entre ces études pourraient être attribuables à des différences dans l'expression de la RFP (le type de RFP et les promoteurs utilisés ne sont pas connus) et dans le phénotype de poisson-zèbre exprimant la RFP (variante rayée ou non), ainsi qu'à un manque d'abris et à une faible puissance statistique pour pouvoir cerner les différences potentielles entre l'étude de Cortemeglia et celle de Beitinger (Hill *et al.* 2011). Une troisième étude a fait état d'une autre tendance : les poissons-zèbres exprimant la RFP du commerce d'espèces d'ornement présentaient une plus faible susceptibilité à la prédation que le poisson-zèbre et la barbe volante non transgénique d'origine sauvage en Inde (Jha 2010). Dans cette étude, les têtes-de-serpent prédateurs capturés en milieu naturel semblaient éviter activement les poissons transgéniques à la RFP et les poissons-zèbres non transgéniques et la barbe volante étaient plus fortement chassés en présence de poissons transgéniques à la RFP qu'en présence l'un de l'autre. Comme pour le comportement agressif mentionné ci-dessus, on ignore si les différences de susceptibilité à la prédation entre les poissons-zèbres transgéniques à la RFP et les espèces capturées en milieu naturel sont attribuables au phénotype fluorescent ou à des différences de bagage génétique (état domestiqué ou sauvage) ou de conditions d'élevage. L'étude a été menée dans de simples réservoirs et la possibilité que des schémas similaires de susceptibilité à la prédation s'observent dans des environnements complexes comme les écosystèmes naturels n'a pas été étudiée. Dans le modèle poisson-zèbre RFP, l'incidence du transgène fluorescent varie d'une étude à l'autre et peut être modulée par la lignée transgénique (c.-à-d. le site d'insertion dans le génome), la complexité de l'habitat, le bagage génétique et les conditions d'élevage.

Il est inconnue si l'une ou l'autre des études ci-dessus sur la vulnérabilité à la prédation peut s'appliquer à l'YZ2018, il est impossible d'estimer avec une certitude raisonnable sa vulnérabilité par rapport à ses congénères non transgéniques. Les poissons-zèbres non transgéniques diminuent leur niveau d'activité et d'alimentation aux environs de 16 °C, et

cessent de se nourrir et de bouger sous 8 °C (Leggatt *et al.* 2018b, voir la figure 2.2). La baisse du niveau d'activité de l'YZ2018 liée à la diminution de la température peut le rendre plus vulnérable à la prédation en dehors des mois d'été, car il peut réagir plus lentement à la présence de prédateurs que les espèces indigènes de taille similaire adaptées à un climat tempéré. La couleur jaune/orange brillante et l'absence de rayures de couleur cryptique de l'YZ2018 devraient le rendre plus sensible à la prédation que les espèces indigènes et pourraient favoriser temporairement les prédateurs indigènes en cas d'introduction de ces spécimens dans les écosystèmes naturels.

Compte tenu du comportement non agressif du poisson-zèbre, de sa baisse d'activité en eaux froides et de l'absence de modification avérée de son comportement lié aux conditions tropicales, l'YZ2018 ne devrait pas affecter les interactions trophiques des organismes indigènes au-delà des fluctuations naturelles. Le danger qui lui est associé est donc **négligeable** par rapport à ses homologues non transgéniques. Malgré le fait qu'aucune étude ne porte directement sur les dangers de l'YZ2018, le niveau d'incertitude est **modéré** en raison des données disponibles sur un substitut valide (le poisson-zèbre exprimant la RFP) et de la faible compréhension des interactions GxE sur le plan de la vulnérabilité à l'agression et à la prédation chez un autre modèle de poisson-zèbre fluorescent transgénique.

2.3.4. Dangers potentiels liés à l'hybridation avec des espèces indigènes

Le poisson-zèbre tropical d'eau douce appartient à la famille des cyprinidés et a une répartition géographique indigène au sous-continent indien, dans les bassins fluviaux du Gange et du Brahmapoutre, dans le nord-est de l'Inde, du Bangladesh et du Népal (Spence *et al.* 2008; Lessman 2011, voir la section 1.4).

Plusieurs autres espèces appartiennent au genre *Danio* (Fang 2003). Comme le poisson-zèbre se reproduit en dispersant ses œufs, il pourrait former des hybrides avec d'autres espèces frayant en même temps et au même endroit. Le déclarant indique que des hybrides interspécifiques ont été observés entre les espèces *D. rerio* et *D. albolineatus* (synonyme : *Brachydanio albolineatus*, nom commun : [danio perlé \[Pearl Danio en anglais\]](#)) (Axelrod et Vorderwinkler 1976), qui vit également dans le sous-continent indien. Bien que des hybrides aient été trouvés entre les deux espèces similaires, l'hybride F1 est stérile.

Plusieurs genres de poissons de la famille des cyprinidés ([Cyprinidae](#)) sont présents au Canada, mais on ne sait pas si certains ont réussi à se reproduire avec le poisson-zèbre. Le déclarant indique qu'il est peu probable qu'il y ait croisement pour les raisons suivantes : 1) les différences probables d'adaptation et 2) le fait que l'YZ2018 affiche un succès de reproduction concurrentielle inférieur à celui du poisson-zèbre doré non transgénique. Dans l'ensemble, ces données indiquent que s'il y a possibilité de production d'hybrides du poisson-zèbre et d'espèces canadiennes de cyprinidés, le potentiel d'hybridation de l'YZ2018 ne serait pas plus élevé (et probablement plus faible) que celui du poisson-zèbre non transgénique. Par conséquent, le risque que l'YZ2018 présente des dangers en raison d'une hybridation viable avec un poisson indigène au Canada est **négligeable**. Compte tenu de la haute qualité des données sur l'aire de répartition des cyprinidés, mais de l'absence de données sur le potentiel d'hybridation interfamiliale, l'incertitude associée à ce danger est **modérée**.

2.3.5. Dangers potentiels en tant que vecteur de maladies

Les poissons d'ornement d'aquarium commerciaux sont des vecteurs courants d'agents pathogènes, y compris des virus, bactéries, champignons ou parasites (p. ex. Evans et Lester 2001; Rehulka *et al.* 2006; Whittington et Chong 2007; Hongslo et Jansson 2009; Rose *et al.* 2013). GloFish LLC a soumis une évaluation vétérinaire indiquant la présence en nombres faibles à modérés du parasite externe *Piscinoodinium* (un dinoflagellé) chez quatre des six

poissons et d'un nombre élevé chez les deux autres. Il est précisé que cette constatation n'est pas liée au caractère transgénique de l'YZ2018. Les agents pathogènes sont courants chez les poissons tropicaux d'eau douce vivant en aquarium et le poisson-zèbre figure au nombre des quelques espèces (p. ex. carassin doré, gobies d'aquarium, guppy, gourami bleu) inscrites par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) à la liste des espèces vulnérables aux maladies préoccupantes pour la santé des animaux aquatiques et l'économie canadienne. En 2012, l'ACIA a inscrit le poisson-zèbre sur sa liste des [Espèces d'animaux aquatiques vulnérables](#) parce qu'il serait à risque d'être un vecteur de la virémie printanière de la carpe (VPC), une maladie hémorragique des poissons d'eau douce. Cette conclusion reposait toutefois sur des concentrations expérimentales de VPC qui ne seraient jamais atteintes en milieu naturel. Cependant, aucune infection naturelle au VPC n'a été signalée chez le poisson-zèbre, y compris à l'état sauvage, chez les amateurs d'aquariophilie et en laboratoire (voir Hanwell *et al.* 2016). De plus, tout agent pathogène dont l'YZ2018 serait porteur devrait être d'origine tropicale ou persister dans les eaux chaudes habituellement présentes dans un aquarium domestique (p. ex. 25-28 °C) et, par conséquent, pourrait avoir une capacité limitée à survivre à l'intérieur ou à l'extérieur de YZ2018 une fois introduit dans les eaux plus froides des milieux dulcicoles canadiens.

La possibilité que la capacité de l'YZ2018 et d'autres organismes fluorescents transgéniques à agir comme vecteur d'agents pathogènes soit modifiée n'a pas été examinée. Une vulnérabilité accrue aux maladies peut accroître la capacité d'un organisme à agir comme vecteur en augmentant sa propension à servir d'hôte et à libérer plus d'agents pathogènes. En revanche, cette vulnérabilité peut aussi réduire sa capacité vectorielle si l'organisme succombe rapidement à la maladie. Certaines études réalisées sur des cultures *in vitro* de cellules fluorescentes utilisées en recherche ont révélé une modification possible de la vulnérabilité aux maladies. Par exemple, l'expression de la GFP a diminué l'activation des lymphocytes T (Koelsch *et al.* 2013), a induit la sécrétion de cytokine IL-6 (Mak *et al.* 2007), a inhibé les voies de signalisation immunitaire (Baens *et al.* 2006), et a modifié l'expression des gènes en jeu dans la fonction immunitaire (Coumans *et al.* 2014) et la réponse au stress (Badrian et Bogoyevitch 2007). Reste à savoir si ces modifications se produiraient chez des modèles d'animaux fluorescents transgéniques. L'YZ2018 est commercialisé aux États-Unis depuis 2006 (en Californie depuis 2015), tout comme de nombreuses autres espèces et lignées fluorescentes transgéniques pour aquarium offertes depuis 2003. Le poisson-zèbre fluorescent est utilisé à grande échelle en laboratoire, sans qu'aucun effet sur la vulnérabilité aux maladies n'ait été signalé et Howard *et al.* (2015) ont suivi des poissons-zèbres non transgéniques et transgéniques à la RFP dans 18 populations sur plus de 15 générations en laboratoire et n'ont signalé aucune différence de survie entre les poissons transgéniques et non transgéniques. L'YZ2018 présente donc un potentiel **négligeable** de modification des capacités de servir de vecteur par rapport au poisson-zèbre non transgénique. Étant donné que cette question n'a pas été examinée directement pour l'YZ2018, que les données sur un substitut valide sont limitées et que l'on se fie à l'opinion des experts, le niveau d'incertitude pour ce danger est **modéré**.

2.3.6 Dangers potentiels pour le cycle biogéochimique

L'YZ2018 devrait contribuer aux cycles des éléments nutritifs dans les habitats par l'ingestion des proies et d'autres aliments ainsi qu'en éliminant des déchets métaboliques (ammoniac et déjections). Les effets potentiels de la protéine fluorescente ZsYellow1 sur le métabolisme de l'YZ2018 et donc sur le cycle des éléments nutritifs n'ont pas été examinés. Dans un autre organisme modèle, il s'est avéré que des souris transgéniques exprimant la eGFP présentaient des modifications du cycle de l'urée, du métabolisme de l'acide nucléique et des acides aminés et de l'utilisation de l'énergie (Li *et al.* 2013). Nous ne savons pas quels effets ces modifications pourraient avoir sur le cycle biogéochimique si les YZ2018 subissaient les mêmes effets liés à

l'expression génique du transgène fluorescent, mais la petite taille du poisson-zèbre et le petit nombre potentiel de spécimens introduits dans un écosystème indiquent que le danger pour le cycle biogéochimique est **négligeable** dans la nature, même en cas de modification des voies métaboliques. Le niveau d'incertitude est **modéré** en raison du manque d'études portant expressément sur ce danger.

2.3.7. Dangers potentiels pour l'habitat

Le poisson-zèbre est un petit poisson qui ne construit pas de nid ni d'autres structures pouvant affecter l'habitat des autres espèces. L'YZ2018 est utilisé dans le commerce des poissons d'ornement destinés aux aquariums depuis 2006, et aucun cas, anecdotique ou autre, de modification du comportement pouvant influencer sur la structure de l'habitat n'a été relevé chez l'YZ2018 par rapport au poisson-zèbre doré. Par conséquent, l'YZ2018 devrait avoir des effets **négligeables** sur l'habitat, et le niveau d'incertitude concernant ce classement est **faible**.

2.3.8. Dangers potentiels pour la diversité biologique

La diversité biologique (ou biodiversité) peut être affectée par de nombreux facteurs, notamment par les espèces envahissantes et l'introduction de maladies. Malgré leur utilisation de longue date dans le commerce des poissons d'ornement destinés aux aquariums et comme modèles de recherche ainsi que leur présence répétée dans les milieux naturels, aucun cas d'envahissement par des poissons-zèbres n'a été rapporté en Amérique du Nord, en Europe ou ailleurs dans le monde. En outre, les poissons-zèbres GloFish^{MD} et non transgéniques présentent un faible potentiel d'envahissement sur le continent américain selon le Fish Invasiveness Screening Kit [outil d'évaluation du caractère envahissant des poissons] (Hill *et al.* 2014 2017). Comme indiqué précédemment, l'YZ2018 ne devrait pas affecter les espèces indigènes en raison d'interactions trophiques ou d'hybridation ni être un vecteur d'agents pathogènes au Canada; en outre, il ne devrait pas perturber le cycle biogéochimique ni nuire à l'habitat. L'ajout de la construction transgénique et de la protéine fluorescente au code génétique de l'YZ2018 ne devrait pas entraîner de toxicité pour l'environnement ni poser de danger par THG du transgène. On ne s'attend pas non plus à une hausse des dangers dus aux interactions avec les espèces indigènes. Dans l'ensemble, le danger que l'YZ2018 affecte la biodiversité des écosystèmes canadiens est **négligeable**. La dépendance à l'égard de données sur des espèces comparables pour le caractère envahissant et les effets sur la biodiversité entraîne un niveau d'incertitude **faible**.

2.3.9. Conclusions

L'YZ2018 ne devrait pas présenter de danger pour l'environnement canadien. Il ne s'agit pas d'une espèce envahissante au Canada ni dans le monde, malgré son utilisation répandue aux États-Unis. Il n'y a aucune preuve de toxicité environnementale associée à la construction génique, et la majorité des autres modèles fluorescents ne font pas état de toxicité associée aux transgènes fluorescents. Il n'y a pas non plus d'indication d'effets potentiels sur l'environnement dus à la transmission du transgène à des espèces canadiennes indigènes par hybridation ou par THG. On ne recense aucune différence chez les modèles YZ2018 et d'autres modèles de poissons fluorescents sur le plan de la sensibilité aux maladies ou des conditions d'élevage; on ne s'attend pas non plus à ce qu'ils puissent davantage agir comme vecteur de la maladie ou affecter le cycle biogéochimique. Certaines données comparatives sur le poisson-zèbre non transgénique et d'autres modèles de poisson fluorescent indiquent que l'YZ2018 est moins susceptible d'affecter les autres espèces en raison d'interactions trophiques, puisque sa moindre tolérance au froid peut réduire son niveau d'activité en eau froide.

Le niveau de danger des composantes examinées va de négligeable à faible (voir le tableau 2.5) alors que le niveau d'incertitude individuel s'étend de faible à modéré, en raison du caractère limité des données propres à l'YZ2018 et des données directes sur les espèces comparables, de la variabilité des données sur le modèle comparable (poisson-zèbre exprimant la RFP) et de la dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour l'évaluation de certains dangers. L'YZ2018 ne devrait présenter aucun danger particulier outre ceux associés à son utilisation prévue comme poisson d'ornement destiné aux aquariums fixes.

Tableau 2.5 : Sommaire du classement des dangers et du niveau d'incertitude connexe pour l'YZ2018 dans l'environnement canadien.

Danger	Classement	Niveau d'incertitude
1. Lié à la toxicité environnementale	Négligeable	Modéré
2. Lié à la transmission horizontale de gènes	Faible	Modéré
3. Lié aux interactions trophiques	Négligeable	Modéré
4. Lié à l'hybridation	Négligeable	Modéré
5. En tant que vecteur de maladies	Négligeable	Modéré
6. Pour le cycle biogéochimique	Négligeable	Modéré
7. Pour l'habitat	Négligeable	Faible
8. Pour la biodiversité	Négligeable	Faible

2.4. ÉVALUATION DES RISQUES

Le risque est la probabilité qu'un effet nocif se produise en raison de l'exposition à un danger. L'évaluation des risques intègre la nature et la gravité de l'effet nocif, la probabilité que celui-ci se produise et le niveau d'incertitude associé à chaque conclusion. Les conclusions de l'avis scientifique du MPO remis à ECCC et à SC pour la prise de décisions réglementaires sont fondées sur le risque global posé par l'organisme dans le contexte du scénario d'utilisation proposé par le déclarant et de tous les autres scénarios d'utilisation potentielle. La conclusion globale concernant les risques s'appuie sur le paradigme classique selon lequel le risque est proportionnel au danger et à l'exposition.

Risque \propto Exposition \times Danger

Pour chaque paramètre, le niveau de danger et d'exposition est classé comme négligeable, faible, modéré ou élevé, chacun d'eux ayant été analysé et associé à un niveau d'incertitude. Le risque global est estimé en reportant le danger en fonction de l'exposition, au moyen d'une matrice ou d'une carte des risques, comme le montre la figure 2.3. La matrice ne peut être utilisée pour tirer une conclusion précise ou prendre une décision par rapport au risque, mais elle permet de faciliter les communications et les discussions. L'incertitude associée au niveau du risque global n'est pas estimée, l'incertitude liée aux évaluations des risques et de l'exposition étant abordée dans le cadre de la conclusion finale sur les risques.

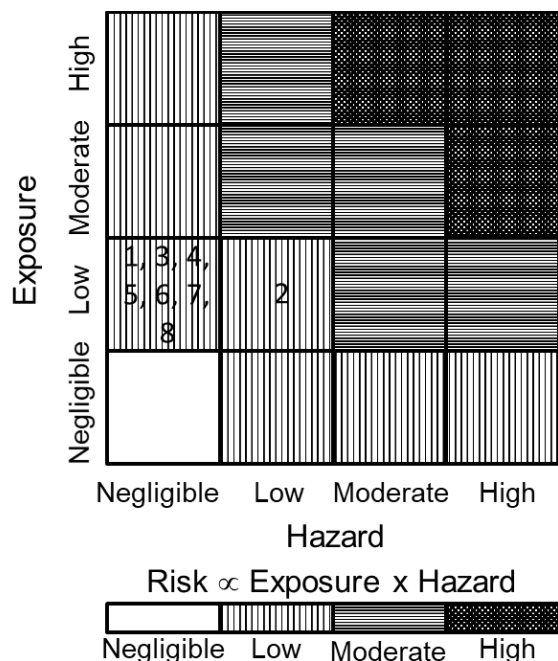


Figure 2.3. : Matrice des risques et échelle de couleur pour illustrer comment l'exposition et le danger sont intégrés pour établir un niveau de risque dans l'évaluation des risques pour l'environnement. Les évaluations des risques associées aux composantes de danger au niveau d'exposition évalué sont désignées par des chiffres : 1) risques liés à la toxicité pour l'environnement; 2) risques liés à la transmission horizontale de gènes; 3) risques liés aux interactions avec d'autres organismes; 4) risques liés à l'hybridation; 5) risques en tant que vecteur de maladie; 6) risques pour le cycle biogéochimique; 7) risques pour l'habitat; 8) risques pour la biodiversité.

2.4.1. Conclusion de l'évaluation des risques posés par l'YZ2018

Selon l'évaluation de l'exposition, l'YZ2018, utilisé dans le commerce des poissons d'ornement destinés aux aquariums ou à d'autres fins, aurait une faible probabilité de présence dans l'environnement canadien. Cette faible probabilité est liée à la forte probabilité d'introductions de petits nombres de poissons d'aquariums domestiques et à la probabilité négligeable de voir des YZ2018 survivre à l'hiver dans les écosystèmes aquatiques canadiens. À ce titre, toute exposition des écosystèmes d'eau douce canadiens à l'YZ2018 serait isolée, rare et éphémère. La qualité des données démontrant l'intolérance au froid de l'YZ2018 et des poissons-zèbres dorés par rapport aux températures régnant dans les eaux douces canadiennes permet d'obtenir un faible niveau d'incertitude pour le classement de ce danger.

L'évaluation des dangers a conclu que l'YZ2018 représentait un danger de négligeable à faible pour l'environnement canadien, au vu de l'absence de dangers liés au poisson-zèbre doré, et de l'absence de preuve directe démontrant l'existence de dangers accrus, par rapport au poisson-zèbre doré non transgénique, liés à la protéine fluorescente exprimée. Le niveau d'incertitude lié à chaque paramètre de danger va de faible à modéré, en raison du caractère limité des données propres à l'YZ2018 et des données directes sur les espèces comparables, de la variabilité des données concernant le modèle substitut (poisson-zèbre expriment la RFP) et de la dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour l'évaluation de certains dangers.

D'après la matrice des risques de la figure 2.3, l'YZ2018, utilisé dans le commerce de poissons d'ornement destinés aux aquariums ou à d'autres fins au Canada, représente un **risque faible** pour l'environnement canadien. Selon les évaluations des dangers individuels, en fonction du

degré d'exposition évalué, il n'y aura pas d'effets au-delà des variations naturelles attendues de l'environnement canadien. Les sources d'incertitude dans l'évaluation de l'exposition et des dangers pour l'environnement qui peuvent influencer sur le niveau d'incertitude dans l'évaluation des risques pour l'environnement comprennent l'absence de données directes sur les dangers de l'organisme déclaré et des espèces comparables, la variabilité des données tirées des substituts qu'une certaine dépendance à l'égard de l'opinion des experts dans certains cas. Pour la majorité des dangers posés par l'YZ2018, les composantes de l'écosystème devraient y être exposées en continu pour qu'il y ait des risques importants pour l'environnement. En conséquence, le niveau d'incertitude du risque est plus associé à l'incertitude de l'exposition qu'à celle du danger.

En dépit de l'incertitude modérée associée à certains paramètres individuels de l'évaluations, il n'y a rien qui indique que les niveaux globaux de risque posé par des YZ2018 utilisés peuvent être plus élevés que le niveau faible de risque mesuré pour l'environnement canadien.

2.5. SOMMAIRE ET CONCLUSIONS

GloFish LLC a demandé une autorisation pour importer des YZ2018, une espèce de poisson-zèbre transgénique orange fluorescent du nom de *D. rerio*, pour le commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums et les aquariophiles qui souhaitent en acheter. Si de tels poissons se trouvaient dans des aquariums de résidences, ou étaient utilisés de façon imprévue, ils devraient être introduits dans l'environnement canadien fréquemment à très petite échelle, quoiqu'il ne soit pas possible d'exclure la possibilité qu'il y soit introduit de façon importante occasionnellement. Cependant, les données de grande qualité disponibles indiquent que l'YZ2018 n'est pas en mesure de passer l'hiver dans les écosystèmes d'eau douce canadiens. Le niveau d'exposition potentielle est donc faible, tout comme le niveau d'incertitude qui y est associé. Pour les dangers potentiels, l'absence de preuve de dangers liés à l'espèce sauvage, malgré son utilisation importante à long terme, ainsi que l'absence de preuves de dangers accrus liés à l'YZ2018 par rapport à l'espèce non transgénique, indique que le danger de l'YZ2018 pour l'environnement canadien est négligeable à faible. En raison de l'absence de données directes sur les dangers posés par les modèles de base ou l'YZ2018, le niveau d'incertitude associé aux évaluations des dangers va de faible à modéré. Le risque global de l'YZ2018 pour l'environnement canadien est **faible**, et l'organisme déclaré ne devrait pas y provoquer d'effet nocif au niveau d'exposition évalué. Alors que le niveau d'incertitude associé à certains dangers est modéré en raison du caractère limité ou inexistant de données directes à propos de l'organisme déclaré ou d'une espèce comparable, rien ne semblait indiquer que l'YZ2018, dans le cadre de l'utilisation proposée ou d'autres utilisations potentielles, pouvait nuire à l'environnement canadien en cas d'exposition.

RÉFÉRENCES

- Adatto, I., Lawrence, C., Thompson, M. et Zon, L.I. 2011. A new system for the rapid collection of large numbers of developmentally staged zebrafish embryos. *PLoS ONE* 6(6): e21715.
- Arunachalam, M., Raja, M., Vijayakumar, C., Malaiammal, P. et Mayden, R.L. 2013. Natural history of zebrafish (*Danio rerio*) in India. *Zebrafish* 10(1): 1-14.
- Augustine, S., Gagnaire, B., Floriani, M., Adam-Guillermin, C. et Kooijman, S.A. 2011. Developmental energetics of zebrafish, *Danio rerio*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 159(3): 275-283.
- Avdesh, A., Chen, M.Q., Martin-Iverson, M.T., Mondal, A., Ong, D., Rainey-Smith, S., Taddei, K., Lardelli, M., Groth, D.M., Verdile, G. et Martins, R.N. 2012. Regular care and maintenance of a zebrafish (*Danio rerio*) laboratory: an introduction. *J. Vis. Exp.: JoVE* (69): 1-8.
- Axelrod, H.R. et Vorderwinkler, W. 1979. Encyclopédie des poissons tropicaux avec les techniques de reproduction. T.F.H. Publishing, Neptune City (N.J.).
- Badrian, B. et Bogoyevitch, M.A. 2007. Changes in the transcriptional profile of cardiac myocytes following green fluorescent protein expression. *DNA Cell Biol.* 26(10): 727-736.
- Baens, J., Noels, H., Broeckx, V., Hagen, S., Fevery, S., Biliau, A.D., Vankelecom, H. et Marynen, P. 2006. The dark side of EGFP: Defective polyubiquitination. *PLoS ONE* 1(1): e54.
- Barman, R.P. 1991. A Taxonomic Revision of the Indo-Burmese Species of *Danio* Hamilton Buchanan (*Pisces, Cyprinidae*). Zoological Survey of India, Calcutta.
- Barrionuevo, W.R. et Burggren, W.W. 1999. O₂ consumption and heart rate in developing zebrafish (*Danio rerio*): influence of temperature and ambient O₂. *Am. J. Physiol.* 276(2): R505-R513.
- BCLSS. 2013. [Osoyoos Lake 2005-2011](#). British Columbia Lake Stewardship Society, Kelowna, BC, Kelowna, BC. 4 p.
- Brand, M., Granato, M. et Nusslein-Volhard, C. 2002. Keeping and raising zebrafish. *In* *Zebrafish: A Practical Approach*. Edited by C. Nusslein-Volhard and R. Dahm. Oxford University Press, Oxford. pp. 7-37.
- Chen, W. et Ge, W. 2012. Ontogenic expression profiles of gonadotropins (*fshb* and *lhb*) and growth hormone (*gh*) during sexual differentiation and puberty onset in female zebrafish. *Biol. Reprod.* 86(3): 73, 1-11.
- Chen, W. et Ge, W. 2013. Gonad differentiation and puberty onset in the zebrafish: evidence for the dependence of puberty onset on body growth but not age in females. *Mol. Rep. Dev.* 80(5): 384-392.
- Clark, K.J. et Ekker, S.C. 2015. How zebrafish genetics informs human biology. *Nat. Edu.* 8(4): 3.
- Clelland, E. et Peng, C. 2009. Endocrine/paracrine control of zebrafish ovarian development. *Mol. Cell. Endocrinol.* 312: 42-52.
- Coe, T.S., Hamilton, P.B., Griffiths, A.M., Hodgson, D.J., Wahab, M.A. et Tyler, C.R. 2009. Genetic variation in strains of zebrafish (*Danio rerio*) and the implications for ecotoxicology studies. *Ecotoxicology* 18(1): 144-150.

-
- Cortemeglia, C. et Beitinger, T.L. 2005. Temperature tolerances of wild-type and red transgenic zebra danios. *Trans. Am. Fish. Soc.* 134(6): 1431-1437.
- Cortemeglia, C. et Beitinger, T.L. 2006a. Projected US distributions of transgenic and wildtype zebra danios, *Danio rerio*, based on temperature tolerance data. *J. Therm. Biol.* 31(5): 422-428.
- Cortemeglia, C. et Beitinger, T.L. 2006b. Susceptibility of transgenic and wildtype zebra danios, *Danio rerio*, to predation. *Environ. Biol. Fish.* 76(1): 93-100.
- Cortemeglia, C., Beitinger, T.L., Kennedy, J.H. et Walters, T. 2008. Field confirmation of laboratory-determined lower temperature tolerance of transgenic and wildtype zebra danios, *Danio rerio*. *Am. Midl. Nat.* 160(2): 477-479.
- Coumans, J.V.F., Gau, D., Polijak, A., Wasinger, V., Roy, P. et Moens, P.R. 2014. Green fluorescent protein expression triggers proteome changes in breast cancer cells. *Exp. Cell Res.* 320: 33-45.
- Daniels, R.J.R. 2001. Endemic fishes of the Western Ghats and the Satpura hypothesis. *Curr. Sci.* 81(3): 240-244.
- Devgan, V., Rao, M.R.S. et Seshagiri, P.B. 2004. Impact of embryonic expression of enhanced green fluorescent protein on early mouse development. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 313(4): 1030-1036.
- Devlin, R.H., Sundström, L.F. et Leggatt, R.A. 2015. Assessing ecological and evolutionary consequences of growth-accelerated genetically engineered fishes. *Bioscience* 65(7): 685-700.
- Devlin, R.H., Biagi, C.A., Yesaki, T.Y., Smailus, D.E. et Byatt, J.C. 2001. Growth of domesticated transgenic fish. *Nature* 409: 781-782.
- Dranow, D.B., Hu, K., Bird, A.M., Lawry, S.T., Adams, M.T., Sanchez, A., Amatruda, J.F. et Draper, B.W. 2016. Bmp15 is an oocyte-produced signal required for maintenance of the adult female sexual phenotype in Zebrafish. *PLoS Genet.* 12(9) e1006323.
- Dumont, P., Vachon, N., Leclerc, J., et Guibert, A. 2002. Introduire délibérément un poisson au Canada peut être facile. *Tiré de : Envahisseurs exotiques des eaux, milieux humides et forêts du Canada. Sous la direction de : R. Claudi, P. Nantel et E. Muckle-Jeffs.* Service canadien des forêts, Service canadien des forêts, RNC, Ottawa. p. 169-177.
- Eaton, R.C. et Farley, R.D. 1974. Growth and the reduction of depensation of zebrafish, *Brachydanio rerio*, reared in the laboratory. *Copeia* 1974(1): 204-209.
- Engeszer, R.E., Patterson, L.B., Rao, A.A. et Parichy, D.M. 2007. Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field. *Zebrafish* 4(1): 21-40.
- Essner, J.J. 2003. Temperature sensitivity of fluorescent transgenic zebrafish. *Discovery Genomics, Inc., Minneapolis, MN.*
- Evans, B.B. et Lester, R.J.G. 2001. Parasites of ornamental fish imported into Australia. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 21(2): 51 - 55.
- Fang, F. 2003. Phylogenetic analysis of the asian cyprinid genus *Danio* (Teleostei, Cyprinidae). *Copeia* 4: 714-728.
- Gerlai, R. 2013. Antipredatory behavior of zebrafish: adaptive function and a tool for translational research. *Evol. Psychol.* 11(3): 591-605.
-

-
- Gong, Z., Wan, H., Tay, T.L., Wang, H., Chen, M., and Yan, T. 2003. Development of transgenic fish for ornamental and bioreactor by strong expression of fluorescent proteins in the skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 308: 58-63.
- Gratton, P., Allegrucci, G., Gallozzi, M., Fortunato, C., Ferreri, F. et Sbordoni, V. 2004. Allozyme and microsatellite genetic variation in natural samples of zebrafish, *Danio rerio*. *Journal of Zoological Systematics and Evol. Res.* 42(1): 54-62.
- Guo, J.K., Cheng, E.C., Wang, L., Swenson, E.S., Ardito, T.A., Kashgarian, M., Cantley, L.G. et Krause, D.S. 2007. The commonly used beta-actin-GFP transgenic mouse strain develops a distinct type of glomerulosclerosis. *Trans. Res.* 16(6): 829-834.
- Gupta, A.K., Anderson, D.M. et Overpeck, J.T. 2003. Abrupt changes in the asian southwest monsoon during the Holocene and their links to the North Atlantic Ocean. *Nature* 421: 354-357.
- Hallare, A.V., Schirling, M., Luckenbach, T., Köhler, H.R. et Triebkorn, R. 2005. Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *J. Therm. Biol.* 30(1): 7-17.
- Hanwell, D., Hutchinson, S.A., Collymore, C., Bruce, A.E., Louis, R., Ghalami, A., Allison, W.T., Ekker, M., Eames, B.F., Childs, S., Kurrasch, D.M., Gerlai, R., Thiele, T., Scott, I., Ciruna, B., Dowling, J.J., McFarlane, S., Huang, P., Wen, X.Y., Akimenko, M.A., Waskiewicz, A.J., Drapeau, P., Babiuk, L.A., Dragon, D., Smida, A., Buret, A., O'Grady, E., Wilson, J., Sowden-Plunkett, L. et Tropepe, V. 2016. Restrictions on the importation of zebrafish into Canada associated with spring viremia of carp virus. *Zebrafish* 13: S153-S163.
- Hill, J.E. et Yanong, R.P.E. 2002. Freshwater Ornamental Fish Commonly Cultured in Florida. Circular 54, University of Florida IFAS Extension.
- Hill, J.E., Kapuscinski, A.R. et Pavlowich, T. 2011. Fluorescent transgenic zebra *Danio* more vulnerable to predators than wild-type fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 140(4): 1001-1005.
- Hill, J.E., Lawson, L.L. et Hardin, S. 2014. Assessment of the risks of transgenic fluorescent ornamental fishes to the United States using the Fish Invasiveness Screening Kit (FISK). *Trans. Am. Fish. Soc.* 143:817-829.
- Hill, J.E., Tuckett, Q.M., Hardin, S., Lawson, L.L.J., Lawson, K.M. et Ritch, J.L. 2017. Risk screen of freshwater tropical ornamental fishes for the conterminous United States. *Trans. Am. Fish. Soc.* 146:927-938.
- Hongslo, T. et Jansson, E. 2009. Health survey of aquarium fish in Swedish pet-shops. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 29(5): 163-174.
- Howard, R.D., Rohrer, K., Liu, Y. et Muir, W.M. 2015. Mate competition and evolutionary outcomes in genetically modified zebrafish (*Danio rerio*). *Evolution* 69(5): 1143-1157.
- Howe, D.G., Bradford, Y.M., Conlin, T., Eagle, A.E., Fashena, D., Frazer, K., Knight, J., Mani, P., Martin, R., Moxon, S.A.T., Paddock, H., Pich, C., Ramachandran, S., Ruef, B.J., Ruzicka, L., Schaper, K., Shao, X., Singer, A., Sprunger, B., Van Slyke, C.E. et Westerfield, M. 2013. ZFIN, the zebrafish model organism database: increased support for mutants and transgenics. *Nuc. Acids Res.* 41(D1): D854-D860.
- Huang, W.Y., Aramburu, J., Douglas, P.S. et Izumo, S. 2000. Transgenic expression of green fluorescence protein can cause dilated cardiomyopathy. *Nat. Med.* 6(5): 482-483.
- Hutter, S., Penn, D.J., Magee, S. et Zala, S.M. 2010. Reproductive behaviour of wild zebrafish (*Danio rerio*) in large tanks. *Behaviour* 147(5/6): 641-660.

-
- Jha, P. 2010. Comparative study of aggressive behaviour in transgenic and wildtype zebrafish *Danio rerio* (Hamilton) and the flying barb *Esomus danricus* (Hamilton), and their susceptibility to predation by the snakehead *Channa striatus* (Bloch). *Ital. J. Zool.* 77(1): 102-109.
- Jhingan, E., Devlin, R.H. et Iwama, G.K. 2003. Disease resistance, stress response and effects of triploidy in growth hormone transgenic coho salmon. *J. Fish Biol.* 63: 806-823.
- Jobling, M. 1981. Temperature tolerance and the final preferendum--rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. *J. Fish Biol.* 19: 439-455.
- Karanth, K.P. 2003. Evolution of disjunct distributions among wet-zone species of the Indian subcontinent: Testing various hypotheses using a phylogenetic approach. *Curr. Sci.* 85(9): 1276-1283.
- Kerr, S.J., Brousseau, C.S. et Muschett, M. 2005. Invasive aquatic species in Ontario. *Fisheries* 30(7): 21-30.
- Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B. et Schilling, T.F. 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev. Dyn.* 203: 253-310.
- Koelsch, K.A., Wang, Y., Maier-Moore, J.S., Sawalha, A.H. et Wren, J.D. 2013. GFP affects human T cell activation and cytokine production following *in vitro* stimulation. *PLoS ONE* 8(4): e50068.
- Kurtzman, M.S., Craig, M.P., Grizzle, B.K. et Hove, J.R. 2010. Sexually segregated housing results in improved early larval survival in zebrafish. *Lab Animal* 39(6): 183-189.
- Laale, H.W. 1977. The biology and use of zebrafish, *Brachydanio rerio* in fisheries research. A literature review. *J. Fish Biol.* 10: 121-173.
- Lawrence, C. 2007. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): a review. *Aquaculture* 269(1-4): 1-20.
- Lawrence, C., Best, J., James, A. et Maloney, K. 2012. The effects of feeding frequency on growth and reproduction in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture* 368: 103-108.
- Leggatt, R.A., Johnson, N., et McGowan, C. 2018a. Évaluation du risque environnemental pour le tétra GloFishMD Electric GreenMD et le tétra à longues nageoires GloFishMD Electric GreenMD : des poissons d'ornement transgéniques importés au Canada pour le commerce des animaux domestiques. *Secr. can. de consult. du MPO. Avis. de rech.* 2018/049.
- Leggatt, R.A., Dhillon, R.S., Mimeault, C., Johnson, N., Richards, J.G. et Devlin, R.H. 2018b. Low-temperature tolerances of tropical fish with potential transgenic applications in relation to winter water temperatures in Canada. *Can. J. Zool.* 96(3): 253-260.
- Lessman, C.A. 2011. The developing Zebrafish (*Danio rerio*): a vertebrate model for high-throughput screening of chemical libraries. *Birth Defects Res. C* 93(3): 268-280.
- Li, H., Wei, H., Wang, Y., Tang, H. et Wang, Y. 2013. Enhanced green fluorescent protein transgenic expression *in vivo* is not biologically inert. *J. Proteome Res.* 12(8): 3801-3808.
- Liew, W.C. et Orban, L. 2014. Zebrafish sex: a complicated affair. *Brief. Funct. Genomics* 13(2): 172-187.
- Liew, W.C., Bartfai, R., Lim, Z.J., Sreenivasan, R., Siegfried, K.R. et Orban, L. 2012. Polygenic sex determination system in zebrafish. *PLoS ONE* 7(4): e34397
-

-
- Little, A.G., Kunisue, T., Kannan, K. et Seebacher, F. 2013. Thyroid hormone actions are temperature-specific and regulate thermal acclimation in zebrafish (*Danio rerio*). BMC Biol. 11: 26.
- López-Olmeda, J.F. et Sánchez-Vázquez, F.J. 2011. Thermal biology of zebrafish (*Danio rerio*). J. Therm. Biol. 36(2): 91-104.
- Magnuson, J.J., Crowder, L.B. et Medvick, P.A. 1979. Temperature as an ecological resource. Amer. Zool. 19(1): 331-343.
- Mak, G.W.-Y., Wong, C.-H. et Tsui, S.K.-W. 2007. Green fluorescent protein induces the secretion of inflammatory cytokine interleukin-6 in muscle cells. Anal. Biochem. 362: 296-298.
- Marson, D., Cudmore, B., Drake, D.A.R. et Mandrak, N.E. 2009. Summary of a survey of aquarium owners in Canada. Can. Manuscr. Rep. Fish. Aquat. Sci. 2905.
- McClure, M.M. 1999. Development and evolution of melanophore patterns in fishes of the genus *Danio* (Teleostei: cyprinidae). J. Morphol. 241: 83-105.
- McClure, M.M., McIntyre, P.B. et McCune, A.R. 2006. Notes on the natural diet and habitat of eight danionin fishes, including the zebrafish *Danio rerio*. J. Fish Biol. 69(2): 553-570.
- McMillan, S.C., Géraudie, J. et Akimenko, M.A.. 2015. Pectoral fin breeding tubercle clusters: a method to determine zebrafish sex. Zebrafish 12(1): 121-123.
- Meyer, A., Biermann, C.H. et Orti, G. 1993. The phylogenetic position of the zebrafish (*Danio rerio*), a model system in developmental biology: an invitation to the comparative method. Proc. R. Soc. Lond. B 252(1335): 231-236.
- Meyer, A., Ritchie, P.A. et Witte, K.-E. 1995. Predicting developmental processes from evolutionary patterns: a molecular phylogeny of the zebrafish (*Danio rerio*) and its relatives. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B. 349: 103-111.
- Mills, R. et Vevers, G. 1989. The Tetra Encyclopedea of Tropical Aquarium Fishes. Tetra Press, London.
- Nico, L., Fuller, P. et Loftus, B. 2016. [Danio rerio](#).
- Niimi, A.J. et LaHam, Q.N. 1973. Influence of breeding time interval on egg number, mortality, and hatching of the zebra fish *Brachydanio rerio*. Can. J. Zool. 52: 515-517.
- MPO. 2006. [Compte rendu de la réunion des experts sur les risques potentiels liés à la transmission horizontale de gènes de nouveaux organismes aquatiques](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Compte rendu 2006/036.
- MPO. 2013. [Évaluation fondée sur les risques des impacts et des menaces que les changements climatiques présentent pour l'infrastructure et les systèmes biologiques qui relèvent du mandat de Pêches et Océans Canada – Grand bassin aquatique d'eau douce](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Rép. des Sci. 2013/011.
- MPO. 2019. [Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les tétras Glofish^{MD} \(*Gymnocorymbus ternetzi*\) : cinq lignées de poissons d'ornement transgéniques](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis scientifique. 2019/002.
- Owen, M.A., Rohrer, K. et Howard, R.D. 2012. Mate choice for a novel male phenotype in zebrafish, *Danio rerio*. Anim. Behav. 83(3): 811-820.
- Parichy, D.M. 2006. Evolution of danio pigment pattern development. Heredity 97(3): 200-210.
-

-
- Parichy, D.M. 2015. Advancing biology through a deeper understanding of zebrafish ecology and evolution. *eLife* 4: e05635.
- Řehulka, J., Kaustová, J. et Řehulková, E. 2006. Causal agents of mycobacterial diseases in freshwater ornamental fish and their importance for human health in the Czech Republic. *Acta Vet. Brno* 75: 251-258.
- Ribas, L. et Piferrer, F. 2014. The zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism, with emphasis on applications for finfish aquaculture research. *Rev. Aquacult.* 6(4): 209-240.
- Rixon, C.A.M., Duggan, I.C., Bergeron, N.M.N., Ricciardi, A. et Macisaac, H.J. 2005. Invasion risks posed by the aquarium trade and live fish markets on the Laurentian Great Lakes. *Biodivers. Conserv.* 14(6): 1365-1381.
- Robison, B.D. et Rowland, W. 2005. A potential model system for studying the genetics of domestication: behavioral variation among wild and domesticated strains of zebra danio (*Danio rerio*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62(9): 2046-2054.
- Rose, S., Hill, R., Bermudez, L.E. et Miller-Morgan, T. 2013. Imported ornamental fish are colonized with antibiotic-resistant bacteria. *J. Fish Dis.* 36(6): 533-542.
- Sawant, M.S., Zhang, S. et Li, L. 2001. Effect of salinity on development of zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Curr. Sci.* 81(10): 1347-1350.
- Schaefer, J. et Ryan, A. 2006. Developmental plasticity in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio*. *J. Fish Biol.* 69(3): 722-734.
- Schirone, R.C. et Gross, L. 1968. Effect of temperature on early embryological development of the zebra fish, *Brachydanio rerio*. *J. Exp. Zool.* 169(1): 43-52.
- Sessa, A.K., White, R., Houvras, Y., Burke, C., Pugach, E., Baker, B., Gilbert, R., Look, A.T. et Zon, L.I. 2008. The effect of a depth gradient on the mating behavior oviposition site preference, and embryo production in the zebrafish, *Danio rerio*. *Zebrafish* 5(4): 335-339.
- Sfakianakis, D.G., Leris, I., Mylonas, C.C. et Kentouri, M. 2012. Temperature during early life determines sex in zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *J. Biol. Res.-Thessalon* 17: 68-73.
- Siccardi, A.J., Garris, H.W., Jones, W.T., Moseley, D.B., D'Abramo, L.R. et Watts, S.A. 2009. Growth and survival of zebrafish (*Danio rerio*) fed different commercial and laboratory diets. *Zebrafish* 6(3): 275-280.
- Silas, E.G. 1952. Further studies regarding hora's satpura hypothesis. *Proc. Nat. Inst. Sci. Ind.* 18(5): 423-448.
- Snekser, J.L., McRobert, S.P., Murphy, C.E. et Clotfelter, E.D. 2006. Aggregation behaviour in wildtype and transgenic zebrafish. *Ethology* 112: 181-187.
- Spence, R. et Smith, C. 2006. Mating preference of female zebrafish, *Danio rerio*, in relation to male dominance. *Behav. Ecol.* 17(5): 779-783.
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence, C. et Smith, C. 2008. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 83(1): 13-34.
- Spence, R., Fatema, M.K., Ellis, S., Ahmed, Z.F. et Smith, C. 2007. Diet, growth and recruitment of wild zebrafish in Bangladesh. *J. Fish Biol.* 71(1): 304-309.
- Spence, R., Fatema, M.K., Reichard, M., Huq, K.A., Wahab, M.A., Ahmed, Z.F. et Smith, C. 2006. The distribution and habitat preferences of the zebrafish in Bangladesh. *J. Fish Biol.* 69(5): 1435-1448.
-

-
- Stewart, C.N. 2006. Go with the glow: fluorescent proteins to light transgenic organisms. *Trends Biotechnol.* 24(4): 155-162.
- Strecker, A.L., Campbell, P.M. et Olden, J.D. 2011a. The aquarium trade as an invasion pathway in the Pacific Northwest. *Fisheries* 36(2): 74-85.
- Strecker, R., Seiler, T.-B., Hollert, H. et Braunbeck, T. 2011b. Oxygen requirements of zebrafish (*Danio rerio*) embryos in embryo toxicity tests with environmental samples. *Comp. Biochem. Physiol. C* 153(3): 318-327.
- Sundstrom, L.F., Lohmus, M., Tymchuk, W.E. et Devlin, R.H. 2007. Gene-environment interactions influence ecological consequences of transgenic animals. *PNAS* 104(10): 3889-3894.
- Suriyampola, P.S., Shelton, D.S., Shukla, R., Roy, T., Bhat, A. et Martins, E.P. 2016. Zebrafish social behavior in the wild. *Zebrafish* 13(1): 1-8.
- Trumpikas, J., Shuter, B.J., Minns, C.K. et Cyr, H. 2015. Characterizing patterns of nearshore water temperature variation in the North American Great Lakes and assessing sensitivities to climate change. *Great Lakes Res.* 41: 53-64.
- Tuckett, Q.M., Ritch, J.L., Lawson, K.M. et Hill, J.E. 2017. Landscape-scale survey of non-native fishes near ornamental aquaculture facilities in Florida, USA. *Biol. Invasions* 19(1): 223-237.
- Weber, M.W.C. et de Beaufort, L.F. 1916. *The Fishes of the Indo-Australian Archipelago*. Leiden, E. J. Brill Ltd.
- Welcomme, R.L. 1988. Concluding remarks 1. On the nature of large tropical rivers, floodplains, and future research directions. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 7(4): 525-526.
- Westerfield, M. 2000. *The Zebrafish Book: A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio)*. 4th ed. University of Oregon Press.
- Whiteley, A.R., Bhat, A., Martins, E.P., Mayden, R.L., Arunachalam, M., Uusi-Heikkila, S., Ahmed, A.T., Shrestha, J., Clark, M., Stemple, D. et Bernatchez, L. 2011. Population genomics of wild and laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *Mol. Ecol.* 20(20): 4259-4276.
- Whittington, R.J. et Chong, R. 2007. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. *Prev. Vet. Med.* 81(1-3): 92-116.
- Wilson, C.A., High, S.K., McCluskey, B.M., Amores, A., Yan, Y.-I., Titus, T.A., Anderson, J.L., Batzel, P., Carvan, M.J.r., Schartl, M. et Postlethwait, J.H. 2014. Wild sex in zebrafish: loss of the natural sex determinant in domesticated strains. *Genetics* 198(3): 1291-1308.
- Wright, D., Nakamichi, R., Krause, J. et Butlin, R.K. 2006. QTL analysis of behavioral and morphological differentiation between wild and laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *Behav. Genet.* 36(2): 271-284.
- Yossa, R., Sarker, P.K., Karanth, S., Ekker, M. et Vandenberg, G.W. 2011. Effects of dietary biotin and avidin on growth, survival, feed conversion, biotin status and gene expression of zebrafish *Danio rerio*. *Comp. Biochem. Physiol. B* 160(4): 150-158.
- Yossa, R., Sarker, P.K., Proulx, E., Saxena, V., Ekker, M. et Vandenberg, G.W. 2013. A practical approach for sexing zebrafish, *Danio rerio*. *J. Appl. Aquacult.* 25(2): 148-153.