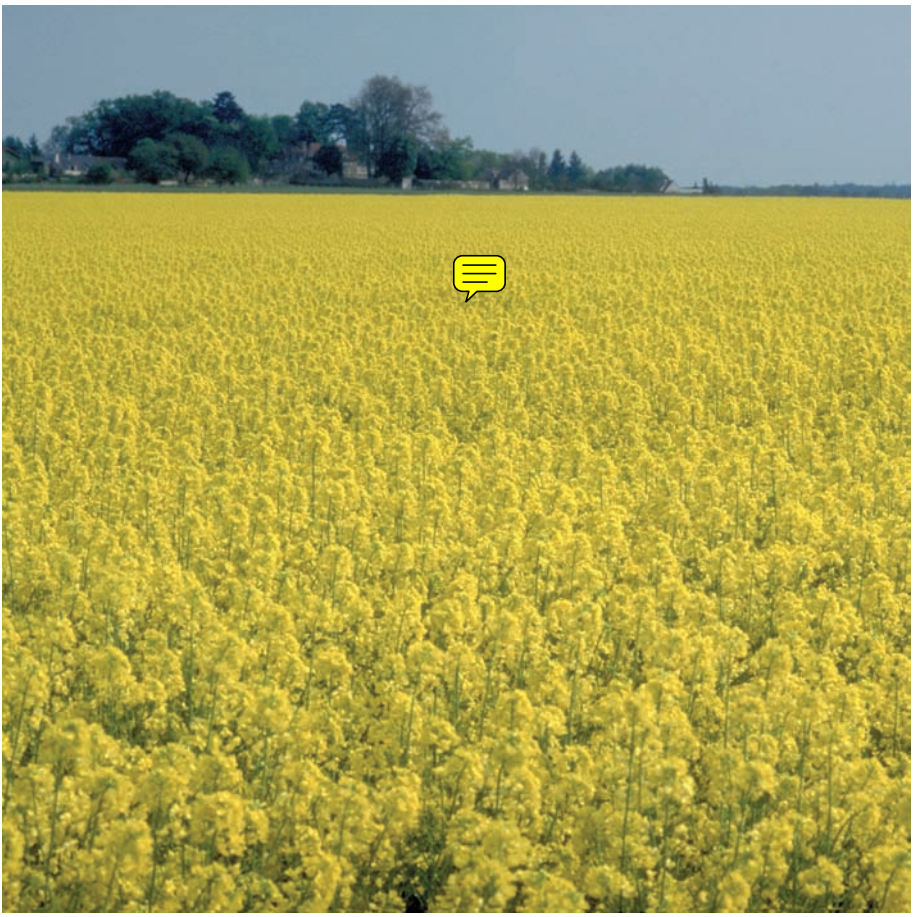
Synthèses

Plantes transgéniques : faits et enjeux

A. Gallais, A. Ricroch



éditions Quæ

Plantes transgéniques : faits et enjeux

Plantes transgéniques : faits et enjeux

A. Gallais et A. Ricroch

Éditions Quæ
c/o Inra, RD 10, 78026 Versailles Cedex

Collection Synthèses

L'agronomie aujourd'hui,
Thierry Doré, Marianne Le Bail, Philippe Martin, Bertrand Ney,
Jean Roger-Estrade, coord.,
2006, 384 p.

Reproduction sexuée des conifères et production de semences
en vergers à graines,
Gwenaël Philippe, Patrick Baldet, Bernard Héois, Christian Ginisty,
2006, 572 p.

La photosynthèse
Processus physiques, moléculaires et physiologiques,
Jack Farineau, Jean-François Morot-Gaudry,
2006, 412 p.

L'armillaire et le pourridié-agaric des végétaux ligneux,
Jean-Jacques Guillaumin, coord.,
2005, 504 p.

© Éditions Quæ, 2006 ISBN 10 : 2-7592-0001-9 ISBN 13 : 978-2-7592-0001-6 ISSN : 1777-4624

Le code de la propriété intellectuelle du 1er juillet 1992 interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique. Toute reproduction, partielle ou totale, du présent ouvrage est interdite sans autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20, rue des Grands-Augustins, Paris 6e.

Un organisme génétiquement modifié (OGM) est un organisme dans le génome duquel on a introduit un ou plusieurs gènes par des moyens artificiels. Il peut s'agir de plantes, d'animaux ou de micro-organismes. Dans cet ouvrage consacré aux plantes, au lieu d'utiliser le vocable ambigu d'OGM, nous employons le plus souvent possible celui de plantes ou de variétés transgéniques.

Remerciements

Nous exprimons tous nos remerciements à ceux qui ont bien voulu relire certains chapitres de cet ouvrage ou nous donner des éléments pour les enrichir, en particulier : Lise Jouanin et Philippe Guerche pour des aspects de biologie moléculaire et de technique de la transgénèse, Claude Gaillardin et Annette Mouranche pour l'utilisation des micro-organismes génétiquement modifiés, Henri Darmency pour la résistance aux herbicides, Anne-Marie Chèvre pour les flux de gènes chez le colza, Régine Delourme pour la modification de la qualité des acides gras chez le colza, Joël Guiard pour les inscriptions au catalogue officiel des variétés transgéniques, Sylvie Bonny, Stéphane Lemarié et Pierre-Benoît Joly pour des aspects économiques et sociétaux. Toute notre reconnaissance va particulièrement à Jean-Claude Mounolou et à Henri Feyt qui ont eu un regard critique sur l'ensemble de l'ouvrage, et nous ont fait de nombreuses suggestions. Merci aussi aux étudiants de l'Ina P-G qui, par leurs questions, nous ont aidé ou stimulé dans nos réflexions.

Table des matières

Avant-propos 1

Notions de génétique et d'amélioration des plantes 5

1. Les OGM sont déjà dans notre vie 9
Importance des plantes transgéniques dans le monde 9
Surfaces totales et pays concernés 9
Répartition par pays 10
Répartition par espèce 12
Le soja 12
Le maïs 13
Le cotonnier 13
Le colza de printemps ou canola 14
Répartition par caractère 14
Répartition par obtenteur 16
Les plantes transgéniques autorisées en France 17
Les produits issus d'OGM déjà dans notre alimentation 20
Produits issus de la transformation industrielle des plantes transgéniques 20
Produits issus d'animaux ayant consommé des plantes transgéniques : la viande, les œufs et le lait 20
Produits faisant appel à des enzymes issues de micro-organismes génétiquement modifiés 20
Les médicaments issus de micro-organismes génétiquement modifiés 23
Conclusion 24

2. L'amélioration des plantes est du génie génétique 25
De la domestication à l'amélioration actuelle des plantes 25
Bases génétiques de la domestication 25
L'évolution des populations cultivées 26
Les ressources génétiques 31
L'évolution des caractères agronomiques 32
Bases génétiques des progrès réalisés 34

Les outils de la sélection « phénotypique » 35
La sélection généalogique 35
Le rétrocroisement (ou backcross) 37
La sélection récurrente 40
L'apport des biotechnologies au niveau cellulaire 43
La maîtrise de la reproduction à l'identique 43
La « manipulation » des niveaux de ploïdie 44
Le doublement chromosomique et les croisements interspécifiques 44
L'haplodiploïdisation 45
La maîtrise de la recombinaison et l'utilisation de la variation interspécifique 46
La ré-association des organites cytoplasmiques 47
L'apport des biotechnologies au niveau des gènes et de la recombinaison 49
La mutagénèse 49
Les marqueurs moléculaires 49
Définitions 49
Cartographie génétique et détection de gènes ou de QTL 50
La sélection assistée par marqueurs 50
L'apport de la génomique 53
Conclusion 54

3. Un nouvel outil : la transgénèse 55
Le contexte moléculaire 55
Gènes et génome 55
L'universalité du code génétique 57
Des espèces éloignées ont beaucoup de gènes communs 58
Des gènes fragmentés et de l'ADN non codant 59
Taille des génomes 60
La régulation du fonctionnement des gènes 62
La transgénèse 63
Retour sur la définition 63
Pourquoi la transgénèse ? 64
Construction du transgène 65
Les outils et méthodes à la disposition du généticien 66
Les principaux outils de manipulation de l'ADN 66
Action sur l'expression d'un gène 67
Les méthodes d'isolement d'un gène 67
La multiplication du transgène 68
Les méthodes de transformation 68
La transformation par *Agrobacterium tumefaciens* 69
Le transfert direct 72
L'insertion et l'expression du gène 73
Le processus d'intégration 73
Les risques d'une insertion non maîtrisée 73

La notion d'événement de transformation 74
Génétique du transgène 75
L'élimination des gènes marqueurs 75
La transgénèse au niveau du chloroplaste (transplastomique) 78
Conclusion 79
La transgénèse comme outil pour la connaissance 79
Analyse de la fonction d'un gène 79
Analyse de l'expression d'un gène 79
Analyse de l'adressage des protéines 80
Génétique inverse 80
La transgénèse pour la construction de génotypes 80

4. Ce qu'apporte ou peut apporter la transgénèse 83

Des variétés transgéniques pour protéger et régulariser la production agricole 83
Contexte agronomique et économique 83
Importance des pertes de récolte 83
La difficulté d'une analyse économique de l'apport des variétés transgéniques résistantes aux insectes et aux herbicides 85
La résistance aux insectes 86
Éléments généraux 86
Le maïs *Bt* 88
Le cotonnier *Bt* 93
La résistance aux herbicides 95
Éléments généraux 95
Le soja résistant aux herbicides 97
Autres espèces 100
Bilan des avantages des variétés transgéniques résistantes aux herbicides 103
Quelques autres travaux en développement 103
L'adaptation au milieu 103
La résistance aux maladies 110
Les plantes transgéniques, un espoir pour une agriculture durable 114
Variétés transgéniques pour le consommateur 115
Variétés transgéniques pour la qualité nutritionnelle 115
Qualité des apports glucidiques 115
Équilibre des acides aminés 115
Qualité des acides gras (des huiles de soja, colza, tournesol…) 117
Teneur en anti-oxydants des légumes ou des fruits 119
Variétés transgéniques pour des fruits de plus longue conservation 120
Autres exemples 120
Variétés transgéniques pour les qualités culinaires 120
Variétés transgéniques pour des fruits sans pépins 120
Variétés transgéniques pour des qualités esthétiques 120

Variétés transgéniques pour la santé 121
Des aliments plus sains 121
Des plantes plus riches en vitamines : exemple du riz doré 121
Des céréales moins allergéniques 123
Moins de mycotoxines 123
Les plantes pharmaceutiques 123
Les plantes productrices de protéines pharmaceutiques 123
Accumulation dans la feuille ou dans la graine ? 124
Les plantes productrices de vaccins 126
Les alicaments 126
Variétés transgéniques pour l'alimentation animale 127
L'amélioration de la qualité protéique pour les animaux monogastriques 127
L'amélioration de la digestibilité de la plante entière 127
La digestibilité du phosphore des graines par les monogastriques 128
Variétés transgéniques pour l'industrie 129
La qualité des amidons pour usage alimentaire ou industriel 129
Des huiles particulières en jouant sur la longueur de la chaîne de synthèse des acides gras 129
Industrie du papier à partir du bois 130
Les biocarburants 131
La fabrication de biomatériaux 131
Variétés transgéniques pour le type de variétés et pour éviter les flux de pollen : la stérilité mâle 131
L'apport possible des variétés transgéniques pour les PVD 135
Évolution de la population mondiale 135
Évolution de la production 135
Le rôle de l'amélioration conventionnelle des plantes et des variétés transgéniques 137
Bilan sur les apports des variétés transgéniques 139
Intérêt pour l'agriculteur 139
Intérêt pour le consommateur et pour l'environnement 140
Intérêt pour la production de substances particulières 141
Conclusion 141

5. Quels sont les risques associés aux plantes transgéniques ? 143
Les risques pour l'environnement 144
La dispersion des transgènes et la probabilité de leur intégration dans le génome des plantes sauvages 145
La dispersion du pollen et des graines 145
La probabilité d'intégration du transgène dans le génome des espèces voisines 151
Bilan selon les espèces et les variétés 153
Les risques pour la flore sauvage et les cultures non transgéniques 156
La notion de valeur sélective 156
Le risque d'invasivité d'une variété transgénique 157

Les risques pour la flore sauvage 158
Les risques avec les variétés transgéniques résistantes aux herbicides 159
Les risques pour les cultures non transgéniques de la même espèce 161
Les risques par rapport aux populations de parasites 162
Les risques avec les variétés transgéniques résistantes aux maladies 162
Les risques avec les variétés transgéniques résistantes aux insectes 163
Les risques d'échanges d'ADN entre variétés transgéniques et bactéries (transfert horizontal) 169
Toxicité pour l'environnement 171
Risque de pollution du sol 171
Risque de pollution des nappes phréatiques, cas des variétés résistantes aux herbicides 172
Risques pour la biodiversité 172
L'effet des variétés transgéniques sur les populations bactériennes de la rhizosphère 173
L'effet de la culture de variétés transgéniques résistantes aux herbicides sur la faune du champ cultivé 173
Conclusion 175
Les risques pour la santé 175
Le risque allergénique 175
Le soja transformé avec un gène de la noix du Brésil 176
Le maïs StarLink® 176
Le risque de toxicité 177
Les métabolites secondaires de la résistance aux herbicides 177
L'affaire Pusztai et l'effet toxique des plantes transgéniques 178
La valeur alimentaire des plantes *Bt* 179
Le cas des variétés transgéniques pharmaceutiques 179
Cas de la production de L-tryptophane 180
Risque de développement d'une résistance à certains antibiotiques 181
Conclusion 181
Les risques socio-économiques 181
La dépendance de l'agriculteur 181
Conséquence pour les PVD 182
La diminution des prix agricoles 183
Le brevetage des transgènes et la concentration des entreprises 183
Justification d'une protection 183
Conséquence du brevet sur les transgènes et les variétés 185
Conclusion 187

6. Comment le développement des plantes transgéniques est encadré 189
Le principe de précaution 189

Aspects réglementaires relatifs à l'expérimentation et à la mise sur le marché de plantes transgéniques 191
Le cadre européen de la réglementation 192
Les commissions chargées des études 192
Les études en milieu confiné : la Commission de génie génétique (CGG) 193
Dissémination volontaire et mise sur le marché : la Commission de Génie biomoléculaire (CGB) 193
Pourquoi une réglementation spécifique ? 198
L'évaluation des risques liés à la dissémination volontaire des variétés transgéniques 199
L'évaluation des risques pour la santé 199
L'évaluation du risque allergénique 199
L'évaluation du risque toxique 201
L'évaluation des risques pour l'environnement 202
Les mesures de protection 202
La biovigilance 202
L'information du consommateur 204
L'étiquetage 204
La traçabilité 205
La séparation des filières OGM/non-OGM 207
Coûts et problèmes liés à la coexistence des deux filières OGM/non-OGM 208
Conclusion 214

7. Sur les raisons du refus des plantes transgéniques et ses conséquences 215

Les raisons de la non-acceptation des plantes transgéniques 217
Peu ou pas d'intérêt des variétés transgéniques actuellement commercialisées 218
Les risques et le principe de précaution 220
La perception de la notion de risque 220
Les risques pour la santé 220
Les risques pour l'environnement 221
La méconnaissance de la balance bénéfices/risques et le refus de tout risque 221
Le risque et les innovations 222
La non séparation des filières 222
La gestion sociale de l'innovation 223
Le déficit d'information et de communication 223
Influence des associations opposées aux OGM 223
La gestion politique et le manque de confiance dans les institutions 224
La mauvaise communication sur certains faits 225
Les erreurs de communication des entreprises 226
La méfiance à l'égard de l'innovation « OGM » 226
L'effet nouveauté 226

La peur que l'on touche au vivant, au naturel 226
Il ne faut pas toucher à la nourriture 227
Le manque de confiance envers certains acteurs 227
Les raisons politiques, idéologiques voire éthiques 228
La concentration du pouvoir sur le vivant 228
Un attrait pour le naturel, un choix de vie 229
Risques pour les PVD 230
Conclusion 232
Conséquences et conclusions à tirer du refus des plantes transgéniques 232
Conséquences du blocage du développement des variétés transgéniques 232
La destruction des essais au champ 232
Conséquences pour les recherches en biologie et biotechnologie végétales 234
Conséquences pour les entreprises de sélection végétale 235
Conséquences au niveau européen pour l'agriculture, l'agro-alimentaire et la bio-industrie 235
Quelles conclusions à tirer de l'opposition aux plantes transgéniques d'une grande partie de la société 236
La nécessité d'une nouvelle relation entre science, société et politique 236
Des pistes de recherche d'un nouveau type de relation entre science-société-politique 237
Conclusion 242

Conclusion générale 245

Références bibliographiques 249

Glossaire 269

Abréviations 279

Index 281

Avant-propos

L'histoire des plantes transgéniques est tout à fait récente. Au niveau expérimental, la mise au point de la première plante transgénique, un tabac, remonte à 1983 (voir encadré). À partir ce moment, tout est allé très vite aux États-Unis, avec la commercialisation en 1994 d'une tomate transgénique à mûrissement retardé, et en 1995 avec les premières variétés transgéniques de soja résistant à un herbicide total, de cotonnier et de maïs résistants à certains insectes ravageurs, et la mise au point de bien d'autres plantes transgéniques. Jusqu'à cette époque, l'Europe, qui a joué un rôle important dans les recherches sur la transgénèse, suivait le mouvement et les débats sur les plantes transgéniques étaient seulement d'ordre technique et scientifique, sans interrogations fortes de la part de la communauté scientifique comme de la société. Le débat public a vraiment commencé en 1997. Le 23 janvier 1997, la Communauté européenne autorise l'importation et la mise en culture d'un maïs transgénique de la société Novartis, résistant à la pyrale, mais la France, alors sous le gouvernement Juppé, ne l'autorise qu'à l'importation, et donc à la consommation, mais non à la mise en culture sur son territoire. Le président de la Commission de génie biomoléculaire qui avait conclu à l'absence de risque, heurté par cette décision, démissionne. En novembre 1997, l'autorisation de mise en culture est donnée par le gouvernement Jospin, mais en 1998, suite aux réactions des Verts, un moratoire est décidé pour le colza et la betterave, alors que d'autres autorisations de mise en culture sont données pour le maïs. À partir de cette date, et de cette controverse créée par les politiques, le dossier OGM devient confus. Les plantes transgéniques deviennent alors un sujet de société avec des débats très fréquents, passionnés, polémiques et des prises de positions politiques, de sorte qu'aujourd'hui, il n'est pas toujours facile d'y voir clair pour une personne non informée de toutes les facettes du dossier.

Le développement des plantes transgéniques a ainsi été stoppé, en France, à partir de 1998. Il en est maintenant de même dans la plupart des pays de l'Europe, sauf en Espagne où le maïs transgénique connaît un début de développement. L'expérimentation même sur les plantes transgéniques a pratiquement été arrêtée. Au contraire, en Amérique du Nord (États-Unis, Canada) et Argentine, à travers quatre espèces (soja, maïs, coton, colza) et essentiellement deux types de transgènes (résistance aux insectes et tolérance aux herbicides) les plantes transgéniques sont toujours en pleine expansion ; elles couvrent maintenant plus de 90 millions d'hectares dans le monde. Le blocage des plantes transgéniques en Europe, et en particulier en France, a des origines multiples. Le consommateur-citoyen ne perçoit ni les avantages directs (prix et qualité des produits) ni les bénéfices pour l'agriculture et l'environnement à recourir aux plantes transgéniques. Il manifeste aussi une

inquiétude pour sa santé. Cette inquiétude trouve essentiellement ses racines dans les crises sanitaires traversées par la France (sang contaminé, vache folle). Plus généralement, la réaction contre les plantes transgéniques se nourrit aussi de la dimension symbolique des OGM qui est à la fois d'ordre culturel (artificialisation du vivant, transgression des barrières entre espèces), éthique (appropriation du vivant, injustice Nord/Sud), et d'ordre économique voire politique (mondialisation des échanges, concentration industrielle). Ces différents aspects sont souvent mélangés dans les débats.

Les grandes étapes du développement commercial des variétés transgéniques (1983-2004)

1983 : obtention des premières plantes transgéniques indépendamment par quatre groupes : l'université de Washington à St Louis, Missouri, États-Unis (Framond *et al*., 1983), la Rijksuniversiteit à Gand, Belgique (Schell *et al*., 1983), la Société Monsanto à St Louis, Missouri, États-Unis (Fraley *et al.,* 1983), et l'université du Wisconsin, États-Unis (Murai *et al.*, 1983).
1985 : production de la première plante transgénique, un tabac dans le génome duquel a été introduit un gène codant pour une toxine de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, entraînant la résistance aux insectes.
1986 : premiers essais au champ d'un tabac résistant à un antibiotique (aux États-Unis). En France, mise en place de la Commission de génie biomoléculaire (CGB), sous la tutelle du ministère de l'Agriculture.
1988 : plantes transgéniques obtenues chez de nombreuses espèces (soja, betterave à sucre, riz, luzerne, colza, tournesol, peuplier…) ; premières plantes « pharmaceutiques ».
1989 : premières demandes de mise sur le marché de variétés transgéniques.
1994 : première commercialisation aux États-Unis d'une variété de tomate à maturation retardée (Calgene).
1995 : première commercialisation aux États-Unis d'un maïs résistant à un insecte : la pyrale avec l'introduction d'un gène codant pour une toxine de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), (dit maïs *Bt*), du coton *Bt*, du soja résistant à un herbicide, le Roundup®.
1996 : première commercialisation en Grande Bretagne d'une tomate transgénique plus facile à transformer en concentré (Zeneca). Campagne internationale de Greenpeace contre la commercialisation d'OGM dans le domaine de l'alimentation et contre leur dissémination dans l'environnement. Autorisation par la CE de la culture d'un maïs *Bt* (Novartis) et de l'importation du soja résistant à l'herbicide, le Roundup® (Monsanto).
1997 : autorisation par la CE de l'importation et de la culture du maïs *Bt* « Pactol » (Novartis) pour l'alimentation humaine et animale. Accord de la France le 5 février 1997, puis le 12 février retrait de l'autorisation de culture en France par le gouvernement Juppé. Démission du Président de la CGB. Levée de l'interdiction de culture en novembre 1997 par le gouvernement Jospin.
1998 : homologation de plusieurs maïs transgéniques en Europe. Suspension de nouvelles autorisations par la France, l'Italie, la Grèce, le Danemark et le Luxembourg. Étiquetage obligatoire des produits alimentaires contenant des OGM. En France, par l'arrêté du 5 février, inscription au catalogue officiel de 3 variétés de maïs transgénique *Bt* de Novartis (César, Furio, Occitan). Demande d'annulation en

Conseil d'État de la culture du maïs *Bt* par les associations Greenpeace, Europa France, les Amis de la Terre, la Confédération paysanne et quelques particuliers. Suspension de l'arrêté du 5 février et affaire portée devant la Cour de justice de la CE. Les 20-21 juin 1998, première « conférence des citoyens » sur les plantes transgéniques organisée par l'OPECST. Le 3 août 1998 : nouvelles autorisations de mise en culture de variétés transgéniques de maïs. Moratoire pour les variétés transgéniques de colza et de betterave.
1999 : moratoire sur les variétés transgéniques au niveau européen.
2000 : réglementation de l'étiquetage. Obligation pour la France d'autoriser la culture du maïs *Bt* sur son territoire sauf si elle apporte des informations prouvant que l'aliment présente un risque pour la santé humaine ou pour l'environnement. Acceptation par le Conseil d'État de la culture du maïs *Bt*. Extension à 10 ans de la durée de l'autorisation de culture par les magistrats européens alors que l'arrêté initial la limitait à 3 ans.
2003 : ratification par au moins 50 pays (sans les États-Unis) du protocole de biosécurité de Carthagène fixant des règles strictes pour les mouvements transfrontaliers des OGM (importation et exportation).
2004 : obligation d'étiquetage dans l'Union européenne, de tous les produits contenant plus de 0,9 % d'OGM, qu'ils soient pour la consommation humaine ou animale. Levée du moratoire sur les variétés transgéniques.
2005 : il y a 90 millions d'ha de variétés transgéniques dans le monde.

Le but de cette synthèse est alors de rassembler dans un même document les informations pour mieux comprendre les objets du débat et donner des références précises sur chacun d'eux. Qu'est-ce que la transgénèse ? Qu'apporte-t-elle ou que peut-elle apporter ? Quels sont les risques éventuels ? Les bases de l'opposition aux plantes transgéniques sont-elles de nature technique, scientifique, éthique, économique ou politique ? Quelles sont les conséquences possibles de leur refus ? Nous souhaitons apporter les éléments permettant de faire une véritable balance bénéfices/risques en citant pour tous les points abordés des références majeures des travaux publiés sur lesquels nous nous sommes appuyés, car la communication sur ce sujet a été essentiellement centrée sur les risques et souvent avec une omission des références, ce qui peut permettre la déformation de certains faits.

Nous examinerons d'abord l'importance économique des variétés transgéniques aujourd'hui dans le monde (chap. 1). Ensuite, nous montrerons dans le chapitre 2 que l'amélioration des plantes fait du génie génétique depuis qu'elle est devenue une discipline s'appuyant sur les lois de la génétique pour transformer de façon plus efficace le génome des plantes afin de réunir le maximum de gènes favorables dans une même population de plantes, la variété. Dans le chapitre 3, nous définirons la transgénèse, ce nouvel outil mis à la disposition du chercheur et du sélectionneur. Dans le chapitre 4, nous présenterons différents exemples pour illustrer ce que les variétés transgéniques apportent ou peuvent apporter au chercheur (pour ses recherches cognitives), à l'agriculteur (pour la protection et la diversification de ses productions), à l'industriel (pour la qualité technologique et la synthèse de différentes substances) et au citoyen (pour la qualité de son alimentation, sa santé et la protection de son environnement). Cependant, comme certaines de ces innovations peuvent présenter des risques pour la santé et l'environnement et avoir un impact sur l'économie, nous examinerons ceux-ci dans le chapitre 5 selon les espèces, les

transgènes et leurs conditions d'utilisation. Nous présenterons alors dans le chapitre 6 les mesures réglementaires qui sont prises pour contrôler les risques éventuels pour la santé et pour l'environnement. Enfin dans le chapitre 7, en guise de conclusion, à la lumière des chapitres précédents, nous discuterons les raisons diverses du blocage des plantes transgéniques et leurs conséquences au niveau de l'agriculture, de la recherche et de l'industrie.

Cet ouvrage s'adresse à tout lecteur s'intéressant aux questions soulevées par le développement des plantes transgéniques :
– aux citoyens, qui s'interrogent sur la balance bénéfices/risques,
– aux étudiants en biologie végétale et en amélioration des plantes qui auront à gérer plus tard, dans leur activité professionnelle, des innovations en biotechnologies,
– aux enseignants, qui ont la lourde responsabilité de former les étudiants en biologie,
– aux chercheurs, aux ingénieurs et responsables de la sélection végétale qui peuvent se poser des questions sur leur mission et la façon de communiquer sur ce qu'ils font avec la société civile,
– et aux décideurs, dont les politiques qui sur des sujets comme celui des plantes transgéniques, à l'écoute de la société, doivent la protéger, tout en stimulant les innovations source de progrès.

Dans tous les chapitres les principales notions sont redéfinies, permettant au non-biologiste d'en comprendre tous les aspects. Mais, nous avons aussi voulu que cet ouvrage apporte des précisions à ceux qui ont une certaine culture en biologie, d'où l'approfondissement de la présentation de la technique de transgénèse et des exemples qui sont donnés.

N.B. *Différentes orthographes du mot transgénèse existent ; transgenèse et transgénèse. La première écriture n'est pas neutre, car elle peut laisser sous-entendre que l'on transgresse les barrières de la genèse, ce qui n'est pas toujours le cas, nous le verrons. La deuxième écriture se réfère plus directement au transfert du gène et recouvre donc toutes les situations de transferts intra ou interspécifiques, voire inter-règnes, c'est pourquoi, à l'instar d'autres généticiens, nous l'avons retenue. D'ailleurs cette écriture est très cohérente avec celle de « mutagénèse »*.

Notions de génétique et d'amélioration des plantes

Les constituants cellulaires et leur rôle

Les organismes vivants, animaux ou végétaux, sont constitués de millions de **cellules**, véritables briques élémentaires qui forment leurs tissus et organes. Chaque cellule renferme un **noyau** et d'autres nombreux **organites**, les mitochondries et les plastes (spécifiques aux plantes). Les mitochondries jouent un rôle essentiel dans la respiration, et chez les plantes, des plastes importants, appelés chloroplastes, sont le siège de l'activité photosynthétique. Ces organites ont une origine bactérienne. Dans le noyau et dans chacun de ces organites se trouve de l'**ADN** (acide désoxyribonucléique), véritable support d'informations pour le contrôle du fonctionnement des cellules et le déterminisme des caractères (voir chap. 3).

L'ADN du noyau est organisé en unités indépendantes appelées **chromosomes**. Chez les espèces **diploïdes** ou à fonctionnement diploïde, les chromosomes sont eux-mêmes organisés en paires indépendantes dont le nombre est caractéristique d'une espèce ou d'un groupe d'espèces apparentées. Les chromosomes d'une paire sont dits **homologues**, car ils ont la même structure et leur ADN code pour les mêmes fonctions ; pour chaque paire l'un des chromosomes vient du mâle, l'autre vient de la femelle. À l'issue d'un processus de division cellulaire particulier (la **méiose),** il se forme des cellules reproductrices, les **gamètes,** qui ne contiennent qu'un chromosome de chaque paire. Chaque chromosome d'un gamète résulte en fait d'une **recombinaison** (**crossing-over**) entre les deux chromosomes homologues d'une paire. Chez les plantes, le gamète mâle est le **pollen** et le gamète femelle est l'**ovule**. Les gamètes, avec le nombre de chromosomes ainsi divisé par deux, sont dits **haploïdes** pour une espèce diploïde. Au moment de la **fécondation**, la fusion d'un gamète mâle et d'un gamète femelle donne alors une nouvelle cellule diploïde avec le nombre total de chromosomes de l'espèce. Cette cellule, après de nombreuses divisions appelées **mitoses**, redonne un organisme, constitué de différents organes, avec des cellules spécialisées dans leur fonction, bien qu'ayant toutes le même noyau.

La transmission des organites à la descendance est en général maternelle, mais il existe des exceptions, comme les gymnospermes (voir p. 78). À la différence de l'ADN du noyau, organisé en plusieurs chromosomes, l'ADN des mitochondries et des chloroplastes est organisé en un seul chromosome, comme chez les bactéries, mais avec un grand nombre de copies par cellule, et beaucoup moins d'information génétique que celle portée par le noyau.

Gènes et allèles

Les gènes sont des séquences d'ADN qui déterminent les caractères, par exemple la couleur des fleurs. Plus généralement les gènes codent pour la synthèse d'une protéine qui elle même a une certaine fonction ou détermine un caractère (voir chap. 3). Chaque gène occupe une position précise, ou **locus**, sur un chromosome. Pour une espèce donnée, tous les individus ont bien les mêmes gènes, c'est-à-dire les mêmes fonctions, mais ils n'ont pas tous la même information génétique. Ainsi, au sein d'une espèce, pour le caractère « couleur de fleur », selon les plantes considérées c'est l'information couleur blanche ou couleur rouge qui sera présente. Ces variantes de l'information pour une fonction donnée, à un locus donné, sont appelées des **allèles**. C'est la diversité des allèles qui est à la base de la variation utilisée en sélection.

Caractères qualitatifs et caractères quantitatifs

On distingue des **caractères qualitatifs** à variation discontinue (couleur de fleurs, résistance à certaines maladies) et les **caractères quantitatifs** à variation continue (le rendement en grains). Les caractères qualitatifs sont déterminés par un nombre réduit de gènes (ou deux) et en général assez peu affectés par le milieu, alors que les caractères quantitatifs sont souvent déterminés par un grand nombre de gènes (on dit qu'ils sont polygéniques) et affectés par le milieu.

Génotype et phénotype

On parle de **génotype** pour caractériser l'ensemble des allèles portés par un individu à des locus donnés. Par extension, on assimile souvent génotype et individu pour représenter l'ensemble des gènes portés par un individu. En effet, compte tenu du très grand nombre de génotypes possibles, deux individus non très proches parents, ne peuvent pas avoir le même génotype sur l'ensemble du génome.

Si à un locus donné, chez une espèce diploïde, les deux gènes représentent la même information génétique (le même allèle), le génotype est dit **homozygote** ; si les deux informations sont différentes, donc s'il y a deux allèles, le génotype est dit **hétérozygote**.

Pour un caractère donné, **le phénotype** représente l'état (caractère qualitatif) ou la valeur de ce caractère au niveau de l'individu. Il est le résultat de l'action des gènes et de l'effet du milieu. À un locus, chez un génotype hétérozygote si l'effet de l'un des allèles masque l'effet de l'autre allèle, on parle de **dominance**. L'allèle dont l'effet est masqué est dit **récessif**. Si les effets des deux allèles sont visibles, on parle de **co-dominance** et si, pour un caractère mesurable, l'hétérozygote est exactement intermédiaire entre les deux homozygotes, on dit qu'il y a **additivité** des effets des gènes.

L'effet du milieu va perturber la correspondance entre la valeur génétique attendue sur la base des effets des gènes et la valeur observée au niveau du phénotype. Pour

un caractère quantitatif, **l'héritabilité** au sens large mesure le degré de correspondance entre ces deux valeurs. L'héritabilité au sens étroit mesure la ressemblance entre parents et enfants. Il ne faut pas confondre cette notion d'héritabilité avec l'hérédité qui est seulement la transmission des gènes d'une génération à l'autre.

⏩ Systèmes de reproduction chez les plantes

Les plantes peuvent être à reproduction sexuée, par graines (comme les céréales par exemple) ou à multiplication végétative (exemple : la pomme de terre). Parmi les plantes à reproduction sexuée, on distingue les plantes autogames et les plantes allogames.

Les **plantes autogames** correspondent aux plantes qui se reproduisent naturellement avec elles-mêmes (par autofécondation), c'est-à-dire que le pollen d'une fleur va germer sur les stigmates et fusionner avec les ovules de cette même fleur (exemples : le blé, l'orge, la tomate, le pois…). La fécondation peut même avoir lieu avant l'ouverture de la fleur : les plantes sont dites **cléistogames**.

Les **plantes allogames** correspondent aux plantes à fécondation croisée totale (allofécondation) ou partielle. Différents mécanismes peuvent favoriser cette fécondation croisée :
– séparation des sexes sur la plante ou monoécie (exemple : le maïs, le ricin…),
– séparation des sexes sur des plantes différentes ou dioecie (exemple : l'asperge, le chanvre…),
– l'auto-incompatibilité (barrière contrôlée par un gène qui fait que le pollen ne peut pas germer sur un stigmate d'une plante portant le même gène),
– la compétition pollinique (le pollen étranger est souvent favorisé par rapport à l'autopollen chez une plante allogame),
– la nécessité de l'intervention des insectes pour la pollinisation (cas de certaines légumineuses comme la luzerne).

D'une façon plus générale, chez les plantes allogames, le pollen peut être transporté par le vent, les plantes sont alors dites **anémophiles**, et s'il est transporté par les insectes, les plantes sont dites **entomomophiles**.

⏩ Les types de variétés

Une variété, au sens du sélectionneur, est une population artificielle à base génétique plus ou moins étroite, voire réduite à un génotype chez les variétés modernes, reproductible selon un schéma déterminé et de caractéristiques agronomiques bien définies. Chez les plantes à reproduction sexuée, on distingue :
– les **variétés populations**, qui n'existent pratiquement plus que chez certaines espèces allogames (légumineuses fourragères pérennes par exemple), chez lesquelles la production de semences se fait simplement par croisement au hasard (panmixie) d'un grand nombre de plantes d'une génération. Dans ce cas, à chaque multiplication, on avance d'une génération.

– les **variétés synthétiques** : développées chez les plantes allogames, ce sont des populations obtenues par multiplication pendant un nombre déterminé de générations (2 à 4) de la descendance de l'intercroisement naturel ou manuel d'un nombre limité de constituants (clones, lignées ou familles, souvent de 4 à 10). C'est toujours la même génération qui est commercialisée.
– les **variétés lignées pures,** le plus souvent développées chez les espèces autogames qui tolèrent la consanguinité. Ce sont des variétés formées par un seul génotype homozygote, qui par autofécondation se reproduit donc de façon identique à lui-même ; toutes les plantes d'une même lignée ont donc le même génotype.
– les **variétés hybrides** : les variétés hybrides résultent du croisement contrôlé de deux parents : deux lignées pures pour les hybrides simples, une femelle hybride simple et un mâle lignée pour les hybrides trois voies, une femelle et un mâle hybride simple pour les hybrides doubles. Une variété hybride simple, résultat du croisement de deux lignées homozygotes est donc formé d'un seul génotype, mais plus ou moins hétérozygote. Ce type de variétés est le plus souvent développé chez les plantes allogames où la consanguinité a un effet défavorable sur la vigueur. Il impose le renouvellement des semences à chaque génération pour bénéficier des performances maximales.

Enfin chez les plantes à multiplication végétative, ce sont en général des variétés **clones** qui sont commercialisées. Elles correspondent donc à un seul génotype plus ou moins hétérozygote.

Une variété transgénique correspond a une variété, quel que soit son type, dont toutes les plantes sont porteuses du même transgène.

Chapitre 1

Les OGM sont déjà dans notre vie

⏩ Importance des plantes transgéniques dans le monde

Surfaces totales et pays concernés

Le développement des plantes transgéniques à l'échelle commerciale a vraiment commencé en 1996. En 2002, la surface totale cultivée dans le monde avec des plantes transgéniques atteignait 58,7 millions d'hectares (ha) ; elle a alors régulièrement augmenté : + 15 % en 2003, + 20 % en 2004, et + 11 % soit 90 millions ha en 2005 (fig. 1.1). Cette surface représente pratiquement cinq fois la surface totale cultivée en France (18,4 millions ha), 6 % de la surface cultivée dans le monde (1,5 milliard ha) et 25 % des surfaces totales en soja, maïs, coton et colza (environ 359 millions ha). Les plantes transgéniques concernaient alors 8,5 millions d'agriculteurs répartis dans 21 pays.

En 2005, en Amérique du Nord (États-Unis avec 49,8 millions ha, Canada 5,8 millions ha) et en Argentine (17,1 millions ha) à travers quatre espèces (soja, cotonnier, maïs et canola) et essentiellement deux types de transgènes (conférant la résistance aux insectes et la tolérance aux herbicides), les plantes transgéniques étaient toujours en pleine expansion. La surface dans les Pays en Voie de Développement (PVD) est aussi en augmentation constante et a atteint 33,9 millions ha en 2005, soit 38 % de la surface totale en plantes transgéniques. C'est dans ces pays que l'augmentation a été la plus forte de 2004 à 2005 (fig. 1.1), + 22 %, contre 10,5 % dans les autres pays (Isaaa, 2005). Après la Chine (3,5 millions ha en cotonnier *Bt*, résistant aux insectes), le Brésil (9,4 millions ha de soja résistant aux herbicides), le Paraguay (1,8 million ha de soja résistant aux herbicides), l'Inde (1,3 million ha de cotonnier *Bt*), l'Afrique du Sud (500 000 ha), l'Uruguay (300 000 ha) et l'Australie (250 000 ha) sont significativement engagés dans cette voie. On peut ajouter à ces pays près d'une dizaine d'autres pays du Sud où le développement de la culture des plantes transgéniques a commencé : Mexique (déjà 75 000 ha en 2004), Honduras, Chili, Costa Rica, Guatemala, Colombie, Venezuela, Malaisie, Indonésie, Thaïlande, Zimbabwe, Kenya, Iran… Des pays d'Afrique comme le Burkina Faso, le Mali, le Cameroun ont adopté ou vont adopter une législation autorisant l'expérimentation

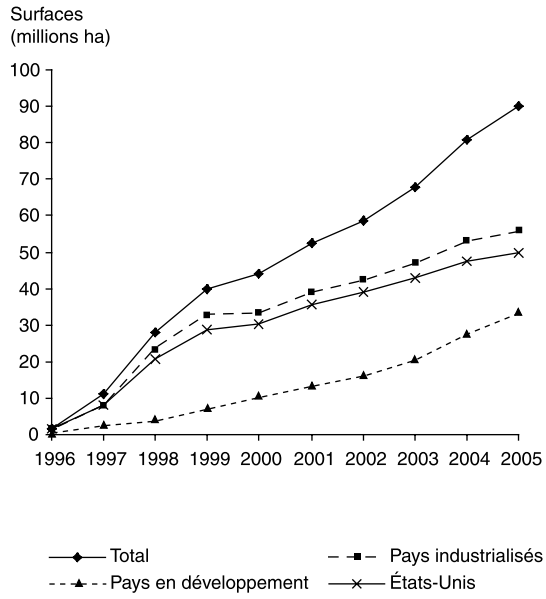


Figure 1.1. Évolution des surfaces cultivées avec des plantes transgéniques dans le monde, aux États-Unis et hors États-Unis, en millions d'hectares (James, 2005).

des plantes transgéniques sur leur territoire, sans doute en préliminaire au développement de certaines cultures transgéniques, en particulier le cotonnier. Par ailleurs, les perspectives de développement hors États-Unis, Canada, Argentine sont grandes dans les pays qui ont déjà adopté les cultures transgéniques. Ainsi, le cotonnier représente 8,4 millions d'ha en Inde, 4,5 millions d'ha en Chine, 3 millions d'ha au Pakistan, 2,7 millions d'ha dans les pays de l'ex-URSS… contre seulement 4,9 millions d'ha aux États-Unis. Au cours des prochaines années, les surfaces totales en plantes transgéniques devraient dépasser 100 millions d'ha.

En revanche, dans la plupart des pays de l'Europe, le développement des plantes transgéniques est faible, voire nul, sauf pour l'Espagne qui a cultivé en 2004 environ 60 000 ha de maïs *Bt* (12 % des surfaces en maïs). Il faut aussi mentionner la Roumanie qui a aussi cultivé en 2004 environ 70 000 ha de soja tolérant aux herbicides.

Répartition par pays

Si la culture des plantes transgéniques a été observée de façon significative dans 21 pays en 2005 (fig. 1.2), elle est principalement concentrée dans quelques pays : 99 % des surfaces en plantes transgéniques dans le monde sont dans 8 pays, soit dans l'ordre décroissant : États-Unis 55,3 %, Argentine 19 %, Brésil 10,4 %, Canada 6,6 %, Chine 3,8 %, Paraguay 2 %, Inde 1,4 % et l'Afrique du Sud 0,55 %, soit 93,3 % sur le continent américain (fig. 1.3). La quasi-absence de l'Europe est évidemment le résultat de l'opposition anti-OGM. En 1997, les plantes transgéniques démarraient en France, avec seulement un à deux ans de retard par rapport aux États-Unis. Maintenant le développement des cultures transgéniques aux États-Unis est très important et ils entraînent avec eux le Canada et une grande partie de

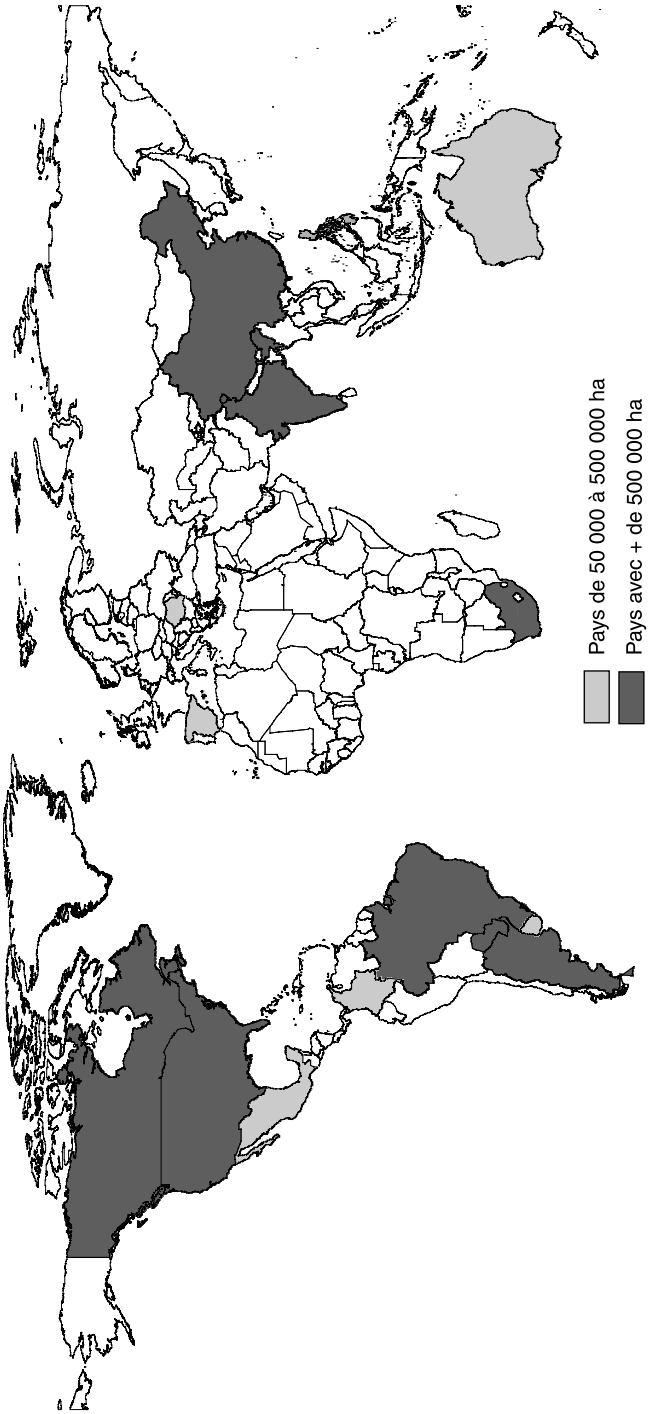


Figure 1.2. La distribution des cultures transgéniques dans le monde.

l'Amérique du Sud. Le fait que trois des quatre grandes entreprises de biotechnologies soient américaines ou installées aux États-Unis (Monsanto, Dupont et Syngenta) a sans doute joué un rôle dans ce développement.

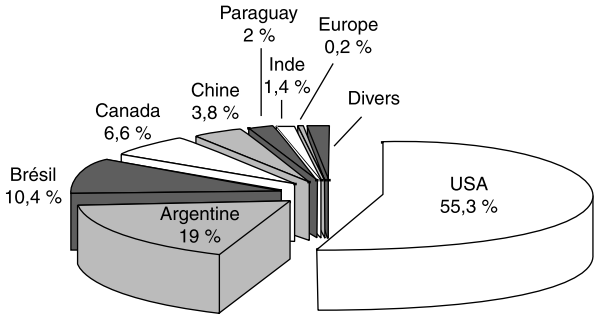


Figure 1.3. Répartition des plantes transgéniques par pays en 2005 (James, 2005).

La croissance la plus forte ces dernières années a été en Chine. Les plantes transgéniques occupent maintenant plus de 65 % de la superficie en cotonnier. Les recherches en génétique végétale dans ce pays sont à l'heure des biotechnologies et portent sur plus de 120 gènes (surtout pour le riz, le blé et la pomme de terre). Ainsi, le budget de la recherche chinoise en biotechnologies végétales était de 680 millions d'euros en 2005. Actuellement seules des plantes transgéniques de cotonnier y sont cultivées à grande échelle, mais à court terme des plantes transgéniques de riz et de pomme de terre le seront aussi (Cao, 2004).

Certains pays, à l'instar de la Chine, comme l'Inde et le Brésil, investissent beaucoup dans la recherche en biotechnologies végétales. Suite à la conférence à Rio en juin 1992, avec la signature de la convention sur la biodiversité, ils entendent monnayer leurs ressources génétiques contre les « techniques » en biotechnologies. En effet, la convention a affirmé le principe de souveraineté nationale sur les ressources génétiques et demande un partage juste et équitable des bénéfices issus de l'exploitation des ressources génétiques végétales (c'est-à-dire des résultats de la recherche et des avantages résultant de l'utilisation commerciale). Cependant les États-Unis n'ont pas signé cette convention.

Répartition par espèce

Depuis le début de la culture des plantes transgéniques, quatre espèces (soja, maïs, cotonnier, colza) représentent plus de 99 % des surfaces en variétés transgéniques dans le monde (fig. 1.4). Le soja à lui seul contribue pour 60 % à ces surfaces. Par rapport aux surfaces cultivées dans le monde, en 2005 les variétés transgéniques représentaient par espèce 56 % des surfaces en soja, 28 % des surfaces en cotonnier, 19 % des surfaces en colza et 14 % des surfaces en maïs.

Le soja

En 2005, le soja transgénique totalisait à lui seul 54,4 millions d'ha, soit 60 % des surfaces mondiales en variétés transgéniques et 63,2 % des surfaces mondiales en soja (86 millions d'ha). Il représentait 81 % du soja américain et 90 % du soja

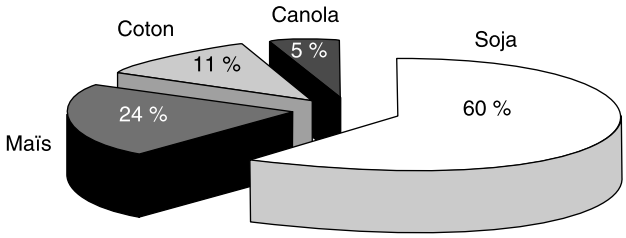


Figure 1.4. Répartition des plantes transgéniques cultivées dans le monde selon les espèces (James, 2005).

argentin. Le fort développement du soja transgénique aux États-Unis est dû au développement de variétés transgéniques résistantes à l'herbicide (100 % des cultures de soja transgénique) qui simplifient beaucoup la culture (chap. 4). En 2004, au Mississipi, 89 % des surfaces en soja étaient semées avec des variétés transgéniques résistantes aux herbicides. On peut prévoir que très prochainement, pratiquement 100 % de surfaces en soja aux États-Unis seront semées avec des variétés transgéniques. Au Brésil le développement récent du soja transgénique résistant aux herbicides (9,4 millions d'ha), bien qu'interdit jusqu'en 2005, est dû à la compétition économique avec son voisin, l'Argentine.

Le maïs

En 2005, le maïs transgénique représentait 24 % des surfaces en plantes transgéniques, 14 % des surfaces en maïs dans le monde, 40 % des surfaces en maïs aux États-Unis (d'après site USDA). Il apporte la résistance à la pyrale (58 % des surfaces en maïs transgénique), la résistance aux herbicides (22 %) ou les deux (20 %), soit 78 % des surfaces en maïs transgénique avec la résistance aux insectes. Par rapport au soja transgénique, le moindre développement du maïs transgénique résistant aux insectes ou résistant aux herbicides est dû au fait qu'il présente sans doute moins d'avantages pour l'agriculteur (voir chap. 3). En particulier, pour le maïs résistant aux insectes, compte tenu du coût de la semence et du niveau moyen des attaques des insectes, le bilan économique n'est pas toujours positif. Alors qu'il faut toujours désherber le soja, il n'est pas toujours nécessaire de traiter le maïs contre la pyrale, et son désherbage est assez facilement résolu par les désherbants conventionnels et jusqu'ici peu coûteux.

Le cotonnier

En 2005, le cotonnier transgénique représentait 11 % des surfaces en plantes transgéniques, 30 % des surfaces en cotonnier dans le monde, 75 % des surfaces en cotonnier aux États-Unis et déjà plus de 66 % en Chine. Son développement important aux États-Unis est dû au fait qu'il répond à la fois principalement aux problèmes de lutte contre les insectes et aussi aux problèmes de désherbage. Les variétés transgéniques de cotonnier apportent en effet soit la résistance aux insectes (50 % des surfaces en cotonnier transgénique), soit la résistance à l'herbicide (16,7 %), soit les deux (33,3 %), ce qui conduit à 83,3 % des surfaces en cotonnier transgénique avec la résistance aux insectes.

Le colza de printemps ou canola

En 2005, le canola transgénique représentait 5,1 % des surfaces en plantes transgéniques, 19 % des surfaces totales en canola dans le monde, 55 % aux États-Unis et 77 % au Canada. La totalité des surfaces en canola transgénique est cultivée avec des variétés résistantes aux herbicides.

Parmi ces quatre espèces, trois (soja, maïs, cotonnier) sont les principales cultures des États-Unis. Le développement des plantes transgéniques chez ces espèces aux États-Unis est dû au rôle moteur des entreprises américaines de biotechnologies et aux avantages qu'elles apportent à l'agriculteur.

Même si leur contribution en pourcentage des surfaces est faible, à côté des 4 grandes espèces, il faut aussi mentionner la courge, la papaye, la pomme de terre, le maïs doux, et l'œillet. En Chine, le début du développement du riz transgénique résistant aux insectes est à souligner. Les surfaces pourraient s'accroître rapidement.

Répartition par caractère

Pour les plantes de grande culture (soja, maïs, cotonnier et canola) seulement deux caractères transgéniques ont été développés à grande échelle : la résistance aux herbicides et la résistance aux insectes. La répartition en 2005 est donnée figure 1.5. Pour une grande part en 2005, les plantes transgéniques étaient résistantes aux herbicides (63,9 millions ha soit 71 % des surfaces cultivées en plantes transgéniques), aux insectes (16,2 millions ha soit 18 %) ou les deux (9,9 millions ha soit 11 %). Soit au total 82 % des surfaces en plantes transgéniques avec la résistance aux herbicides et 29 % avec la résistance aux insectes. Ces caractères ne sont évidemment pas associés au hasard des espèces : les combinaisons espèce + caractère transgénique les plus fréquentes sont : le soja résistant aux herbicides (60 % des surfaces cultivées en plantes transgéniques, 100 % des surfaces en soja transgénique), le maïs résistant aux insectes (18,5 % des surfaces totales en plantes transgéniques, 78 % des surfaces en maïs transgénique), le cotonnier résistant aux insectes (9,2 % des surfaces totales en plantes transgéniques, 83,3 % des surfaces en cotonnier transgénique), et le canola résistant aux herbicides (5,3 % des surfaces totales en plantes transgéniques, 100 % des surfaces en canola transgénique) (tabl. 1.1).

Pourquoi cette répartition ? Les transgènes retenus l'ont évidemment été en fonction de perspectives de gain économique pour les entreprises, mais aussi parce qu'ils

Tableau 1.1. Répartition des surfaces en plantes transgéniques dans le monde en 2004 (en millions ha) selon les espèces et les catégories de plantes transgéniques (James, 2004).

	Soja	Maïs	Cotonnier	Canola
Résistance aux herbicides (RH)	54,4	4,3	1,5	4,6
Résistance aux insectes (RI)	0	11,2	4,5	0
RH + RI	0	3,8	3,0	0
Total	54,4	21,2	9,8	4,6

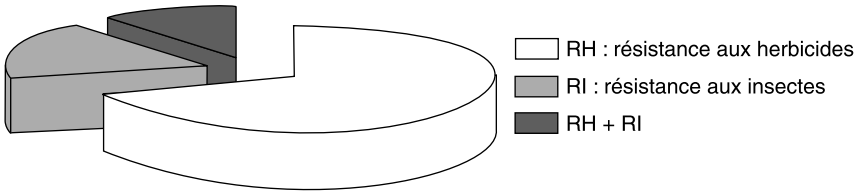


Figure 1.5. Répartition en 2005 des plantes transgéniques dans le monde par transgène (James, 2005).

correspondent à des caractères assez simples sur lesquels la transgénèse avait porté dès le début à titre expérimental et qu'à l'époque on ne disposait que de peu de gènes à transférer. La résistance aux herbicides a aussi été une conséquence de son utilisation comme marqueur de sélection des plantes transformées (voir chap. 3). « L'affectation » d'un transgène « résistance aux insectes » ou « résistance aux herbicides » à une espèce résulte bien sûr de l'importance de la lutte contre les mauvaises herbes ou contre les insectes selon les espèces : il y a plus de problèmes de désherbage avec le soja qu'avec le maïs, et plus de problèmes de lutte contre les insectes avec le cotonnier ou le maïs qu'avec le soja. L'absence de développement à grande échelle d'autres types de plantes transgéniques, malgré un grand nombre d'essais réalisés aux États-Unis (tabl. 1.2), peut être le résultat de différents facteurs :

– une stratégie de développement des entreprises productrices de plantes transgéniques,

– une difficulté plus grande avec des transgènes modifiant plus les caractères physiologiques de la plante : difficultés par exemple d'améliorer la tolérance à la sécheresse, la résistance au froid, ou la qualité sans effets associés négatifs sur d'autres caractères importants… (voir chap. 3),

– l'influence des réactions anti-OGM qui en bloquant le développement des plantes transgéniques, ont empêché tout autre développement. En particulier, en Europe, il est clair que le blocage des plantes transgéniques a donné un coup d'arrêt au développement en cours des plantes transgéniques de 2^{e} génération qui aurait apporté des caractères nouveaux (par exemple : melon de conservation plus facile, légumes de qualités nutritionnelles particulières comme nous le verrons au chap. 4).

En 2004, 140 événements de transformation (insertion d'un transgène dans le génome d'une espèce en un site donné) étaient homologués dans au moins un pays, mais peu d'entre eux sont utilisés à grande échelle (agbios, GM Database, 2004). Ainsi 50 % de ces événements correspondaient aux quatre espèces pour lesquelles les variétés transgéniques sont largement commercialisées, alors que moins de 10 événements sont vraiment utilisés. Les autres 50 % sont relatifs à des espèces où les variétés transgéniques sont peu développées, en développement ou en attente de développement éventuel : œillets pour la tenue des fleurs en vase ou leur couleur, chicorée pour la résistance aux herbicides ou la stérilité mâle, lentille pour la résistance aux herbicides, melon à maturité retardée, pomme de terre pour la résistance au doryphore ou la résistance au virus, riz pour la résistance aux herbicides, pastèque pour la résistance au virus, tournesol pour la résistance à l'herbicide, tomate pour la maturation retardée, blé pour la résistance aux herbicides.

Tableau 1.2. Répartition des essais de plantes transgéniques au champ aux États-Unis de 1987 à 2003 (Aphis, 2003) d'après Bonny, 2005.

Classe	Nombre d'espèces	Espèces*	Essais/espèces
Plus de 500 essais	5	maïs	4 309
		pomme de terre	726
		soja	710
		cotonnier	638
		tomate	529
De 100 à 305 essais	8	blé	304
		tabac	217
		luzerne	201
		colza	194
		riz	165
		betterave	152
		agrostis stolonifère	151
		melon	115
De 29 à 99 essais	11	laitue	76
		peuplier	70
		canne à sucre	43
		courge	40
		fraise	40
		orge	40
		vigne	34
		pommier	34
		tournesol	32
		pois	30
		pâturin des prés	29

* Seulement pour les espèces totalisant plus de 28 essais, sur un total de 9 377 essais.

Répartition par obtenteur

Six entreprises sont présentes sur le marché actuel des plantes transgéniques : Monsanto, Bayer CropScience, Dupont, Syngenta, BASF et Dow, avec une large domination de l'américain Monsanto dont les variétés transgéniques représentaient en surface 87 % des cultures transgéniques mondiales en 2004, soit 90 % du soja transgénique, 96 % du maïs transgénique, 63 % du cotonnier transgénique et 59 % du canola (Monsanto, 2004a et b). Les variétés transgéniques sont donc essentiellement une « affaire » de Monsanto. Cela traduit une très grande concentration du pouvoir sur le vivant et les ressources alimentaires. Cette concentration n'est certes pas une spécificité du secteur des semences et des biotechnologies, mais elle est sans doute accentuée par le développement les semences transgéniques.

Monsanto était au départ une entreprise de chimie et de biotechnologies qui a investi dans les semences pour valoriser les biotechnologies (rachat des entreprises de sélection végétale : Cargill, Dekalb, PBI, Hybritech) puis dans la pharmacie

(Pharmacia, Upjohn). Aujourd'hui, la branche agriculture-biotechnologies a été séparée de celle de la pharmacie. L'entreprise américaine d'agro-chimie Dupont s'est aussi séparée de sa branche pharmacie et, en 1999, a racheté Pioneer, le premier semencier mondial. L'entreprise internationale Syngenta est issue en 2000 de la fusion des branches « agriculture » de Astra-Zeneca et de Novartis elle-même issue en 1996 de la fusion de CIBA-Geigy, Northrupking et Sandoz, des noms d'entreprises bien connues de la pharmacie. La naissance de Syngenta consacrait ainsi la séparation des branches agriculture et pharmacie de Astra-Zeneca et de Novartis. L'entreprise européenne Bayer CropScience, branche de Bayer, est un exemple de fusion en cascade pour résister à la compétition internationale. Elle résulte en effet de la fusion en 2002 de Bayer Crop Protection et de Aventis CropScience résultant de la fusion en 2000 de Rhône-Poulenc Agro et d'Agrevo, ce dernier ayant racheté en 1996 Plant Genetic Systems (PGS), entreprise de biotechnologies. Le groupe Bayer est maintenant le seul grand groupe à être encore présent à la fois dans le secteur « semences-phytosanitaires » (Bayer CropScience) et celui de la pharmacie (Bayer Healthcare).

Ainsi, les quatre grandes entreprises présentes dans le domaine des semences transgéniques sont issues ou liées aux secteurs de la chimie ou du phytosanitaire et ont tenté des associations avec la pharmacie. Cependant, aujourd'hui, dans presque tous les cas, il y a eu séparation des branches pharmacie et « agro » (phytosanitaire + biotechnologies + semences) (Lemarié, 2003). L'association avec la pharmacie était sans doute motivée au départ par l'espoir de valoriser les biotechnologies végétales en faisant produire aux plantes des substances chimiques et pharmaceutiques. La séparation s'explique par le manque de rentabilité à court terme des plantes transgéniques, la difficulté d'amortir les investissements faits et le besoin de rester compétitif dans la pharmacie. L'association biotechnologies-semences correspond à une valorisation directe des investissements en biotechnologies. En effet, pour une entreprise de biotechnologies, il est difficile de tirer des bénéfices par la vente des licences sur leurs brevets (Kalaitzandonakes et Bjornson, 1997). L'association biotechnologies-semences-agrochimie correspond au souci des entreprises d'être présentes sur deux marchés de la protection des plantes, opposés l'un à l'autre : le marché des produits phytosanitaires et le marché des semences transgéniques résistantes aux insectes, aux herbicides, voire aux maladies. Ainsi, aujourd'hui, les trois premiers semenciers au monde sont aussi parmi les six principaux producteurs de pesticides ou d'autres produits agrochimiques alors que ce n'était pas le cas il y a dix ans (tabl. 1.3). Dans la logique de cette association biotechnologie-semences-agrochimie, Bayer CropScience, première entreprise mondiale dans le domaine des produits phytosanitaires, a aussi fait le choix d'investir de plus en plus dans le domaine des semences. Cette évolution des entreprises pèse donc dans l'orientation des travaux sur les plantes transgéniques.

⏩ Les plantes transgéniques autorisées en France

En Europe, pour être commercialisées, les plantes transgéniques doivent être développées avec des événements de transformation autorisés, c'est-à-dire avec des combinaisons autorisées transgène-lieu d'intégration dans le génome. De plus, pour

Tableau 1.3. Chiffres d'affaires (CA) des principales entreprises dans le domaine des produits phytosanitaires et des semences (Philips McDougall, 2002).

Société	Total	Phyto	Semences
Syngenta	6 323 (1)	5 385 (2)	938 (3)
Bayer CropScience	6 278 (2)	6 087 (1)	191
Monsanto	5 073 (3)	3 366 (3)	1 707 (2)
Dupont/Pioneer	3 820 (4)	1 916 (6)	1 920 (1)
BASF	3 105 (5)	3 105 (4)	0
Dow	2 842 (6)	2 627 (5)	215
MAI	784 (7)	784	0
Limagrain	764 (8)	0	764 (4)

CA en millions de dollars US, classement entre parenthèses.

Encadré 1.1. Plantes transgéniques autorisées par le ministère de l'Agriculture, après consultation du ministère de l'Environnement sur la base d'avis établis par la CGB

• *Pour toute utilisation (importation, culture et transformation industrielle) :*

– le tabac « ITB-1000-0X » de la société Seita tolérant à un herbicide, la commercialisation de ce tabac n'a pas été développée ;

– le maïs *Bt*176 de la société Novartis tolérant à la pyrale et à un herbicide ; la commercialisation des semences de variétés obtenues à partir de ce maïs a été autorisée pour 9 variétés (tabl. 1.4) ;

– le maïs Mon810 de la société Monsanto tolérant à la pyrale (la commercialisation des semences de 6 variétés obtenues à partir de ce maïs est autorisée, voir tabl. 1.4) ;

– le maïs T25 de la société AgrEvo tolérant à un herbicide : aucune variété issue n'est inscrite au catalogue.

• *Pour l'importation en vue de leur transformation industrielle (mais pas pour la culture) :*

– le soja Roundup Ready de la société Monsanto, tolérant à un herbicide ;

– le maïs Mon863 de la société Monsanto, tolérant à la pyrale ;

– le maïs *Bt*11 de la société Novartis, tolérant à la pyrale et à un herbicide.

• *Pour la culture et la commercialisation des semences :*

– deux variétés hybrides de chicorée de la société Bejo-Zaden, obtenues à partir de lignées mâles stériles et tolérantes à un herbicide (pour la transformation industrielle uniquement).

• *Pour la production et la commercialisation de fleurs coupées :*

– une variété d'œillets de la société Florigène à coloration modifiée ou présentant une tenue en vase prolongée.

Concernant les colzas génétiquement modifiés, la mise sur le marché des semences provenant des lignées MS1 RF1 ainsi que des grains issus de la lignée Topas 19/2 est suspendue depuis novembre 1998 dans le cadre du moratoire sur le colza.

les espèces de grande culture et les espèces potagères, la commercialisation de toute variété transgénique est subordonnée à l'inscription à un catalogue officiel d'un pays de la communauté (ce qui permet son passage au catalogue communautaire) ; pour cela, la variété transgénique doit aussi satisfaire aux règlements en vigueur pour les variétés non transgéniques (voir chap. 6).

La réglementation européenne distingue les autorisations de mise sur le marché des plantes transgéniques à différents niveaux : importation, culture et transformation industrielle. Les autorisations actuellement accordées en France par le ministère de l'Agriculture, après consultation du ministère de l'Environnement sur la base d'avis établis par la Commission de génie biomoléculaire (CGB) (voir chap. 6), sont présentées dans l'encadré 1.1.

Au catalogue officiel français des variétés, étaient inscrites depuis 1998, 15 variétés de maïs transgénique, formes modifiées pour la résistance à la pyrale de variétés déjà inscrites. En fin 2004, 7 d'entre elles ont été retirées à la demande de l'obtenteur (tabl. 1.4).

En septembre 2004, 9 nouvelles variétés de maïs transgéniques ont été inscrites en Espagne, 17 variétés de maïs transgéniques sont donc maintenant inscrites au catalogue européen et elles peuvent être commercialisées en France. En effet, l'inscription au catalogue européen est automatique dès que la variété a été inscrite, dans le respect des règles, à un catalogue d'un pays de la communauté. Sur ces 17 variétés, celles issues du catalogue français, inscrites en 1998, sont complètement dépassées en valeur agronomique. En revanche, celles issues du catalogue espagnol sont d'un bon niveau agronomique, mais ne sont pratiquement cultivables qu'en Espagne, compte tenu de leur tardiveté.

Tableau 1.4. Variétés de maïs transgéniques inscrites au catalogue officiel français des variétés (* variétés retirées fin 2004 par les obtenteurs).

Variété transgénique	Variété d'origine	Événement	Obtenteur	Année
Benji*	Dahir	*Bt*176	Syngenta	1998
Bolsa	Marista	Mon810	Pioneer	1998
César Cb*	César	*Bt*176	Syngenta	1998
DK 513	DK 512	Mon810	Dekalb	1998
Elgina	Cécilia	Mon810	Pioneer	1998
Furio Cb	Furio	*Bt*176	Syngenta	1998
Garonna*	Bahia	*Bt*176	Syngenta	1998
Lévina	Randa	Mon810	Pioneer	1998
Navarès*	Antarès	*Bt*176	Syngenta	1998
Novélis	Nobilis	Mon810	Pau Semences	1998
Occitan Cb	Occitan	*Bt*176	Syngenta	1998
Odyssée*	Darine	*Bt*176	Syngenta	1998
Olimpica	Natalia	Mon810	Pioneer	1998
Pactol Cb*	Pactol	*Bt*176	Syngenta	1998
Seven*	Eden	*Bt*176	Syngenta	1998

⏩ Les produits issus d'OGM déjà dans notre alimentation

Produits issus de la transformation industrielle des plantes transgéniques

Dans le cadre de la Directive européenne 2001/18/CEE (voir chapitre 6), on trouve dans le commerce des produits alimentaires dérivant des plantes transgéniques autorisées (maïs, colza, soja) et pour lesquels l'étiquetage est maintenant obligatoire (encadré 1.2).

Pour la filière de l'alimentation animale, des sojas, des maïs et des colza transgéniques sont autorisés : les tourteaux de soja importés sont largement utilisés dans l'élevage bovin et porcin.

Produits issus d'animaux ayant consommé des plantes transgéniques : la viande, les œufs et le lait

Soixante pour cent du soja mondial est transgénique. Parmi les milliers de tonnes de soja importées par la France (4,5 millions de tonnes) du Brésil (75 %) et des États-Unis (25 %) pour l'alimentation animale nécessairement une grande partie comporte du soja transgénique (estimée à environ 65 %, Agreste Primeur, 2003). Le lait et la viande de bovins ainsi que les œufs peuvent provenir d'animaux ayant consommé du soja transgénique. Cependant, il est vrai qu'il n'y a aucune différence entre ces produits issus de la transformation biologique de produits de végétaux transgéniques et ceux issus de la transformation biologique de végétaux non transgéniques. Prenant ces éléments en considération, la loi sur l'étiquetage ne considère d'ailleurs pas ces produits comme fabriqués à partir d'OGM.

Produits faisant appel à des enzymes issues de micro-organismes génétiquement modifiés

De nombreux produits de notre alimentation sont issus des biotechnologies c'est-à-dire de la transformation d'une production végétale ou animale par des micro-organismes (levures ou bactéries) : le vin, la bière, le cidre, le pain, le fromage, les yaourts, etc. Cependant, aucun micro-organisme génétiquement modifié n'est autorisé à la commercialisation pour être utilisé en tant que tel dans l'alimentation humaine. En France, les levures modifiées ne sont pas elles-mêmes autorisées en boulangerie, en œnologie, en brasserie. Mais, en Grande-Bretagne, une levure transformée peut être utilisée en panification : le législateur a considéré qu'avec la cuisson du pain les consommateurs n'ingèrent pas de levures vivantes ce qui ne présente pas de risque.

En revanche, des enzymes issues de levures génétiquement modifiées sont utilisées. L'industrie agro-alimentaire utilise ainsi des préparations enzymatiques obtenues à partir de levures génétiquement modifiées. Leur intérêt est de permettre une réduction des coûts (moins d'eau et d'énergie), une meilleure standardisation des

Encadré 1.2. Produits issus de la transformation industrielle des plantes transgéniques dont la commercialisation est autorisée

• *Les ingrédients dérivés du soja Roundup® Ready* :

– sous la forme d'aliments : huile de soja, tonyu, tofu, crèmes desserts à base de soja, sauce de soja ;

– sous la forme d'ingrédients : farines de soja dans le pain, le pain de mie, les pâtisseries, protéines de soja dans les plats cuisinés, la charcuterie, les préparations pour nourrissons ;

– sous la forme d'additifs : lécithine (E 322), huile de soja oxydée (E 479b).

• *Les ingrédients dérivés des maïs avec les événements Bt176, Bt11, T25, Mon810 et Mon809* :

– sous la forme d'aliments : farine et semoule de maïs, huile de maïs, chips de maïs salées, pétales de maïs pour petit déjeuner ;

– sous la forme d'ingrédients : farine de maïs dans le pain, les céréales pour petit-déjeuner, les biscuits apéritifs, flocons de maïs dans les barres de céréales, semoule de maïs dans les biscuits apéritifs, la chapelure, la bière, les céréales pour petit déjeuner, amidon de maïs et liants amylacés (fécule) dans les plats cuisinés, les sauces, la charcuterie, les crèmes desserts, les préparations pour desserts déshydratées, les potages, les petits pots pour bébés, les pâtisseries, les dérivés de l'amidon de maïs (sirop de glucose, dextrose, maltodextrines…) dans les sauces, les biscottes, les barres céréales, les bières, les potages, les biscuits apéritifs, les préparations de fruits sur sucre incorporés dans les yaourts et divers desserts, les glaces ;

– sous la forme d'additifs : amidon oxydé (E 1404), phosphates d'amidon (E 1410, E 1412 à E 1414), amidons acetylés (E 1420, E 1422), amidons hydroxypropylés (E 1440, E 1442), succinate d'amidon (E 1450), amidon oxydé acétylé (E 1451), caramels (E 150a à E 150d), sorbitol (E 420), mannitol (E 421), isomalt (E 953), maltitol (E 965), lactitol (E 966), xylitol (E 967), glucono-lactone (E 575), erythorbates (E 315 et E 316) ;

– sous la forme de supports d'arômes : amidons, maltodextrines, beta cyclodextrine.

• *Les huiles obtenues à partir des graines de colzas* des lignées Topas 19/2, GT73, Liberator L62, Falcon GS 40/90, MS1, RF1 et leurs hybrides, MS1, RF2 et leurs hybrides, MS8, RF3 et leurs hybrides.

• *Les huiles obtenues à partir des graines de cotonniers* des lignées 531 et 1445.

Source : ministère de l'Agriculture français (2005).

préparations enzymatiques et une plus grande sécurité sanitaire. Ainsi la chymosine A, une enzyme de la présure utilisée pour la coagulation du lait est maintenant produite en partie par des micro-organismes génétiquement modifiés : une bactérie (*Escherichia coli*) aux États-Unis, un champignon en Europe et aux États-Unis et une levure en Europe. Dans ce dernier cas, le gène codant pour la chymosine, d'origine bovine, a été introduit dans une levure (*Kluyveromyces lactis*) qui se développe sur le petit lait. Ces micro-organismes génétiquement modifiés permettent de s'affranchir de la présure traditionnellement extraite de la caillette de veau ; ils présentent ainsi un intérêt pour la production de fromages kasher (pour laquelle il est interdit d'utiliser de la présure extraite de caillettes de veau) et suppriment le risque de transmission du prion (agent de la maladie de la vache folle). La levure

modifiée (*Kluyveromyces lactis)* est autorisée depuis 1998 pour la production de fromage, sauf pour le fromage « Bio » et les fromages d'AOC (Gaillardin, 2002, et com. pers.). Cette autorisation tient compte du fait que les techniques de purification de l'enzyme sont très poussées et qu'en conséquence l'on ne peut pas retrouver de levures et d'ADN des levures génétiquement modifiées dans les fromages.

Pour utiliser ces préparations, une autorisation avec une évaluation préalable est nécessaire. Une liste des préparations autorisées fait l'objet d'un arrêté : on y trouve des amylases pour la préparation de bière et d'alcool, la panification, la fabrication de sirops de maltose, une aspartyl protéase pour la fabrication de fromages, une hémicellulase, une xylanase et une lipase pour la panification, une endoxylanase pour la biscuiterie et la biscotterie (tabl. 1.5). Ces enzymes font l'objet de contrôle pour s'assurer de l'absence de l'agent producteur et de son ADN.

Tableau 1.5. Les micro-organismes génétiquement modifiés produisant des enzymes autorisées dans l'alimentation humaine.

Les micro-organismes génétiquement modifiés autorisés	Domaine d'utilisation
Bacillus licheniformis, produisant l'α-amylase, obtenu par recombinaison homologue ou par transfert d'un gène de *Bacillus stearothermophilus*	Produits d'hydrolyse de l'amidon, bière, alcool, liquéfaction des grains crus en brasserie, dégradation de l'amidon dans le jus de canne en sucrerie
Bacillus subtilis, modifié par transfert du gène de *Bacillus stearothermophilus* codant pour l'α-amylase	Exo-α-amylase maltogène servant à la panification et à la production de sirop de maltose
Bacillus subtilis, modifié par transfert du gène de *Bacillus brevis* codant pour l'α-acétolactate-décarboxylase	Bière, alcool
Aspergillus oryzae modifié par transfert du gène de *Rhizomucor meihi* codant pour une aspartyl protéase	Fabrication de fromages ne bénéficiant pas d'une appellation d'origine
Bacillus licheniformis modifié par transfert du gène de *Bacillus deramificans* codant pour la pullulanase	Sirop de glucose
Escherichia coli avec un gène de prochymosine A de veau	Fabrication de fromages ne bénéficiant pas d'une appellation d'origine
Aspergillus niger var *awamori* avec un gène de prochymosine B de veau	Fabrication de fromages ne bénéficiant pas d'une appellation d'origine
Aspergillus oryzae modifié par transfert du gène de *Thermomyces lanuginosus* codant pour une xylanase	Panification
Aspergillus oryzae modifié par transfert du gène de *Thermomyces lanuginosus* codant pour une lipase	Panification

Liste à jour, en 2001, intégrant l'arrêté du J.O. du 22/8/99.

En développement, à titre expérimental, et éventuellement dans l'attente d'autorisations aux États-Unis (Heslot, 2000), on peut signaler :
– *des levures de boulangerie.* Le pouvoir fermentaire de la pâte et la flaveur du pain dépendent d'activités d'enzymes pour lesquelles on a pu obtenir des souches de levure qui en ont une sécrétion accrue. Par cette voie, la qualité du pain pourrait être améliorée.
– *des levures de bière*, on veut des souches à fermentation rapide entraînant une teneur basse en diacétyle (qui en cas d'excès, peut donner à la bière une saveur désagréable de beurre rance). Le procédé d'élimination est coûteux. Un gène issu d'une bactérie du genre *Enterobacter,* introduit dans la levure de bière*,* permettrait d'obtenir des bières avec très peu de diacétyle.
– *des levures œnologiques*. Des travaux ont déjà permis de mettre au point des levures génétiquement modifiées qui pourraient apporter des progrès en œnologie, par exemple :
• des levures floculantes pour la fabrication du champagne,
• des levures pour l'amélioration de la qualité aromatique des vins,
• des levures pour la correction de l'acidité des moûts.

Les médicaments issus de micro-organismes génétiquement modifiés

Les premiers travaux sur la transgénèse ont porté sur les micro-organismes, la bactérie *Escherichia coli* en 1973 (Cohen *et al.*, 1973). Très rapidement des souches génétiquement modifiées ont été cultivées en fermenteurs dans des installations confinées pour produire des vitamines, des vaccins ou des protéines à usage médical. Dès 1977, la somatostatine (hormone dont le rôle est d'inhiber la sécrétion digestive) était produite par la bactérie *Escherichia coli*. Depuis, de nombreux médicaments sont produits à partir d'organismes génétiquement modifiés. Nous n'en citons ici que quelques exemples :
– *l'insuline humaine*, indispensable pour les diabétiques, est produite depuis 1982 par des bactéries transgéniques ; elles ont permis de remplacer son extraction à partir du pancréas de porc. Ce fut la première application commerciale du génie génétique. Cette insuline est exactement identique à celle de l'homme, alors que celle de porc était légèrement différente et moins pure. Elle est aujourd'hui utilisée par des millions de diabétiques dans le monde ;
– *l'hormone de croissance*, utilisée pour traiter certaines formes de nanisme, est maintenant produite par des bactéries transgéniques. Elle a longtemps été extraite des hypophyses de cadavres humains avec des risques de contamination par des prions responsables de la maladie de Creutzfeld-Jacob. Produite à partir de bactéries transgéniques, ce risque de contamination est nul.
– *l'EPO (érythropoïétine),* qui stimule la fabrication des globules rouges, est produite à partir de cellules animales (d'ovaires de hamster) qui ont reçu le gène humain de l'EPO. Dans ce cas là, pratiquement aucune autre source de production était possible.
– *le vaccin de l'hépatite B* est produit par une levure (*Saccharomyces cerevisiae*) (depuis 1981) ou par des cellules de hamster qui contiennent le gène codant pour une protéine du virus responsable de cette maladie.

– on peut aussi citer dans cette rubrique le cas de deux virus génétiquement modifiés et utilisés directement en vaccination, l'un contre la rage chez l'homme (due à un rhabdovirus transmis lors de morsures) et l'autre contre la maladie d'Aujesky chez le porc (maladie due à une infection par le virus de l'herpès se caractérisant par une atteinte de l'encéphale et des méninges).

La liste est nécessairement appelée à s'allonger. L'Allemagne fait déjà beaucoup appel au génie génétique pour la production de médicaments. Toutefois sur 32 substances autorisées en 1997, 6 seulement étaient fabriquées en faisant appel au génie génétique (Stiegler *et al.*, 1997). Dans le monde, en 1996, 253 nouveaux médicaments issus d'OGM faisaient l'objet d'essais cliniques. Avec le séquençage du génome humain et l'identification de nouveaux gènes, il faut s'attendre à beaucoup d'autres médicaments obtenus par cette voie. Dans l'avenir, les micro-organismes génétiquement modifiés pourraient être aussi utilisés directement pour produire un médicament par exemple au niveau du tractus digestif : ils seraient ingérés vivants au travers de préparations alimentaires. Ainsi, *Lactococcus lactis* a été expérimenté pour la production d'interleukine 10 dans le tractus digestif afin de traiter une inflammation digestive (Steidler *et al.*, 2000).

⏩ Conclusion

Les cultures de plantes génétiquement modifiées continuent à se développer dans le monde. Plus de 50 % de la population du monde consomme déjà des produits de plantes transgéniques. Ces cultures sont pratiquement bloquées en Europe. Malgré cela, les organismes génétiquement modifiés sont bien présents dans notre vie quotidienne tant sous forme d'aliments que de médicaments. Des enzymes issues de micro-organismes génétiquement modifiés sont utilisées pour la préparation ou la transformation de certains produits alimentaires depuis plusieurs dizaines d'années. Des micro-organismes (bactéries, levures) ou des cellules animales sont désormais couramment utilisés pour la production de substances pharmaceutiques. Enfin de plus en plus d'animaux d'élevage consomment, soit directement sous forme de fourrages ou de grains, soit indirectement sous forme de produits dérivés, des plantes génétiquement modifiées. Nous consommons donc de plus en plus de produits issus de la transformation de plantes transgéniques.

Nous montrerons ensuite que la transgénèse est un outil puissant permettant au créateur de variétés d'apporter de nouveaux caractères aux plantes et d'aller plus vite qu'avec les méthodes traditionnelles. Nous examinerons alors les bénéfices espérés et les risques éventuels associés au développement des variétés transgéniques. Tout d'abord, nous rappelons dans le chapitre qui suit comment le sélectionneur crée une variété et comment les outils à sa disposition ont évolué au cours du temps, depuis la simple sélection massale jusqu'à la transgénèse.

Chapitre 2

L'amélioration des plantes est du génie génétique

L'amélioration des plantes peut être définie comme la modification de certaines caractéristiques des plantes pour qu'elles répondent de mieux en mieux aux besoins de l'homme. Elle a commencé avec la domestication, de façon inconsciente, et s'est poursuivie essentiellement à partir de la fin du XIX^{e} siècle par l'amélioration des plantes dirigée, intégrant de plus en plus dans ses méthodes et ses outils les progrès dans les connaissances. Aujourd'hui, l'amélioration des plantes est devenue la science et l'art de la création de variétés ayant des caractères bien définis.

⏩ De la domestication à l'amélioration actuelle des plantes

Bases génétiques de la domestication

La domestication peut être définie comme l'adaptation inconsciente des plantes par l'homme à ses besoins. Elle a débuté au Néolithique, il y a entre 7 000 et 9 000 ans, lorsque l'homme est passé de l'état nomade, vivant de la cueillette et de la chasse, à l'état sédentaire, vivant d'une certaine agriculture. C'est l'alternance des cycles semis-récolte pendant des milliers de générations qui a retenu les mutations conduisant aux meilleures performances dans des systèmes de culture très variés. Chez les céréales, les mutants entraînant une floraison groupée, sans désarticulation du rachis à maturité, avec des grains nus, et donnant le maximum de graines en une seule récolte, ont été favorisés. Ainsi les études génétiques des différences entre une plante sauvage et une plante cultivée chez les céréales montrent que la domestication a agi sur relativement peu de *gènes à effets forts*. Seulement 5 gènes différencient, du point de vue de la morphologie, l'ancêtre du maïs (la téosinte) et le maïs actuel. La même évolution peut être observée chez d'autres espèces dicotylédones comme le tournesol.

Cependant, n'ont été domestiquées que les espèces présentant des prédispositions à la domestication, par leur utilité ou attrait immédiat, et aussi par l'existence de mutations intéressantes pour l'homme ou favorables au processus de domestication, d'où un nombre assez restreint d'espèces domestiquées. Chez les céréales à fécondation croisée (maïs, mil), ces mutations pour être favorables à la domestication devaient même être situées sur le même chromosome, très proches les unes des autres (Pernès, 1983). Certaines espèces sont devenues au travers de ce processus dépendantes de l'homme. Il en est ainsi des maïs ou des blés actuels qui, abandonnés dans la nature sans intervention de l'homme, sont condamnés à disparaître. À une époque où le généticien biotechnologiste est accusé de fabriquer des plantes contraires à l'ordre naturel des choses, et contribuant à diminuer la diversité des espèces végétales, il est important de souligner que l'écart le plus important à la nature a été fait par cette domestication. Il faut cependant remarquer qu'il y a surtout eu une élimination de caractères défavorables pour la culture et l'utilisation des plantes par l'homme, et une fixation de caractères favorables qui auraient pu être perdus par sélection naturelle.

L'amélioration des plantes en tant qu'activité consciente, dirigée vers un objectif, ne s'est vraiment développée qu'à partir du milieu du XIX^{e} siècle.

L'évolution des populations cultivées

La domestication a entraîné une perte de variabilité par le choix d'un nombre limité d'espèces. Puis, à l'intérieur d'une espèce le nombre de populations cultivées a diminué au cours du temps, conséquence d'abord des échanges de semences qui pouvaient se faire au niveau d'un village (favorisant celles qui donnaient le meilleur résultat) et par le commerce même des semences, apparu très tôt. Ainsi sous Charlemagne (vers l'an 800) on trouve des « capitulaires » recommandant le renouvellement des semences aux agriculteurs et l'achat de semences sur le marché (Boulaine, 1992). Au XIX^{e} siècle, avec les travaux de Louis Lévêque de Vilmorin, est apparue la sélection intra-population et la sélection vraiment consciente, dirigée en vue d'améliorer les performances de la population cultivée. Louis Lévêque de Vilmorin, généticien et sélectionneur, qui est sans doute passé très près de la découverte des lois de l'hérédité, avant Mendel, a été le premier à établir que pour apprécier la valeur d'une plante, il fallait étudier sa descendance, ce qui a été à la base de la sélection généalogique. L'application de ce principe aux populations de plantes qui s'autoféconde nt naturellement (plantes dites autogames, tabl. 2.1) a entraîné immédiatement un rétrécissement de la base génétique des variétés cultivées puisqu'elles sont devenues restreintes à un génotype homozygote appelé lignée pure (voir encadré 2.1). Depuis le début du siècle les variétés de céréales autogames (blé, orge, avoine) sont des lignées pures : ce qui est cultivé aujourd'hui dans le champ de l'agriculteur est l'équivalent d'un seul génotype.

Chez les plantes à fécondation croisée, dites allogames (maïs, betterave, graminées fourragères) il était impossible de développer des lignées pures de bonne valeur compte tenu de la forte perte de vigueur en régime de consanguinité (encadré 2.1). Pour éviter cette dépression, deux voies ont été développées : la voie « hybride » et la voie « variété synthétique ».

Tableau 2.1. La biologie de la reproduction des principales espèces cultivées (autogames/allogames).

Autogames	Allogames
Arbres fruitiers	*Arbres fruitiers*
abricotier	avocatier
citronnier	cerisier (i)
pêcher	palmier-dattier, palmier à huile
Graminées (Céréales)	poirier (i), pommier (i)
avoine	prunier (i)
blé	olivier (c)
riz	vigne (d)
sorgho*	*Crucifères*
Légumineuses à graines	choux (i), moutarde (i), navette (i), radis (i)
arachide	rutabaga
pois d'Angole	*Graminées Céréales*
haricot	maïs (m), seigle (i)
haricot d'Espagne	*Graminées fourragères*
lentille	dactyle (c), fétuque élevée (c),
lupin	fétuque des prés, fléole (c), ray grass (c)
pois	*Légumineuses fourragères*
soja	luzerne (c), trèfle blanc (i), trèfle violet (i)
vesce	*Autres espèces*
vigna	ananas, artichaut, asperge (d)
Légumineuses fourragères	bananier
coronille	betterave (i), carotte
trèfle souterrain	céleri
Solanacées	chanvre
aubergine	chicorée (i), chrysanthème (i)
poivron	citronnelle (m)
tomate	concombre (m)**
Autres espèces	épinard (d)
caféier arabica	fraisier
carthame	houblon (d), manioc
colza*	melon (m)
cotonnier	oignon
laitue	patate douce, poireau
lin	salsifis
	topinambour, tournesol

* tendance autogame, ** tendance allogame, (m) : monoïque, (d) : dioïque, (i) : auto-incompatibilité plus ou moins forte, (c) : compétition pollinique.

Il a fallu attendre les travaux de Shull en 1908 pour voir apparaître le concept de variétés hybrides permettant de réaliser à partir des populations de plantes allogames, ce qui était facile chez les populations de plantes autogames : reproduire par voie sexuée le meilleur génotype en un grand nombre d'exemplaires. L'idée de Shull est que pour reproduire à l'identique un tel individu par la voie sexuée, il suffit de

Encadré 2.1. Effet de la sélection dans les populations autogames

L'autofécondation prolongée conduit à l'homozygotie. Donc, si l'autogamie est stricte une population de plantes autogames, en l'absence de sélection, est composée d'un mélange de génotypes homozygotes. C'était encore le cas des blés, des haricots ou des pois cultivés dans la deuxième moitié du XIX^{e} siècle. Si l'on fait des tests de descendances (introduits par Louis Lévêque de Vilmorin en 1856), ces descendances ne font que reproduire le génotype de la plante-mère : elles permettent d'en évaluer la valeur avec précision. La sélection de la meilleure descendance conduit alors à isoler une famille, une lignée pure, dont tous les individus sont homozygotes et identiques entre eux. Comme il n'y a plus de variation génétique, il n'y aura plus de réponse à la sélection. La seule solution pour générer de la variabilité génétique est alors de croiser entre elles deux lignées pures et de les autoféconder, ce qui donne une génération (F_2) hétérogène génétiquement, recombinant les gènes des deux parents, au niveau de laquelle il est possible de sélectionner. C'est le départ de la sélection généalogique. Cette sélection a alors pour objectif de dériver de cette population le meilleur génotype homozygote. Cela peut se faire par sélection sur la valeur propre au cours des générations d'autofécondation. On peut aussi d'abord dériver toutes les lignées homozygotes sans sélection (par autofécondation ou haplodiploïdisation) puis « extraire » la meilleure lignée.

pouvoir reproduire les gamètes qui lui ont donné naissance. Pour cela il est nécessaire d'avoir des sources de gamètes constantes, ce qui peut être fait par l'obtention de lignées homozygotes, puis croiser entre elles deux lignées pour obtenir un hybride reproductible à grande échelle puisque les parents sont reproductibles. La dépression de consanguinité observée au niveau des lignées disparaît en croisement (encadré 2.2). Il faut alors organiser la sélection pour obtenir le meilleur hybride possible.

Le concept de variétés hybrides est important, il a marqué et marque encore toute l'amélioration des plantes allogames, car il amène des progrès importants à court terme. Le choix de ce type de variétés a pour conséquence que l'agriculteur à intérêt à renouveler ses semences, car s'il s'auto-approvisionne, il perd en partie la vigueur hybride du fait du développement de la consanguinité par la reproduction entre plantes sœurs. De plus, la descendance obtenue est très hétérogène, ce qui peut lui faire perdre sa valeur. On peut dire là aussi que c'est la rançon du progrès génétique, rançon que, dans le cas du maïs, l'agriculteur a accepté de payer à une époque où il avait encore le choix entre des variétés populations et des variétés hybrides, tout simplement parce que c'était dans son intérêt. Le développement des variétés hybrides a aussi clairement entraîné la séparation de deux métiers : celui d'agriculteur utilisateur de semences et celui de sélectionneur et producteur de semences.

Chez les plantes où le contrôle de l'hybridation n'était pas possible à grande échelle, ce sont des variétés populations artificielles ou variétés synthétiques qui ont été développées (très utilisées chez les plantes fourragères allogames). Une variété synthétique est une population artificielle fondée à partir d'un nombre limité de plantes ou familles, sélectionnées sur leur valeur propre ou leur valeur en combinaison hybride. C'est le choix d'un nombre optimum de fondateurs qui permet de faire un compromis entre possibilité de sélection et limite de la consanguinité : pour limiter la consanguinité au niveau de la population il faut un nombre assez élevé de

fondateurs, alors que pour avoir une sélection efficace il en faut un faible nombre. Même s'il reste une variabilité intravariétale, il y a là aussi homogénéisation génétique de ce qui est cultivé dans le champ de l'agriculteur. Cependant, du fait de leur hétérogénéité génétique, les progrès réalisés avec ce type de variétés sont beaucoup plus faibles qu'avec les hybrides.

Encadré 2.2. Vigueur des lignées et des hybrides chez les plantes allogames

Chez les plantes allogames, le développement des lignées conduit à une perte de vigueur importante (dépression de consanguinité, 60 à 70 % chez le maïs) qui exclut l'utilisation de ces lignées comme variétés. Cela est essentiellement dû à l'apparition à l'état homozygote de gènes récessifs défavorables, qui étaient masqués dans les populations (fardeau génétique). En croisant des lignées non apparentées entre elles, pour former un hybride simple, on « masque » ces gènes par leur allèle dominant favorable. On peut donc retrouver les niveaux de vigueur correspondant aux génotypes de la population de départ ou des hybrides de populations, les meilleurs et les moins bons, avec la différence que l'on a une structure homogène reproductible. Il est ainsi possible de sélectionner le meilleur hybride et le reproduire à grande échelle. Un hybride simple doit donc être vu comme un moyen de reproduire à l'identique un génotype hétérozygote lorsque, comme chez le maïs ou le tournesol, la multiplication végétative n'est pas possible : les parents homozygotes peuvent être facilement reproduits identiques à eux-mêmes par autofécondation et leur croisement reproduit l'hybride de façon stable, toujours identique à lui-même.

Quel que soit leur type, les variétés sont donc devenues beaucoup plus homogènes, avec des caractéristiques bien définies. En un siècle, chez le maïs et les céréales, on est passé des variétés populations hétérogènes à des variétés monogénotypiques (lignées pures, hybrides simples). Chez les autres espèces à multiplication sexuée, on observe la même évolution, lignées pures chez les plantes autogames et hybrides chez les plantes allogames, lorsqu'il est possible de contrôler l'hybridation à grande échelle. Ainsi chez la betterave, plante allogame, les variétés populations ont d'abord été remplacées par des hybrides de populations hétérogènes, et aujourd'hui elles évoluent vers des variétés hybrides de lignées pures, analogues aux variétés de maïs. Les hybrides se développent même chez certaines espèces autogames, car l'hybridation est le moyen le plus rapide pour réunir dans un génotype les gènes dominants favorables dispersés dans deux parents. Ainsi chez la tomate, où il existe une bonne dizaine de gènes dominants pour des résistances à diverses maladies, il est plus facile et plus rapide de les réunir dans un même génotype en développant une variété F_1 qu'en développant une variété lignée. Chez les plantes à multiplication végétative (par exemple la pomme de terre), la sélection a très vite conduit à des variétés monoclonales. Il en résulte que depuis la domestication on observe une réduction continue de la diversité dans le champ de l'agriculteur, avec « moins d'espèces, de moins en moins de populations par espèce, et des populations de plus en plus homogènes ».

Cette homogénéisation des variétés est la rançon du progrès. Elle était nécessaire pour la mécanisation de la culture et une certaine standardisation des produits. Une population homogène permet en effet de mieux standardiser les diverses opérations

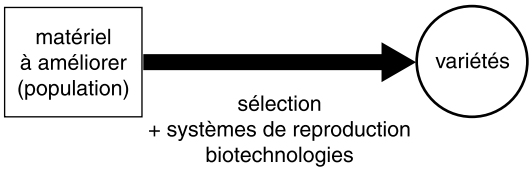


Figure 2.1. Illustration de l'amélioration des plantes « science et art de la création de variétés ».
Le but de l'amélioration des plantes est de créer des variétés qui répondent de mieux en mieux aux besoins de l'homme. Par l'utilisation de la sélection, des systèmes de reproduction (croisement, autofécondation) et des biotechnologies, il s'agit de réunir et fixer dans une même variété le maximum de gènes favorables.

culturales, avec des interventions à un stade précis pour toutes les plantes ; sans une certaine homogénéité, la mécanisation des cultures n'aurait pas été possible ou efficiente. L'homogénéité elle-même peut être un critère de qualité demandée par le consommateur, comme par exemple dans le cas des plantes légumières. Enfin, l'homogénéisation des variétés a surtout permis une amélioration très nette de la production. En effet, du point de vue des performances, un mélange de génotypes (population) a nécessairement une performance inférieure au meilleur de ses constituants ; réciproquement, il est nécessairement meilleur que le plus mauvais des constituants. Donc si l'on recherche les performances maximales, il faut des variétés réduites à un génotype. Cette réduction de la base génétique des variétés est à l'origine des progrès spectaculaires observés (voir ci-dessous). En revanche, si l'on cherche la stabilité de la production dans des conditions variées et variables, alors il vaut mieux avoir un peuplement hétérogène, d'où l'intérêt des associations raisonnées de génotypes de blé, par exemple, pour limiter le développement des maladies.

L'amélioration des plantes est alors devenue la science et l'art de la création de variétés, *une variété étant définie comme une population artificielle, à base génétique étroite, voire réduite à un seul génotype, reproductible et avec des caractéristiques agronomiques bien définies,* apportant un progrès. D'un point de vue génétique, l'amélioration des plantes correspond à l'ensemble des opérations qui permettent de passer d'un groupe d'individus n'ayant pas certaines caractéristiques au niveau recherché à un nouveau groupe, plus reproductible, apportant un progrès (fig. 2.1).

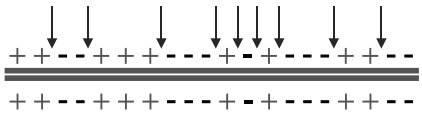


Figure 2.2. L'amélioration des plantes vue comme du « génie génétique ».
Pour réunir dans un même génotype le maximum de gènes favorables (+), il faut pouvoir éliminer les gènes défavorables (–) et les remplacer par des gènes favorables. Compte tenu du grand nombre de gènes en cause et de l'impossibilité actuelle d'utiliser la transgénèse pour cette substitution de gènes, le sélectionneur a recours au croisement et à la sélection. Cela demande l'intervention de nombreuses recombinaisons (crossing-overs) qui devraient être placées comme l'indiquent les flèches. Comme les crossing-overs sont en nombre limité sur un chromosome (1 à 3 en moyenne) et se produisent au hasard, l'association des gènes favorables dans un même génotype ne pourra être que progressive (d'où la continuité du progrès génétique).

Il s'agit de réunir dans un même individu le maximum de gènes favorables. Fondamentalement *l'amélioration des plantes est du génie génétique* (fig. 2.2). En effet, qu'est-ce que le génie génétique, sinon la « ré-association » des informations génétiques qui déterminent les caractères d'une plante ? Nous verrons qu'il y a bien un passage continu entre les techniques utilisées « traditionnellement », ne faisant appel qu'à la reproduction sexuée, et celles dérivées de la biologie moléculaire relevant plus du génie génétique *stricto sensu*. En fait, le progrès des connaissances et l'évolution des outils ont été tels qu'ils permettent d'agir à des niveaux de plus en plus fins, de la population au gène, en passant par l'individu, la cellule, et les génomes nucléaires et cytoplasmiques dans leur ensemble (fig. 2.3) (Gallais, 2000).

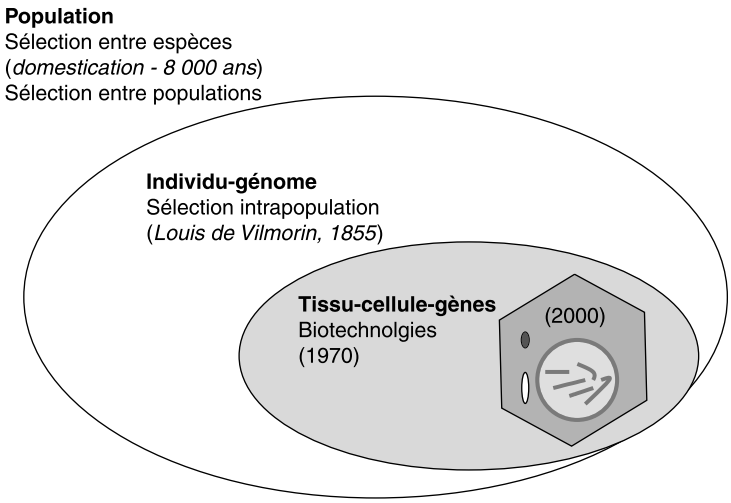


Figure 2.3. Évolution des outils à la disposition du sélectionneur.
Avec la domestication, la première sélection faite par l'homme de façon inconsciente a été une sélection entre espèces. La sélection entre populations à l'intérieur d'une espèce s'est alors développée comme conséquence des échanges de semences jusqu'au milieu du XIX^e^ siècle où, avec l'apparition de l'amélioration des plantes dirigée, est apparue la sélection à l'intérieur des populations. L'utilisation des biotechnologies s'est développée au cours de la seconde moitié du XX^e^ siècle pour arriver vers les années 2000 à la mise en œuvre de la transgénèse.

Les ressources génétiques

Pour créer une bonne variété, il ne suffit pas d'avoir de bons outils, il faut aussi disposer d'une variabilité génétique importante. Les ressources génétiques sont en fait le matériau de base de la création variétale. Avec le développement des variétés monogénotypiques, la variabilité génétique n'étant plus dans le champ de l'agriculteur, les sélectionneurs, dès les premiers balbutiements de l'amélioration des plantes « dirigée », ont été les premiers à prendre conscience de leur importance en les collectant, les caractérisant et les conservant, mettant ainsi très tôt en place, dès le XVIII^e^ siècle, une gestion des ressources génétiques utilisables en sélection. Beaucoup

plus tard, fin du XIX^e^ et début du XX^e^ siècle, face au risque de diminution de la variabilité génétique, des organismes nationaux (USDA aux États-Unis, Institut Vavilov en Russie…) et internationaux (Irri pour le riz aux Philippines, Cimmyt au Mexique pour le blé et le maïs) de gestion des ressources génétiques se sont développés.

Les ressources génétiques à la disposition du sélectionneur sont d'abord les populations des espèces domestiquées, maintenues par l'homme depuis très longtemps, mais aussi les espèces sauvages apparentées. L'apparentement d'espèces peut se mesurer par la facilité avec laquelle elles peuvent échanger naturellement des gènes. Ainsi, Harlan et de Wet (1971) ont proposé de regrouper les espèces en pools géniques selon les possibilités d'échanges de gènes : le pool primaire où les échanges de gènes sont naturellement faciles, le pool secondaire où les échanges sont possibles mais ne se font pas naturellement (les espèces ne partageant pas la même aire de distribution) et le pool tertiaire où il faut l'intervention du génie génétique telle que la fusion de protoplastes ou le doublement du stock chromosomique. De même, Pernès (1984) a introduit le concept de complexe d'espèces pour l'ensemble des espèces qui peuvent échanger des gènes par hybridation naturelle avec une probabilité non nulle, soit directement, soit par le relais de plantes intermédiaires. Ainsi, le blé dur (*Triticum durum*) et *Aegilops speltoides* appartiennent au même complexe d'espèces bien que l'hybride naturel soit peu fréquent, peu fertile ; l'échange de gènes est rare et difficile, mais il est possible. À l'intérieur d'un complexe d'espèces, les échanges de gènes peuvent toutefois être plus ou moins faciles. En regroupant dans un même sous-ensemble, les espèces d'un complexe qui échangent facilement des gènes on structure le complexe d'espèces en compartiments. À cause de barrières reproductives, les échanges entre compartiments sont plus difficiles qu'à l'intérieur d'un compartiment. Ainsi, il y a une continuité entre la facilité des échanges de gènes entre plantes d'une même espèce et l'impossibilité d'échanges entre plantes d'espèces très éloignées. Cela montre la relativité de la notion d'espèces : le systématicien a introduit une discontinuité là où il y a une continuité.

L'évolution des caractères agronomiques

Depuis la fin de la seconde guerre mondiale, l'amélioration de la production agricole a été spectaculaire chez les plantes de grande culture comme les céréales, le maïs, la betterave, le colza, le tournesol. Cela était nécessaire compte tenu de l'état économique de la France à l'époque et de ses potentialités : la France était et est encore le pays le plus agricole de l'Europe. Toute notre économie a bénéficié de cette amélioration de la productivité de notre agriculture. Ainsi les investissements dans la recherche agronomique ont été très efficaces. Les rendements du blé ont été multipliés par 4 environ, et ceux du maïs par plus de 4 (fig. 2.4).

Ces évolutions viennent de l'amélioration des techniques culturales et de l'amélioration génétique des plantes. Bien qu'il soit difficile de séparer ces deux sources de progrès, la contribution de l'amélioration des plantes à l'amélioration des rendements, ce que l'on appelle le progrès génétique, peut être estimée aux environs de 0,35 à 0,45 q/ha/an chez le blé soit environ 30-35 % du progrès agronomique (Trottet, 2002), et de 0,6 à 0,8 q/ha/an chez le maïs soit 60 à 80 % du progrès

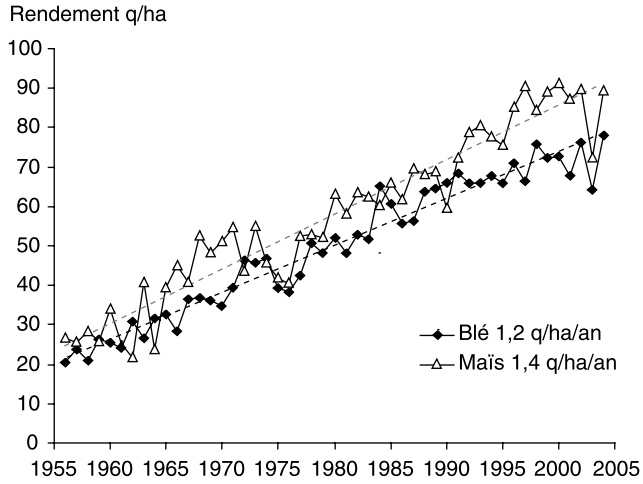


Figure 2.4. Évolution des rendements en blé et en maïs, en France, depuis 1955. L'augmentation des rendements est le résultat de l'amélioration des techniques culturales et de l'amélioration des performances des variétés.

agronomique (Gallais, 2002). Cette amélioration a porté à la fois sur le potentiel de production et sur la sécurité de production. D'ailleurs l'amélioration du potentiel de production peut être considérée comme le résultat de l'accumulation de gènes d'adaptation à différentes conditions. Contrairement à une idée reçue, *les nouvelles variétés sont généralement plus rustiques* que les anciennes, car elles sont plus résistantes aux maladies (des progrès spectaculaires ont été réalisés à ce niveau chez les plantes légumières) et mieux adaptées au milieu physique : plus résistantes au froid, plus résistantes à la sécheresse (Gallais, 2005). Mais ces améliorations n'ont pas été toujours aux dépens de la qualité : les variétés actuelles de blé ont une valeur boulangère supérieure à celle des anciennes variétés (elles ont par contre une teneur en protéines plus faible, car celle-ci n'a pas été vraiment un objectif de sélection) ; de même, les huiles de colza des variétés modernes, sans acide érucique, sont bien meilleures pour notre santé…

La productivité du travail a aussi été améliorée. L'exemple le plus spectaculaire est celui de la betterave où l'introduction d'un gène de monogermie en supprimant l'opération fastidieuse de démariage a permis de réduire d'un facteur 50 la quantité de travail : là où il fallait 100 h de travail en 1960, il ne faut plus que 2 h en 2000, ce qui a amélioré considérablement la qualité de vie de l'agriculteur et a permis le maintien de la culture de la betterave. Sans cette modification de la plante, il est probable que la betterave à sucre aurait disparu de l'Europe et que nous importerions tout notre sucre des pays producteurs de canne à sucre.

Ces progrès sont dus à une véritable dialectique entre l'amélioration des techniques culturales et l'amélioration des plantes : il a fallu en permanence adapter les variétés aux meilleures techniques culturales et réciproquement les techniques culturales aux meilleures variétés. Ces progrès sont tous associés à une réduction de la base génétique des variétés combinée à une intensification des cultures (mécanisation, développement de la fumure azotée). Cependant ils ont été parfois

accompagnés d'effets négatifs sur l'environnement, en particulier par la pollution de nappes phréatiques par les nitrates ou les pesticides. C'est bien l'intensification, recherchée pour des raisons économiques, qui en est responsable et non l'amélioration des plantes. Aujourd'hui, grâce à un meilleur raisonnement de l'utilisation des intrants (en particulier azote et pesticides), les quantités utilisées tendent à diminuer et la pollution (au moins par les nitrates) est maîtrisée.

Pour l'avenir, on compte encore beaucoup sur l'amélioration des plantes : c'est la mise au point de nouveaux types de variétés, demandant moins d'intrants (moins de pesticides, moins d'azote) et adaptés à différents types de stress qui permettra le développement d'une agriculture durable, plus respectueuse de l'environnement, avec une production de qualité. L'amélioration des plantes (la génétique) a été un des principaux moteurs de l'évolution de l'agriculture, elle le restera encore longtemps.

Bases génétiques des progrès réalisés

Dans quelques cas importants les progrès sont dus à l'utilisation de gènes à effets forts qui ont modifié la morphologie des plantes. Ainsi l'utilisation des gènes de nanisme chez les céréales a été à la base des progrès génétiques réalisés dans tous les pays du monde, tant chez le blé, l'orge que le riz ou le sorgho. Ils ont été à la base de la révolution verte qui, si elle a eu des effets négatifs (dus dans certains cas à l'inadaptation des variétés, ou à une mauvaise utilisation des intrants), a eu des effets positifs incontestables (voir l'exemple de l'Inde, Le Buanec, 2002) et se continue encore aujourd'hui. Un autre exemple spectaculaire, mentionné précédemment, est celui de l'introduction du caractère de monogermie chez la betterave. À ces deux exemples importants, on pourrait ajouter l'utilisation des gènes de résistance aux maladies chez pratiquement toutes les espèces cultivées, des gènes de la qualité boulangère chez le blé, de qualité des huiles chez le colza, etc. L'utilisation de quelques gènes à effets forts peut donc changer complètement une culture et son intérêt, tant pour l'agriculteur que pour le consommateur ou l'industriel. Cela ne fait que prolonger l'effet de la domestication qui a surtout agi sur quelques gènes à effets forts.

Cependant, à côté de l'utilisation de ces gènes « majeurs », il y a eu aussi une amélioration quantitative résultant de l'exploitation de la variabilité due à un grand nombre de gènes à effets non identifiés, mais qui, s'ils étaient identifiés, permettraient des progrès plus rapides et mieux ciblés. En effet, du point de vue génétique, les caractères en cause, comme le rendement, la qualité, l'adaptation au milieu, sont sous la dépendance de facteurs génétiques multiples : c'est cette complexité même qui explique la continuité de l'amélioration, car il n'est pas possible de réunir tous les gènes favorables dans une même variété en une seule étape. En fait l'amélioration des plantes est une œuvre de longue haleine, une sorte de construction pierre à pierre, c'est-à-dire gène à gène. C'est donc le renouvellement des variétés qui entraîne le progrès génétique. Le progrès dans les connaissances permet aussi d'utiliser de mieux en mieux la variabilité génétique.

⏩ Les outils de la sélection « phénotypique »

En cinquante ans les techniques d'amélioration des plantes ont beaucoup évolué mais les principes sont restés les mêmes « *réunir dans un même ensemble d'individus, la variété, le maximum de gènes favorables* » ; les outils utilisés sont seulement de plus en plus sophistiqués, de plus en plus puissants et précis. Dans les années 1950, le sélectionneur ne faisait appel qu'aux outils de la sélection « phénotypique » avec croisement, autofécondation, et expérimentation au champ dans un réseau d'évaluation limité, et cela se faisait au niveau de petites entreprises, voire des agriculteurs (ainsi la variété de blé tendre Fidel, a été créée par un agriculteur vers 1980). Aujourd'hui, même sans utilisation des biotechnologies, des moyens importants sont mis en œuvre pour les tests au cours de la sélection avec l'utilisation d'outils de laboratoire (analyse de la qualité, cytologie pour contrôler le nombre chromosomique dans les croisements interspécifiques ou le doublement chromosomique), et pour aller plus vite (désir de l'utilisateur) et mieux dans la création de variétés (mise œuvre de l'haplodiploïdisation, des marqueurs moléculaires). L'amélioration des plantes est devenue une activité industrielle avec une maîtrise de plus en plus grande de l'élaboration du meilleur génotype.

Depuis la découverte des lois de Mendel (1903), l'amélioration des plantes a bénéficié de découvertes en biologie : doublement chromosomique, haplodiploïdisation, mutagénèse, culture *in vitro*, fusion de protoplastes, marquage moléculaire et aujourd'hui transgénèse, qui conduisent à utiliser de mieux en mieux la variabilité génétique. Nous allons montrer, comment au cours du temps, avec l'évolution des connaissances, l'ingénieur en sélection a fait du génie génétique sans toujours le savoir.

La sélection généalogique

L'amélioration des plantes « dirigée », fondée par Louis Lévêque de Vilmorin (Gayon et Zallen, 1998), a commencé par agir au niveau des populations en modifiant la fréquence des génotypes. Le cas extrême est celui des autogames (comme le blé, le haricot, le pois) où la sélection, dès la fin du XIX^{e} siècle, a conduit à extraire les meilleures lignées des populations jusqu'alors commercialisées (voir encadré 2.1). Louis Levêque de Vilmorin et surtout son fils Henry s'étant aperçus qu'il y avait peu de variabilité dans une famille (lignée) extraite d'une population, en étaient arrivés à exploiter la variabilité observée au niveau de l'autofécondation (F_2) du croisement (F_1) de deux lignées ayant des caractères complémentaires. C'est ainsi que la sélection généalogique est née. C'est une méthode de sélection, qui à partir du croisement de deux lignées, permet d'obtenir par sélection au cours des générations d'autofécondation, une nouvelle lignée apportant un progrès par rapport aux parents. Avec la redécouverte des lois de Mendel (de Vries, 1903) elle a trouvé ses bases génétiques et s'est généralisée. Depuis, chez les espèces autogames, pour des caractères quantitatifs comme le rendement en grains, le progrès a été essentiellement réalisé par l'exploitation de la variabilité dans les populations résultant le plus souvent du croisement de deux lignées. Par la sélection au cours des générations d'autofécondation on espère isoler de nouvelles lignées transgressives, c'est-à-dire ayant réuni plus de gènes favorables que le meilleur des deux parents (fig. 2.5). Le grand nombre de gènes favorables à réunir fait que cela ne peut pas se réaliser

en un seul cycle de croisement suivi d'autofécondation et de sélection, mais seulement progressivement, par plusieurs cycles de sélection généalogique, d'où la continuité observée du progrès génétique.

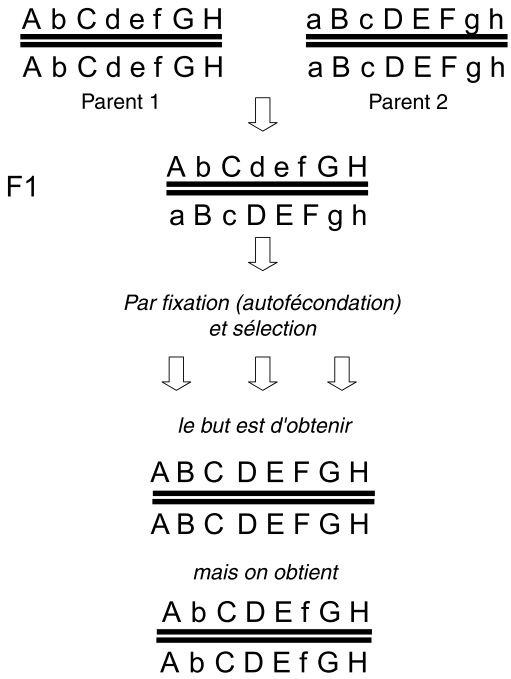


Figure 2.5. Schéma de la sélection généalogique.
Il s'agit de réunir dans un même génotype, à l'état homozygote, le maximum de gènes favorables présents chez les parents. L'hybride entre les deux parents contient bien tous les gènes favorables, mais à l'état hétérozygote aux locus pour lesquels un parent apporte un allèle favorable et l'autre parent un allèle défavorable. Compte tenu du nombre élevé de locus en cause, l'autofécondation combinée à la sélection pour amener les gènes favorables à l'état homozygote ne permet pas d'obtenir cela à tous les locus : on fixe aussi à l'état homozygote des gènes défavorables. Pour un caractère complexe comme le rendement en grain, il faut alors réaliser de nombreux cycles de sélection généalogique, d'où la continuité du progrès génétique.

Chez les plantes à fécondation croisée, la voie hybride, proposée par Shull (1908) a ouvert la porte à l'exploitation maximale de la variabilité génétique par la sélection généalogique, comme chez les plantes autogames. Un hybride simple étant le résultat du croisement de deux lignées, l'amélioration des hybrides passe alors par l'amélioration des parents : il faut améliorer les parents, non seulement pour leur valeur propre, car il y a toujours intérêt à disposer de lignées parentales vigoureuses et performantes, mais surtout pour leur aptitude à la combinaison, toujours en faisant appel aux principes de la sélection généalogique. La valeur en combinaison hybride d'une plante ou d'une lignée est le plus souvent mesurée par la valeur de sa descendance en croisement avec une lignée, appelée testeur.

Que ce soit pour développer des lignées ou des hybrides, la sélection généalogique s'est révélée très efficace comme le montre l'examen du progrès génétique dans le cas

du blé (plante autogame) et du maïs (plante allogame) (fig. 2.4). Cependant, le temps entre le croisement de départ et l'obtention d'une nouvelle lignée est long (souvent de l'ordre de 10 générations, soit dix ans pour une plante annuelle avec une seule génération par an). De plus, la sélection généalogique conduit à une mauvaise utilisation de la variabilité potentielle et à une efficacité limitée des recombinaisons : des gènes favorables sont perdus s'ils sont liés à des gènes défavorables contre-sélectionnés et réciproquement des gènes défavorables sont maintenus s'ils sont liés à des gènes favorables. Une limite est aussi imposée par la variabilité génétique disponible. Nous verrons plus loin que différents outils (haplodiploïdisation, marquage moléculaire…), apparus au fur et à mesure des progrès de nos connaissances, permettent aujourd'hui de mieux utiliser la variabilité, de mieux apprécier la valeur du génotype à travers le phénotype, mais aussi de créer de nouvelles sources de variabilité.

Le rétrocroisement (ou backcross)

À la différence de la sélection généalogique qui s'est développée avant la redécouverte des lois de Mendel, le rétrocroisement n'a pu se développer qu'après cette découverte (Harlan et Pope, 1922). C'est une méthode pourtant plus simple que la sélection généalogique, mais alors qu'il était possible de développer la sélection généalogique en ignorant les lois de Mendel, il était plus difficile de développer sur des bases pragmatiques les principes du rétrocroisement. En effet, le principe du rétro-croisement consiste à remplacer à un locus donné, un allèle par un autre. Par exemple, il peut s'agir de remplacer un allèle de sensibilité à une maladie par un allèle de résistance. Cette introduction pourrait se faire par transgénèse si elle était bien maîtrisée. En fait, nous verrons que la transgénèse actuelle ne permet pas de remplacer un gène par un autre plus favorable ou plus efficace ; elle permet d'introduire un gène dans le génome, qui s'insère de façon non encore contrôlée, et ensuite, il faut sélectionner les événements de transformation les plus favorables.

Le principe du rétrocroisement est alors le suivant. Soit un parent, dit *receveur*, de bonne valeur agronomique, mais avec un défaut contrôlé par un seul locus, avec l'allèle défavorable *a* (sensible à une maladie dans notre exemple), supposé récessif, et un parent, dit *donneur*, souvent de moindre qualité agronomique, mais avec l'allèle favorable *A (résistant à la maladie)*, dominant. Le but est alors de remplacer *a* par *A* selon le schéma indiqué dans la figure 2.6. On commence par le croisement du donneur et du receveur qui donne la F_1 ; la F_1 est recroisée avec le parent receveur : au locus concerné il y a disjonction 1/2 *Aa*, 1/2 *aa* ; une étude de la sensibilité aux maladies permet alors d'identifier les plantes *Aa* qui sont recroisées au parent receveur, et à nouveau il y a ségrégation 1/2 *Aa,* 1/2 *aa*, sélection des individus *Aa* par infection artificielle et recroisement avec le parent receveur et ceci pendant 5-6 cycles. Pour les locus non liés au gène d'intérêt, à chaque génération de recroisement, la fréquence des locus hétérozygotes est divisée par 2 ; le reste du génome évolue donc vers l'homozygotie et devient du type du parent receveur, alors que le locus avec le gène d'intérêt est maintenu à l'état hétérozygote. On termine alors par deux autofécondations pour fixer et extraire des plantes *AA* qui seront par ailleurs pratiquement (à plus de 99 %) revenues au parent récurrent.

Le problème est qu'en maintenant l'état hétérozygote *Aa* au locus, on maintient, lié à l'allèle introduit *A,* un fragment chromosomique du parent donneur, de longueur

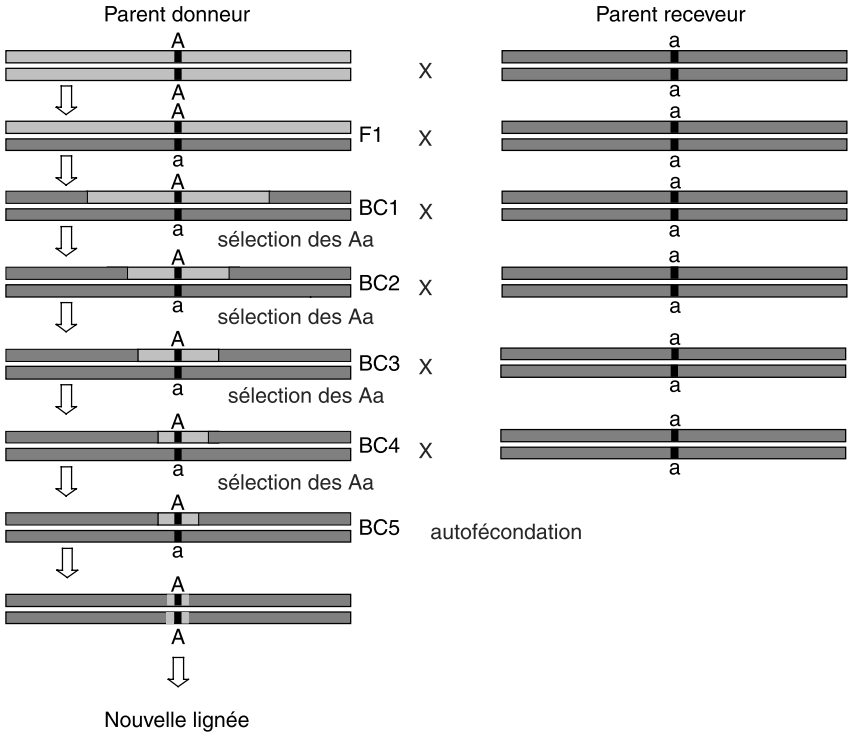


Figure 2.6. Introduction d'un gène dominant d'un génotype donneur dans le génome d'un génotype receveur par la méthode des rétrocroisements.
Le but est de transférer l'allèle *A* du génotype donneur, à la place de l'allèle *a*, du génotype receveur. À chaque génération des plantes *Aa* sont sélectionnées et recroisées avec le parent receveur *aa,* ce qui conduit à diviser par 2 le pourcentage de locus hétérozygotes, sauf pour le chromosome porteur du gène à transférer. Autour du gène transféré, maintenu à l'état hétérozygote à toutes les générations de recroisements, c'est tout un fragment chromosomique qui est en fait maintenu à l'état hétérozygote et qui sera donc fixé par autofécondation.

variable, mais qui peut faire jusqu'à 25-30 % du chromosome (fig. 2.7). C'est ce que l'on appelle le « linkage drag » ou « effet d'entraînement ». Avec 10-15 gènes par centiMorgan (unité de mesure des distances entre gènes), cela peut se traduire par plusieurs centaines de gènes. Il ne peut donc pas y avoir isogénicité (identité pour tous les locus sauf pour le locus du gène d'intérêt), c'est-à-dire quasi-identité du génotype reconverti et du génotype de départ. La réalité de ce phénomène est bien illustrée par les travaux de Young et Tanksley (1990) chez la tomate qui, grâce à l'utilisation des marqueurs moléculaires, montrent une longueur de segment chromosomique du donneur qui peut encore être très importante malgré un grand nombre de rétrocroisements (fig. 2.7). La conséquence de ce phénomène est que les lignées converties ayant ainsi fixé de nombreux allèles du parent donneur, en général de moindre valeur sur le plan agronomique que ceux du parent receveur, sont souvent de valeur agronomique inférieure à celle du parent receveur. Les figures 2.8 montrent trois exemples illustrant bien cet effet. Le premier est relatif à l'introduction du gène de monogermie chez la betterave, le second et le troisième à l'introduction des gènes d'absence d'acide érucique et d'absence de glucosinolates

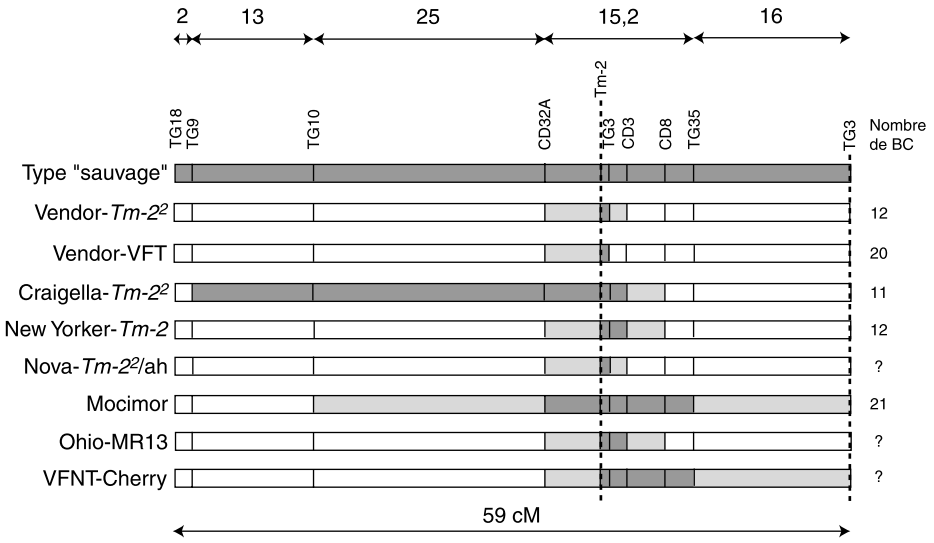


Figure 2.7. Portion de génome donneur introduit par rétrocroisement avec le gène d'intérêt (Tm-2, la résistance au virus de la mosaïque) dans plusieurs variétés de tomate (Young et Tanksley, 1989).
La longueur de ce segment (zone en grisé foncé) peut être très variable selon les lignées reconverties obtenues ; malgré un très grand nombre de rétrocroisements (au minimum 11, ce qui est rarement réalisé en pratique), il peut atteindre plus de 30 cM. En grisé clair sont représentées les zones de recombinaison.

chez le colza. Dans les trois cas, il y a bien eu dépression de la valeur agronomique après introduction des allèles désirés, mais par la suite, plusieurs cycles de sélection avec des lignées ayant incorporé le gène d'intérêt ont permis de supprimer l'effet défavorable par raccourcissement progressif de la longueur du fragment chromosomique indésirable (fig. 2.8).

Le bilan de cette méthode, qui relève très clairement du génie génétique, est le suivant :
– la méthode est longue, au moins 8 générations, soit huit ans pour une plante annuelle ou quatre ans si on peut faire deux générations par an,
– elle est coûteuse, compte tenu de sa durée mais aussi des moyens nécessaires (parcelles isolées, serres, chambres de culture pour élever les champignons, les insectes…),
– elle est encore plus longue et plus coûteuse s'il s'agit d'introduire un gène récessif : dans ce cas il est nécessaire après chaque recroisement d'introduire une génération d'autofécondation des hétérozygotes *Aa* pour faire apparaître et identifier les plantes *aa* qui seront recroisées avec le parent receveur : le nombre de générations à réaliser est ainsi doublé (soit 16 générations !),
– le résultat n'est pas complètement satisfaisant, puisque avec le gène désiré beaucoup d'autres gènes sont introduits, ce qui peut déprécier la valeur du parent receveur et demander de nouveaux cycles de sélection pour corriger les défauts introduits.

L'idéal serait une technique permettant de n'introduire que le gène voulu, et ceci le plus rapidement possible, pour répondre en un temps le plus court possible à un problème nouveau, comme par exemple l'apparition d'une nouvelle maladie. C'est l'un des avantages potentiels de la transgénèse. Nous verrons que les marqueurs moléculaires apportent une solution partielle à ce problème.

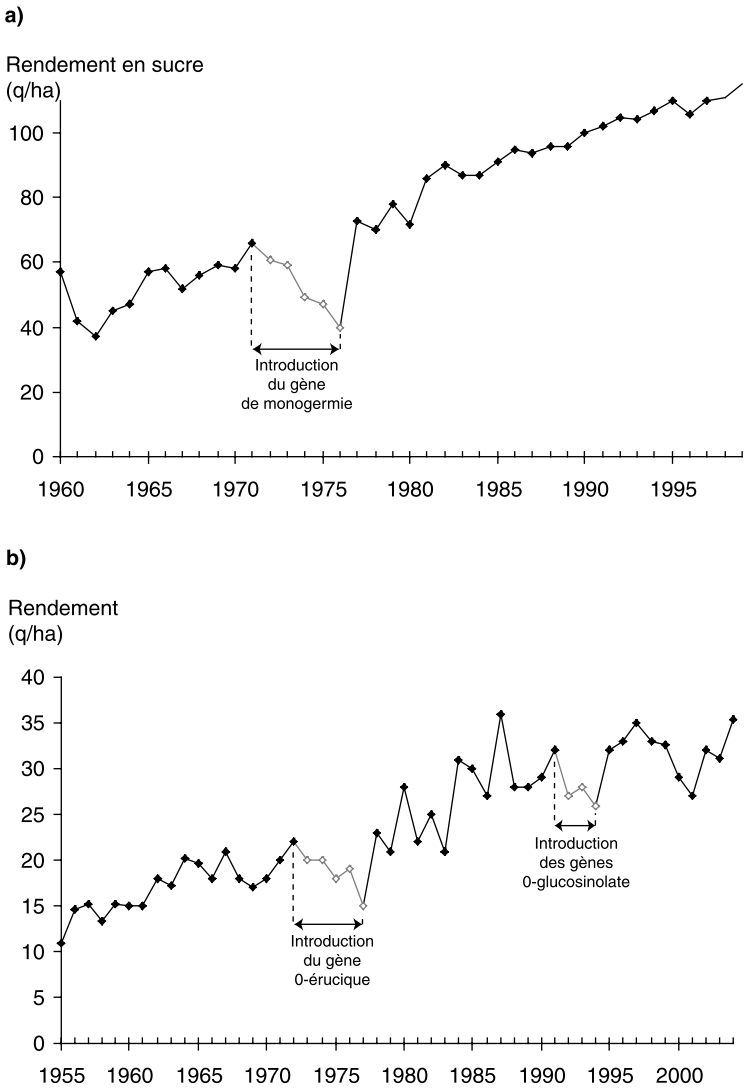


Figure 2.8. Effet du « linkage drag ». a) chez la betterave suite à l'introduction du gène de monogermie chez le parent femelle (de 1971 à 1976) et b) chez le colza suite à l'introduction des gènes 0-érucique (de 1972 à 1977) et 0-glucosinolate (de 1990 à 1994).
Dans les trois cas, l'introduction d'un gène provenant d'un parent moins performant sur le plan agronomique, a entraîné une diminution du rendement.

La sélection récurrente

En un cycle de sélection généalogique, l'efficacité de la recombinaison génétique entre gènes non homologues est limitée, pour deux raisons. D'abord elle ne permet pas de réunir immédiatement tous les gènes favorables des deux parents dans un même génotype : la fixation de gènes favorables entraîne nécessairement la fixation de gènes défavorables liés, et corrélativement des gènes favorables sont perdus

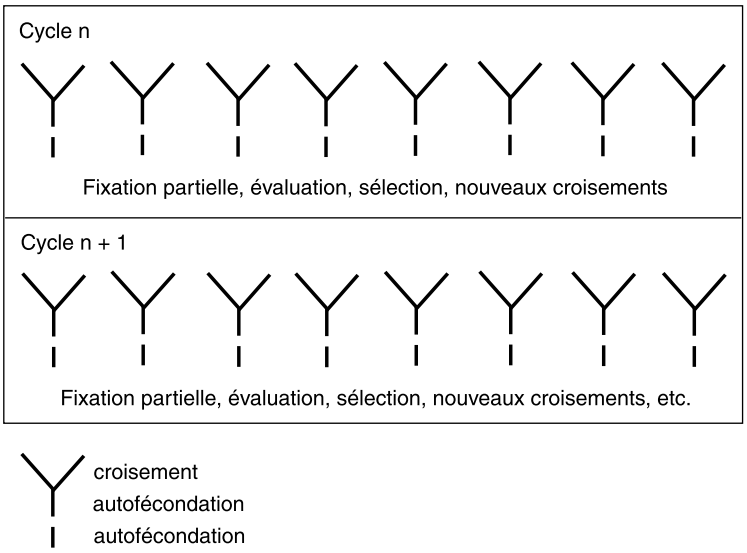


Figure 2.9. La sélection récurrente vue comme méthode de cumulation de cycles « raccourcis » de sélection généalogique.

parce qu'ils sont liés à des gènes défavorables éliminés. Des gènes favorables peuvent aussi être perdus par hasard au cours des cycles d'autofécondation et de sélection. De plus, pour un caractère complexe les deux parents n'apportent pas tous les gènes favorables ; ceux-ci sont dispersés chez un grand nombre de « parents ». Le nombre de gènes favorables à réunir dans un même génotype étant très grand, il est alors nécessaire de cumuler beaucoup de cycles de sélection généalogique pour tendre vers l'objectif recherché.

Pour gagner en efficacité, il faut chercher à recombiner le plus tôt possible, donc avant la fixation totale, des génotypes de bonne valeur, non apparentés, et enchaîner plusieurs cycles de « sélection suivie de recombinaison » (fig. 2.9). C'est ce type de sélection qui est appelé *sélection récurrente* (Gallais, 1989). La fixation à l'état homozygote en vue de la création variétale se poursuit alors de façon indépendante de cette forme de sélection cumulative. À l'extrême, la sélection récurrente peut s'appliquer à des populations à base génétique assez large, obtenues par intercroisement des plantes sélectionnées. C'est d'ailleurs ainsi que la sélection récurrente a d'abord été développée. Le but est d'augmenter la fréquence des gènes favorables dans la population, donc la fréquence des associations de gènes favorables et les chances d'extraire de cette population des lignées ayant accumulé beaucoup de gènes favorables. Il faut seulement adapter le critère de sélection des plantes qui seront intercroisées au type de variété à développer. Ainsi, dans le but de développer des lignées à bonne valeur propre, on sélectionnera les plantes pour leur valeur en autofécondation ; pour développer de futurs bons parents d'hybrides, on évaluera la valeur en combinaison hybride des plantes avec un testeur (Gallais, 1989).

La stratégie de la sélection des ressources génétiques à la création variétale peut alors être représentée comme sur la figure 2.10. L'axe central de la sélection est

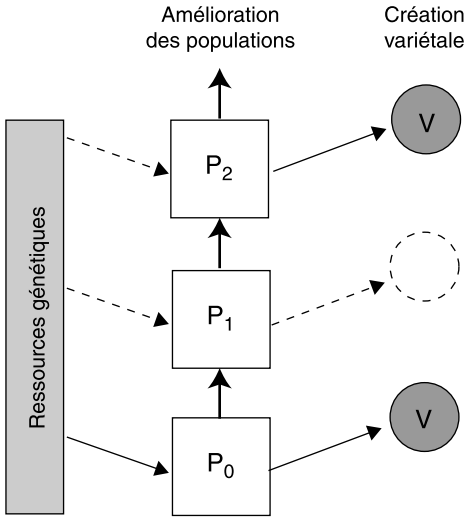


Figure 2.10. La stratégie de la sélection, des ressources génétiques à la création variétale, avec une séparation de l'amélioration du matériel de base et de la création variétale *stricto sensu* (Gallais, 1981). En pointillés sont notées les opérations éventuelles.

celui de l'amélioration du matériel de base par sélection récurrente. Cet axe peut se ramifier à n'importe quel cycle dans la création variétale. C'est aussi au niveau de cet axe que sera introduit toute nouvelle source de variabilité génétique, avec cependant quelques précautions pour du matériel très « exotique ». Cette stratégie, qui va des ressources génétiques à la création variétale, est toujours plus ou moins consciemment appliquée par le sélectionneur. C'est au niveau de cette stratégie qu'il faudra savoir situer tous les nouveaux outils à la disposition de la sélection, y compris la transgénèse.

L'efficacité cumulée de nombreux cycles de « sélection suivie d'intercroisement » est illustrée par la seule expérience de très longue durée qui existe chez les plantes : il s'agit d'une expérience de sélection pour la teneur en huile et la teneur en protéines du grain de maïs qui porte aujourd'hui sur près de 100 cycles de sélection (Dudley et Lambert, 2004) (fig. 2.11). Dans ce cas, le schéma de sélection récurrente utilisé est particulièrement simple : la teneur en protéines (ou en huile) est évaluée au niveau des épis des plantes candidates à la sélection et des grains des épis les plus riches sont mélangés pour passer à la génération suivante. La durée du cycle est donc réduite à un an. Au bout de 100 cycles de sélection pour la teneur en protéines, le grain de maïs est pratiquement devenu l'équivalent d'un grain de protéagineux, avec des teneurs 2,5 fois plus élevées que la teneur de départ. Cela montre la puissance de la sélection récurrente avec une bonne gestion de la variabilité génétique, en particulier avec des intensités de sélection qui ne sont pas trop fortes pour passer d'un cycle à l'autre. Une telle expérience a clairement conduit à l'élaboration de nouveaux génotypes qui peuvent être utilisés comme géniteurs pour développer des variétés à forte teneur en protéines ou à forte teneur en huile.

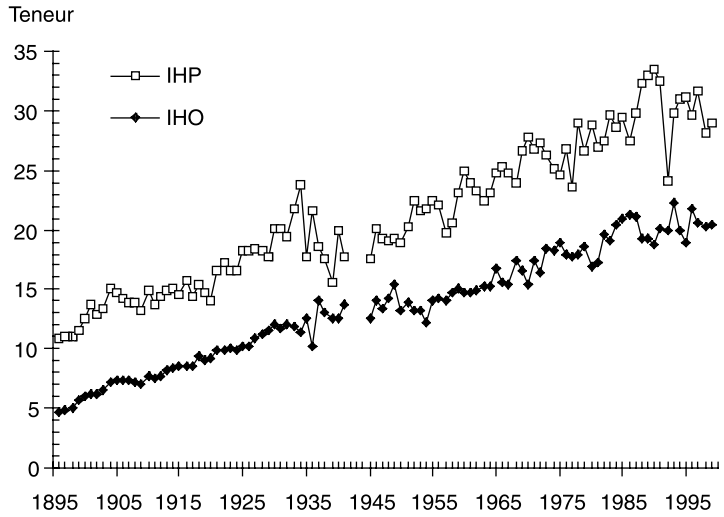


Figure 2.11. 100 cycles de sélection récurrente pour la teneur en huile (IHO) et la teneur en protéines (IHP) du grain chez le maïs (d'après Dudley et Lambert, 2004).
Cette expérience montre la puissance de l'accumulation d'un grand nombre de cycles de sélection pour l'amélioration d'un caractère quantitatif déterminé par un grand nombre de gènes.

⏩ L'apport des biotechnologies au niveau cellulaire

La maîtrise de la reproduction à l'identique

Depuis les débuts de l'amélioration des plantes, les types variétaux ont eu tendance pour un grand nombre d'espèces, à l'exception notable des graminées et légumineuses fourragères, à devenir monogénotypiques : une lignée, un hybride simple ou un clone représentent un seul génotype. Nous l'avons vu, c'est la rançon du progrès génétique. C'est en effet ce type de variété qui permet l'utilisation maximale de la variation génétique. Un des rêves du sélectionneur serait alors de pouvoir reproduire n'importe quel génotype à l'identique, car cela faciliterait la sélection et la création de variétés : dès qu'un « bon » génotype serait détecté, il suffirait de le reproduire à grande échelle. La maîtrise de la reproduction à l'identique réduirait ainsi beaucoup le temps de création variétale. Cela est réalisé depuis longtemps chez les plantes à multiplication végétative et aujourd'hui, chez ces espèces, le taux de multiplication a fortement été augmenté par les techniques de micro-propagation. L'obtention d'embryons à partir de cultures cellulaires (embryogenèse somatique) ouvre la porte à la production de graines artificielles. Chez les plantes à reproduction sexuée, il faudrait pouvoir induire le développement parthénogénétique des graines (apomixie), c'est-à-dire le développement d'ovules sans fécondation, qui reproduisent donc le génotype femelle. C'est une multiplication végétative sous forme de graines. L'apomixie existe chez certaines plantes (sous nos latitudes, chez le pissenlit et le pâturin *Poa pratensis*, et sous les tropiques, chez de nombreuses plantes, par exemple chez *Panicum maximum*,…) où elle représente

une certaine dégénérescence de la reproduction sexuée, mais elle est difficile à utiliser (Savidan, 2000). Son transfert du *Tripsacum* au maïs a été tenté, mais cela s'est avéré difficile et sans réel succès jusqu'à aujourd'hui. Une alternative serait de pouvoir l'induire par des cytoplasmes (comme la stérilité mâle) ou chimiquement.

Ainsi la reproduction à l'identique, considérée comme une « manipulation du vivant » chez les animaux, est depuis des siècles largement utilisée dans l'amélioration de certaines espèces végétales et pourrait l'être sans doute plus encore avec le progrès des connaissances.

La « manipulation » des niveaux de ploïdie

Le doublement chromosomique et les croisements interspécifiques

Dans la nature il existe des espèces qui ont plus de deux fois, mais en nombre pair (4, 6, et même 8 fois…), le génome haploïde de base : on parle alors d'espèces autopolyploïdes. Citons la luzerne, le poireau, le dactyle, le caféier qui sont autotétraploïdes, la fléole qui est autohexaploïde et la canne à sucre (ou le fraisier) qui sont octoploïdes (en partie auto-octoploïdes). D'autres espèces ont leur génome formé par la juxtaposition de plusieurs génomes diploïdes : on parle alors d'espèces allopolyploïdes (par exemple le blé, allohexaploïde formé par la juxtaposition des trois génomes ; le colza et les cotonniers les plus cultivés, allotétraploïde, formés par la juxtaposition de deux génomes diploïdes). Cela signifie que dans la nature, des doublements chromosomiques et des croisements interspécifiques se sont produits spontanément.

D'une façon générale, la polyploïdie a joué un grand rôle dans l'évolution et l'adaptation des plantes (Stebbins, 1980 ; Gallais, 2004). Dès la découverte des propriétés de la colchicine (agent mitoclasique, qui inhibe la formation du fuseau achromatique au moment de la mitose) en 1936 par Blakeslee, le sélectionneur a cherché à produire des plantes autotétraploïdes. Ces plantes, avec des cellules plus grandes, peuvent avoir des qualités intéressantes : forme de la racine chez la betterave, appétibilité ou digestibilité plus importante chez les graminées fourragères, taille des fleurs… Ces modifications sont exploitées pour l'amélioration de ces plantes. Ainsi, les variétés de betterave actuelles sont souvent des triploïdes (femelle diploïde × mâle autotétraploïde) et de nombreuses variétés de trèfle violet et de ray-grass d'Italie sont des autotétraploïdes artificiels. La technique de doublement est aussi utilisée pour la « synthèse » de nouvelles espèces (triticale) ou la « resynthèse » d'espèces cultivées résultant de croisements interspécifiques comme dans le cas du bananier (Bakry, 2001) ou du colza (fig. 2.12). Ces synthèses ou resynthèses d'espèces nouvelles ou déjà existantes font apparaître une nouvelle variabilité, des associations nouvelles de caractères, comme chez le Triticale qui réunit des qualités de productivité du blé et de rusticité du seigle.

Ces croisements interspécifiques reviennent à réunir dans un même génome des milliers de gènes provenant de génomes différents. Il s'agit donc d'une opération de génie génétique, bien plus importante que celle de la transgénèse, qui nous le verrons, correspond à l'introduction de seulement quelques nouveaux gènes bien

définis, voire un seul, dans un génome. De même le doublement chromosomique en faisant passer une plante de l'état diploïde à l'état autotétraploïde peut modifier les effets de dosage des gènes et leur régulation bien plus que l'introduction d'un gène dans un génome (Scheid *et al.*, 1996 ; Guo *et al.*, 1996).

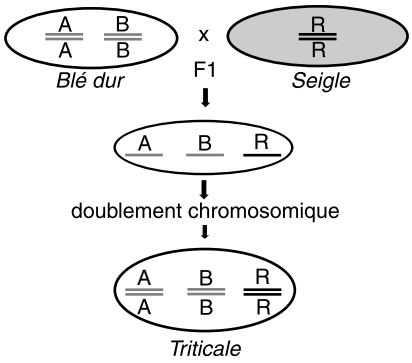


Figure 2.12. Resynthèse ou obtention d'une nouvelle espèce par croisement interspécifique (cas du Triticale).

L'haplodiploïdisation

Cette technique consiste à régénérer une plante diploïde à partir d'un gamétophyte (haploïde), mâle (le pollen) ou femelle (l'ovule). Elle commence par une phase d'haploïdisation, suivie d'une phase de diploïdisation par doublement chromosomique, le plus souvent à la colchicine (fig. 2.13). Il en résulte des plantes complètement homozygotes. L'avantage de cette technique est de conduire rapidement un état homozygote parfait. Malheureusement, la maîtrise de la technique est loin d'être totale et elle ne peut être utilisée en routine que chez quelques espèces (colza, orge, poivron, aubergine…). Dans certains cas, des croisements interspécifiques (orge cultivée × orge sauvage bulbeuse ; blé × maïs) permettent également d'obtenir le développement d'embryons haploïdes : la fécondation a bien lieu, mais le génome mâle est très vite éliminé au cours des premières mitoses. Il suffit alors de réaliser le doublement chromosomique. Chez le maïs, il existe même des génotypes « inducteurs » de ce développement parthénogénétique haploïde. C'est l'exemple typique d'une technique dont la maîtrise est capable de bouleverser la création de variétés par un gain de temps (trois ou quatre ans chez une espèce annuelle) et une meilleure exploitation de la variabilité génétique.

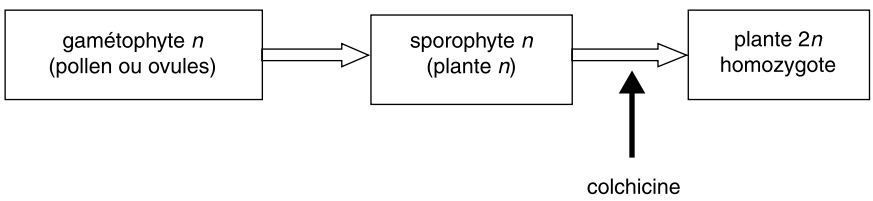


Figure 2.13. Schématisation de l'haplodiploïdisation.

Cette technique pourrait perturber le fonctionnement du génome et sa régulation par la dédifférenciation des cellules gamétiques et aussi par l'homozygotie parfaite qu'elle entraîne. Cependant, l'expérience montre que lorsqu'elle est bien maîtrisée, la variabilité régénérée est identique à celle qui est obtenue par autofécondation.

La maîtrise de la recombinaison et l'utilisation de la variation interspécifique

Un des freins à l'utilisation de la variabilité est le faible nombre de recombinaisons : seulement un à trois crossing-overs ont lieu par chromosome. Cela limite donc fortement l'échange de gènes entre génotypes au cours d'un seul croisement, c'est-à-dire une seule méïose. L'augmentation du nombre de crossing-overs par chromosome permettrait d'accélérer l'accumulation des gènes favorables dans un même génotype. Certaines conditions environnementales, voire certaines substances, pourraient augmenter ce taux de recombinaison. Cependant, les résultats ne sont pas convaincants. Un contrôle génétique de la recombinaison est bien connu, mais il semble difficile à utiliser dans l'état actuel de nos connaissances. Ce problème se pose au niveau intraspécifique, mais encore plus au niveau interspécifique : il est très difficile de provoquer des recombinaisons entre chromosomes d'espèces différentes. Pourtant, les espèces sauvages assez proches des espèces cultivées sont des sources de gènes très intéressantes. C'est en particulier le cas pour les résistances aux maladies. Pour utiliser cette variabilité, différentes techniques peuvent être mises en œuvre :
– le sauvetage des embryons hybrides par la culture *in vitro*,
– leur doublement chromosomique pour restaurer la fertilité,
– l'introgression d'un segment chromosomique de l'espèce sauvage, portant le gène de résistance.

Cette dernière technique est déjà un exemple de transgénèse au sens où l'on introduit bien des gènes d'une espèce dans le génome d'une autre espèce. Pour aboutir à ce transfert, différentes voies ont été utilisées. Ainsi, pour tenter d'obtenir l'intégration d'un fragment d'un génome sauvage dans un génome cultivé, on provoque des cassures sur les chromosomes d'hybrides interspécifiques par des traitements aux rayons X (références *in* Sears, 1981). Chez le blé, une méthode élégante pour réaliser des introgressions de gènes ou de fragments chromosomiques d'espèces sauvages apparentées dans le génome de l'espèce cultivée consiste à agir sur un gène qui a pour fonction d'empêcher l'appariement des chromosomes de l'espèce sauvage et de l'espèce cultivée. En « inhibant » ce gène, il peut y avoir des recombinaisons, donc intégration du segment recherché dans le génome cultivé. Il suffit alors de le « réactiver » pour retrouver un matériel génétique stable. Dans d'autres cas, pour réaliser le transfert à partir d'une espèce sauvage assez éloignée de l'espèce cultivée, se croisant mal avec elle, il est possible d'avoir recours à une espèce « pont » qui se croise bien à la fois avec l'espèce sauvage et avec l'espèce cultivée. C'est ainsi que chez le blé tendre, la résistance au piétin verse (maladie de la base des tiges) d'une graminée sauvage, *Aegilops ventricosa,* a pu être introduite en passant par *Triticum persicum* (Maïa, 1967) (fig. 2.14). En fait, c'est un fragment chromosomique qui a été introduit, et ce fragment est présent dans environ 15 % des variétés de blé aujourd'hui commercialisées ! C'est un exemple très proche de

la transgénèse puisqu'il y a eu introgression d'un fragment chromosomique d'une espèce différente. Cependant, les méthodes utilisées sont longues, laborieuses et un peu aléatoires.

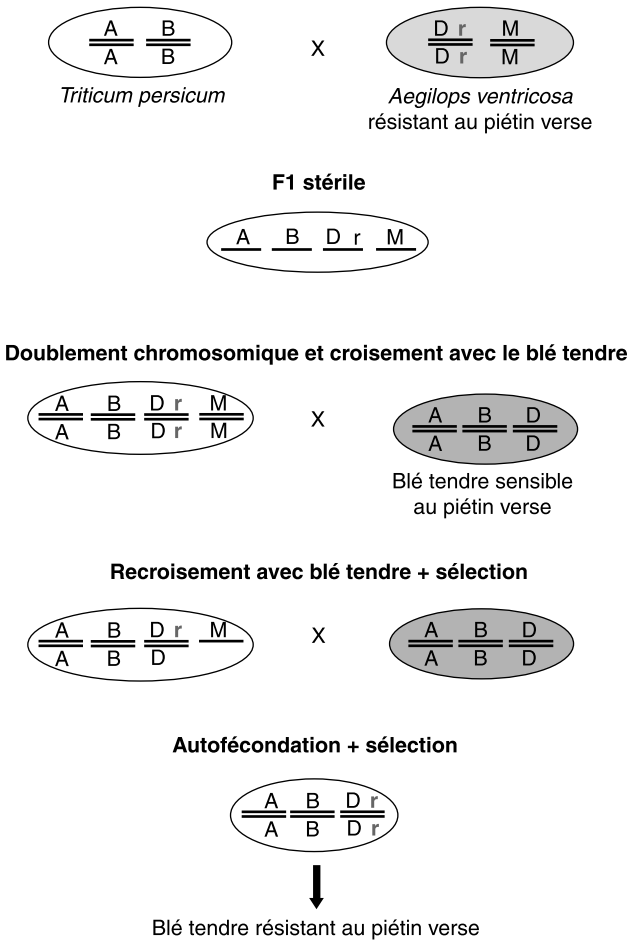


Figure 2.14. Introgression dans le génome du blé tendre d'un fragment chromosomique d'*Aegilops ventricosa* portant la résistance au piétin verse.

La ré-association des organites cytoplasmiques

Dans la cellule végétale deux types d'organites portent des informations génétiques (ADN) : les chloroplastes qui jouent un rôle important dans la photosynthèse et les mitochondries qui jouent un rôle essentiel dans la fourniture d'énergie nécessaire à la réalisation de réactions biochimiques (respiration).

La fusion de protoplastes (cellules isolées, « nues », sans leur paroi cellulosique) a ouvert la porte à la recombinaison de ces organites cytoplasmiques. C'est ainsi que Pelletier *et al.* (1983) ont pu corriger le défaut de la stérilité mâle nucléo-cytoplasmique du colza issue du radis. Cette stérilité, contrôlée par les mitochondries, était

liée à une déficience chlorophyllienne, associée aux chloroplastes. Au cours des croisements réalisés pour transférer la stérilité mâle chez le colza, par l'intermédiaire du chou, on a donc aussi transmis la déficience chlorophyllienne. Par fusion de protoplastes de colza normal et de colza mâle stérile, c'est-à-dire porteur du cytoplasme radis, il a été possible d'obtenir après régénération des plantes de colza présentant une stérilité mâle sans déficience chlorophyllienne (fig. 2.15). Mais l'intérêt du colza est de produire des grains, et il faut donc restaurer la fertilité. Le gène de restauration de fertilité se trouvait logiquement chez le radis, le donneur de cytoplasme. Il a donc été transmis au colza, par rétrocroisement, entraînant avec lui tout un fragment du radis, qui malheureusement contenait des gènes codant pour la synthèse de glucosinolates (substances goîtrigènes que l'on cherche à éliminer des tourteaux de colza destinés à l'alimentation animale) qu'il a fallu ensuite chercher à supprimer. Cela a donc ralenti l'utilisation de ce système de stérilité mâle. La transgénèse aurait permis d'aboutir plus rapidement et élégamment aux variétés hybrides de colza.

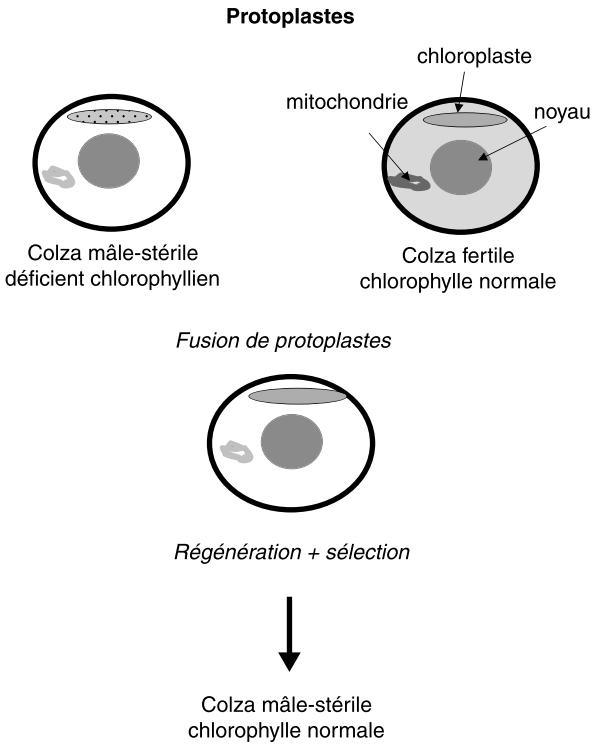


Figure 2.15. La fusion de protoplastes comme outil pour provoquer des échanges d'organites cytoplasmiques. Exemple de la stérilité mâle Ogura du colza.

⏩ L'apport des biotechnologies au niveau des gènes et de la recombinaison

La mutagénèse

La mutagénèse est le moyen de créer une nouvelle variabilité génétique en provoquant des changements (mutations) au niveau du génome. C'est un outil qui est particulièrement intéressant lorsque la variabilité à l'intérieur d'une espèce est insuffisante. Deux grands types de mutagénèse sont connus :
– le premier correspond à une *mutagénèse aléatoire* par des rayonnements ionisants (rayons X, rayons γ avec le Cobalt 60), qui provoquent le plus souvent des cassures chromosomiques, ou par des agents chimiques (MSE = méthyle sulfonate d'éthyle) qui ont une action plus douce, entraînant des substitutions de bases. Elle a été découverte très tôt chez les micro-organismes (Muller, 1930) puis étendue aux plantes dans les années 1955 (Gaul, 1961). Cependant, ces méthodes n'ont eu que peu de succès : les mutations obtenues étaient le plus souvent défavorables ou correspondaient à des caractères sans intérêt pour les objectifs du sélectionneur. En France, il faut toutefois signaler le cas du riz de Camargue, dont certains types originaux (par exemple, variété Delta à grain plus allongé) ont été créés par Marie (1974), par mutagénèse aux rayons gamma (Cobalt 60).
– le deuxième correspond à une *mutagénèse dirigée*. Dans la séquence des bases (A, T, G et C) qui forment l'ADN, elle permet de remplacer en un point donné une base par une autre : on peut ainsi modifier les caractéristiques du gène. Malheureusement, elle nécessite la maîtrise de la recombinaison homologue, c'est-à-dire le remplacement d'un gène par un autre, ce qui n'est actuellement possible que chez les procaryotes (bactéries) et les animaux (souris), mais pas encore chez les végétaux, sauf chez les mousses et les chloroplastes (qui sont d'origine bactérienne).

Les marqueurs moléculaires

Définitions

La découverte des marqueurs moléculaires du génome remonte aux années 1985-1990. Un marqueur moléculaire peut être défini comme une étiquette au niveau de la molécule d'ADN, étiquette qui va segréger comme un gène, avec différents allèles. Ainsi pour les marqueurs de type RFLP *(Restriction Fragment Length Polymorphism*), l'étiquette est définie par une combinaison enzyme × sonde ; l'enzyme coupe en fonction des séquences des bases A, T, G, C qu'elle reconnaît, la sonde permet d'identifier les fragments homologues : la différence de longueur des fragments conduit à l'équivalent d'allèles de l'étiquette considérée. Avec les microsatellites (répétitions d'une séquence de quelques nucléotides), on étudie aussi un polymorphisme de longueur des séquences (de Vienne, 1995).

Tous les caractères monogéniques peuvent évidemment être des marqueurs du génome, mais il y a une grande différence avec les marqueurs moléculaires : d'abord il n'est pas possible d'en avoir un grand nombre en disjonction dans un même croisement, ensuite ils peuvent affecter le phénotype étudié, ce qui est un inconvénient

pour la recherche de gènes impliqués. Ainsi par exemple, un gène de nanisme pourrait être considéré comme un marqueur, mais il sera un très mauvais marqueur pour aller à la recherche des gènes impliqués dans la variation génétique de la hauteur ou des caractères liés, le rendement par exemple. L'avantage des marqueurs moléculaires est qu'il est possible de trouver des marqueurs neutres et polymorphes en grand nombre dans tout croisement entre deux génotypes pas trop apparentés.

Cartographie génétique et détection de gènes ou de QTL

Disposant d'un grand nombre de marqueurs et d'une population en ségrégation (dérivée d'une F_1) où la liaison physique ne peut être que la seule cause de liaison entre marqueurs, il est possible d'en chercher les liaisons 2 à 2, 3 à 3… et ainsi faire une cartographie, ce qui conduit aux cartes génétiques, chaque « *groupe de liaison* » entre marqueurs correspondant à un chromosome (de Vienne, 1995) (fig. 2.16). C'est d'ailleurs ainsi, à l'aide de caractères phénotypiques monogéniques en relativement faible nombre, que la théorie chromosomique de l'hérédité a pu être formulée en 1935 par Morgan avant que les chromosomes soient vraiment identifiés comme support du matériel héréditaire. Cette démarche permet aussi de cartographier des gènes majeurs ou des gènes impliqués dans la variation d'un caractère quantitatif (QTL pour *Quantitative Trait Loci*). Le principe est d'étudier la liaison entre un marqueur et un caractère qualitatif ou quantitatif. Pour un caractère qualitatif (résistance aux maladies par exemple), il suffit d'étudier la co-segrégation en F_2 entre un marqueur et le caractère. On place alors le gène majeur sur la carte, exactement comme un autre marqueur. Pour un caractère quantitatif (le rendement par exemple), si dans une F_2, les moyennes des trois catégories de plantes pour un marqueur donné (soit M_1M_1, M_1M_2 et M_2M_2) sont différentes, alors on peut conclure qu'il y a dans la zone du marqueur un gène impliqué dans la variation du caractère. On peut donc faire, pour un croisement donné, une cartographie des zones du génome impliquées dans la variation. Pour chaque zone, il y a un fragment venant d'un parent et un autre fragment allèle venant de l'autre parent : ce sont les allèles au QTL, l'un est favorable, l'autre est défavorable. Ces allèles sont identifiés par les marqueurs, par exemple M_1 et M_2, mais il peut y avoir plusieurs marqueurs pour un segment.

La sélection assistée par marqueurs

À partir de la cartographie de gènes ou de QTL, on peut définir le génotype « idéal » comme celui qui aura le maximum de gènes ou de segments chromosomiques favorables. Les marqueurs peuvent alors être utilisés pour les réunir dans un même génotype (Charcosset et Gallais, 1998 ; Gallais *et al*., 2000). On retrouve là le principe de la sélection, mais avec une grande différence :

– il n'y a plus à se soucier de l'appréciation de la valeur du matériel en cours de sélection il suffit de « lire » les marqueurs portés par les plantes pour en déterminer leur valeur ;

– les recombinaisons entre gènes non homologues peuvent être sélectionnées : dans la génération F_2 de croisements entre parents complémentaires, les génotypes transgressants (cumulant les gènes favorables des deux parents) peuvent être identifiés et sélectionnés pour être à nouveau croisés avec d'autres génotypes complémentaires. Pour cette forme de sélection, on parle d'ailleurs de *construction de génotypes assistée par marqueurs*.

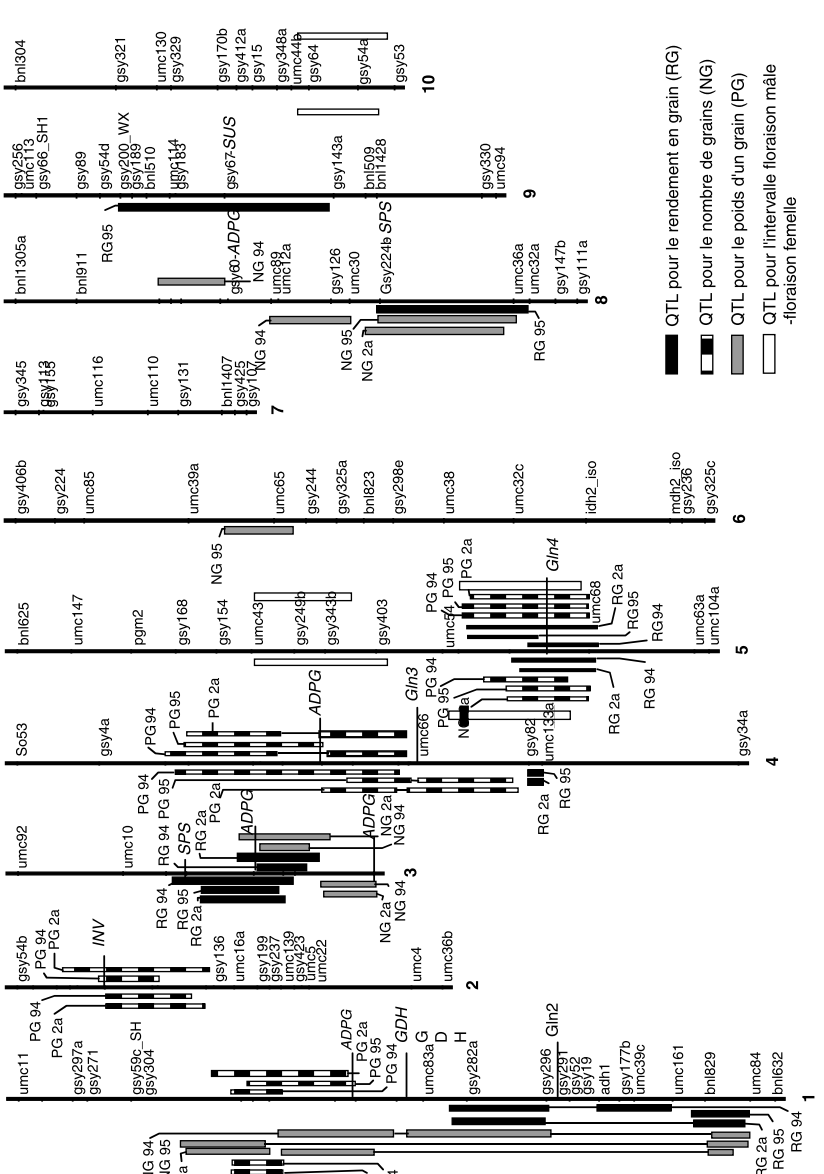


Figure 2.16. Cartographie génétique et détection de QTL. Un exemple chez le maïs.
Chez cette espèce, il y a 10 paires de chromosomes, donc 10 groupes de liaison. La carte génétique a été construite par l'étude des liaisons entre les marqueurs moléculaires (RFLP) qui sont représentés à droite du chromosome (umc, gsy…). La détection de QTL a été réalisée par l'étude de la liaison entre les marqueurs moléculaires et les caractères étudiés. Pour le rendement (RG) et ses composantes (NG et PG) les années d'observation sont indiquées (94 = 1994, 95 = 1995, 2a = 1994 + 1995). Les QTL à gauche du chromosome ont été détectés à forte fumure azotée, ceux à droite ont été détectés à fumure azotée réduite (Bertin et Gallais, 2000).

Cas du rétrocroisement pour un gène majeur

L'utilisation des marqueurs pour conduire le rétrocroisement, permet de répondre point par point aux limites du rétrocroisement conventionnel pour transmettre un gène d'un fond génétique à un autre (voir p. 38). Trois types de marqueurs sont nécessaires (Gallais, *in* de Vienne, 1995) :
– des marqueurs du gène à transmettre, ils permettent d'identifier les plantes porteuses du gène sans faire de tests très coûteux, comme des tests de résistance aux maladies ou de résistance aux insectes ; un seul marqueur peut suffire s'il s'agit d'un marqueur direct du gène (ce sera le cas pour le transfert d'un transgène) ; dans les autres cas, pour éviter de perdre le gène par recombinaison entre le gène et le marqueur il vaudra mieux avoir deux marqueurs, l'un à droite, l'autre à gauche du gène ;
– des marqueurs définissant deux fenêtres, l'une à droite du gène (ou à droite du marqueur de droite), l'autre à gauche (ou à gauche du marqueur de gauche) : ils servent à repérer les recombinaisons les plus proches possibles du gène, permettant ainsi de limiter la longueur du fragment chromosomique venant du parent donneur ;
– des marqueurs répartis dans tout le génome, à raison d'un ou deux marqueurs par bras chromosomique : ils permettent d'accélérer le retour vers le parent receveur.

La mise en œuvre de ces marqueurs est illustrée sur la figure 2.17. Par rapport au rétrocroisement classique, il en résulte :
– un gain de temps important (2 à 3 générations), particulièrement pour un gène d'intérêt récessif,
– une réduction souvent considérable des coûts de l'évaluation du matériel végétal,
– une taille limitée du fragment chromosomique introduit autour du gène d'intérêt, divisée en moyenne par 2 ou 3 par rapport à la méthode classique. Ce n'est certes pas aussi précis que la transgénèse maîtrisée, mais c'est déjà un progrès par rapport au backcross classique.

Cas de l'introgression de segments chromosomiques

La même démarche peut être utilisée pour réunir un ou plusieurs (moins de 4-5) segments chromosomiques favorables dans un même génotype. Le problème, dans ce cas, est que ces fragments chromosomiques sont eux-mêmes instables au cours de leur transmission du fait qu'ils peuvent contenir chacun quelques centaines de gènes. Pour cela l'optimum est d'avoir trois marqueurs par segment (un au milieu et un à chaque extrémité) pour s'assurer de l'absence de recombinaison dans le segment ; il faut toujours des marqueurs définissant une fenêtre à droite et à gauche du segment pour identifier les recombinaisons proches des extrémités du segment et quelques marqueurs répartis sur tous les bras chromosomiques pour s'assurer du retour vers le parent récurrent. Le recours aux marqueurs moléculaires représente, là aussi, un gain de temps et une meilleure efficacité dans l'utilisation de la variation génétique. Mais au-delà de plus de 4-5 segments, des méthodes autres que celles du backcross doivent être envisagées (Gallais *et al.*, 2000). Ces méthodes peuvent par exemple avoir comme objectif d'augmenter la fréquence des marqueurs des segments chromosomiques favorables au niveau de populations formées par l'intercroisement de génotypes complémentaires pour différents fragments chromosomiques favorables. Elles se rapprochent alors de la sélection récurrente.

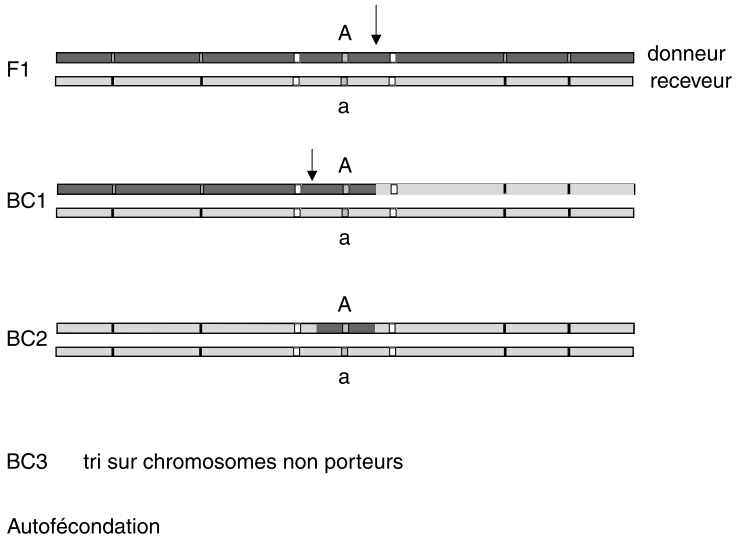


Figure 2.17. Déroulement d'un backcross assisté par marqueurs pour le transfert d'un gène A. Au niveau des plantes BC1 (résultant du recroisement d'une plante F1 avec le parent receveur), grâce aux marqueurs moléculaires, on choisit une plante hétérozygote pour le gène à transférer (*Aa*) et montrant sur le chromosome porteur de *A* une recombinaison proche de ce gène. Cette plante est recroisée avec le parent receveur. Au niveau de la descendance BC2 obtenue, on choisit une plante hétérozygote *Aa* et ayant une recombinaison sur le chromosome porteur de *A* de l'autre côté de celle déjà observée en BC1. Cette plante est recroisée avec le parent receveur pour produire la génération BC3. À cette génération on va sélectionner la plante qui a le plus possible de marqueurs du parent receveur à l'état homozygote. Cette plante est alors autofécondée pour fixer le gène *A* à l'état homozygote.

⏩ L'apport de la génomique

La génomique a progressé de façon extraordinaire ces dernières années ; le séquençage du génome d'espèces dites « modèles » comme l'arabette (*Arabidopsis*) et le riz, mais aussi d'autres espèces comme le peuplier et bientôt le maïs, est l'illustration de cette évolution (sans parler du génome humain). Les outils de la biologie moléculaire et de la génomique permettent d'identifier et de caractériser des gènes codant pour des caractères importants chez les végétaux afin de les cloner. Cette recherche de gènes est facilitée par les puces à ADN qui permettent d'étudier simultanément l'expression de milliers de gènes (Hinfray, 1997). Mais le problème est d'aller du gène à la fonction, d'où l'intérêt de la mutagénèse insertionnelle (par *Agrobacterium* ou par transposition). La transgénèse peut, à ce niveau, être très utile pour étudier les effets des gènes identifiés (voir chapitre suivant).

Avec l'identification et le clonage de gènes impliqués dans la variation de caractères physiologiques importants, au sein de l'espèce améliorée ou dans des espèces proches, il est possible d'envisager une transgénèse intraspécifique (voir chapitre suivant). Mais, en dehors de la transgénèse, l'approche par la génomique a l'avantage de conduire à des marqueurs des gènes eux-mêmes, ce qui permet de développer une sélection assistée par marqueurs, très efficace, sans risque de

recombinaison entre le gène et le marqueur. Avec des marqueurs d'allèles, il est aussi envisageable de « lire » directement la présence des allèles favorables pour sélectionner les plantes et « construire » la plante idéale sans même utiliser la transgénèse (par backcross ou sélection généalogique ou sélection récurrente assistés par marqueurs). Cette démarche permet en particulier d'identifier les allèles intéressants dans du matériel exotique et de les transférer dans du matériel déjà de très bonne valeur agronomique en limitant la longueur du fragment chromosomique introduit.

⏩ Conclusion

Au fur et à mesure du développement des connaissances, il y a eu à la fois progrès dans les performances des plantes et progrès dans l'efficacité des outils et méthodes utilisés, les deux étant bien sûr liés. C'est le progrès sur les méthodes et les outils qui a permis d'utiliser de nouvelles sources de variabilité, amenant des caractères nouveaux aux plantes et permettant d'être plus efficace dans l'utilisation de la variabilité génétique.

Les progrès dans la productivité des plantes de grande culture ont été remarquables. Les nouvelles variétés sont aussi plus rustiques et souvent de meilleures qualités que les anciennes. Cependant des progrès sont encore possibles et nécessaires dans l'adaptation au milieu (tolérance à la sécheresse, tolérance au froid), la valorisation des intrants (tels que la fumure azotée) afin de pouvoir évoluer vers une agriculture conciliant rentabilité pour l'agriculteur et respect de l'environnement. De même pour le consommateur, la qualité (dans ses différentes dimensions : gustative, nutritionnelle, technologique) peut être améliorée. Ces différents caractères ne sont pas les plus simples à améliorer, mais aujourd'hui nous disposons des outils (en particulier, des techniques d'analyse des éléments constitutifs de la qualité) pour être plus efficaces que par le passé.

Les outils à la disposition du sélectionneur lui permettent de mieux apprécier la variation génétique et de mieux l'utiliser, et ceci dans un intervalle de temps plus court. Ces outils sont toujours à situer dans une stratégie générale d'amélioration du matériel végétal et de création de variétés, qui elle ne change pas vraiment. Il s'agit toujours de réunir dans un même génotype le maximum de gènes favorables : l'amélioration des plantes, depuis ses débuts, est du génie génétique (Gallais, 2000). Même sans la transgénèse, les avancées de la génomique et l'utilisation de marqueurs de gènes ou de QTL font que la création de variétés devient de plus en plus dirigée, avec de moins en moins d'aléas : abstraction possible des variations dues au milieu pour les caractères quantitatifs, contrôle de la ré-association entre gènes, introduction dirigée de gènes… La création variétale évolue donc vers une véritable construction de génotypes.

Nous allons voir au chapitre suivant que la transgénèse permet ou permettra d'aller encore plus loin dans la construction d'un génotype : réduction de l'aléa, gain potentiel de temps, et surtout apport d'une variabilité génétique nouvelle.

Chapitre 3

Un nouvel outil : la transgénèse

La transgénèse est le transfert par des moyens artificiels d'un gène dans le génome d'un organisme ; cette transformation touche toutes les cellules de l'organisme, y compris les cellules reproductrices. Elle est donc transmissible à la descendance de l'organisme modifié.

L'histoire de la transgénèse est très liée à celle de la génétique au niveau moléculaire. Il s'est cependant écoulé 30 ans entre la découverte de la structure en hélice de l'ADN par Watson et Crick en 1953 et la mise au point des premières plantes transgéniques (encadré 3.1).

Encadré 3.1. Les grandes étapes de la recherche sur la transgénèse

1903 Redécouverte des lois de Mendel par de Vries.
1911 Découverte d'*Agrobacterium tumefaciens*.
1939 Premières cultures cellulaires par Gautheret.
1944 Transformation du pneumocoque par Avery.
1953 Découverte de la double hélice de l'ADN par Watson et Crick.
1961 Universalité du code génétique (Speyer *et al*., 1962).
1970 Découverte des enzymes de restriction par Arber (Berg, 1972).
1974 Découverte du plasmide Ti (Schell et van Montagu).
1977 Premier transfert maîtrisé d'ADN dans une plante par le plasmide Ti (Chilton).
1983 Production de la première plante transgénique (tabac) et première expression d'un gène étranger dans une plante.
1985 Production de la première plante transgénique résistante aux insectes.

▸▸ Le contexte moléculaire

Gènes et génome

Le gène est le composant élémentaire de l'information génétique portée par l'ADN ; c'est une séquence d'ADN qui détermine une fonction, un caractère. Les gènes sont là où se trouve l'ADN, c'est-à-dire au niveau du noyau de chaque cellule,

mais aussi au niveau des organites cytoplasmiques, mitochondries et chloroplastes. Les gènes nucléaires sont en nombre beaucoup plus grand (environ 30 000 gènes chez le maïs, comme chez l'homme) que les gènes mitochondriaux (une centaine) ou chloroplastiques (quelques dizaines). Ce sont les gènes nucléaires organisés en chromosomes qui contrôlent la construction de l'organisme et son fonctionnement. En interactions plus ou moins importantes avec le milieu, ils déterminent les caractères phénotypiques, visibles, de l'organisme. On peut aussi dire que l'ensemble de ces gènes, c'est-à-dire le génome, forme un réseau de logiciels qui pilote l'organisme puisque ces différents gènes ne sont pas indépendants entre eux pour leur fonctionnement. On parle ainsi de programme génétique. Au sein d'une même espèce, tous les individus ont les mêmes gènes (les mêmes fonctions) mais ils n'ont pas nécessairement les mêmes informations pour la réalisation de la fonction ; à un locus, ce sont ces variantes de l'information génétique qui forment les allèles.

L'ADN a une structure à deux brins enroulés en hélice (fig. 3.1). Un brin de l'hélice est constitué par la succession de nucléotides avec des bases puriques (adénine A, guanine G) et pyrimidiques (thymine T, cytosine C) ; l'autre brin en est l'image complémentaire, un nucléotide A s'appariant avec un nucléotide T et réciproquement, et un nucléotide G s'appariant avec un nucléotide C et réciproquement.

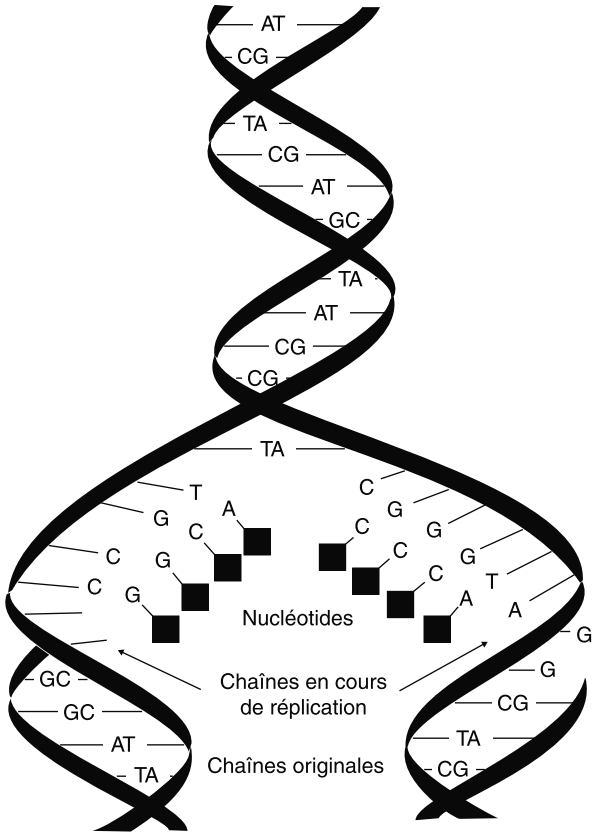


Figure 3.1. La chaîne d'ADN et sa propriété d'autoréplication.

Déroulée sur un plan, la molécule d'ADN ressemble donc à une échelle, dont les bords (1 mètre chez l'homme et chez le maïs) sont les brins de la chaîne et les barreaux les liaisons entre les bases A-T et G-C ; mais en fait cette échelle est en hélice, avec de nombreux repliements. Cette molécule a une propriété remarquable, elle est capable d'autoréplication semi-conservative : les deux brins de l'hélice peuvent se séparer et chacun d'eux, par l'action d'enzymes spécifiques (polymérases) pour reconstituer l'autre brin (fig. 3.1). C'est ainsi que sont copiés les gènes au cours de la mitose et de la méiose, au moment de la formation des gamètes. Une telle propriété est largement utilisée en génomique. La longueur de la séquence nucléotidique d'un gène est mesurée par le nombre de paires de bases qui le constituent : ce nombre peut aller de la centaine à quelques milliers.

L'universalité du code génétique

Un gène donné dirige la synthèse d'une protéine (fig. 3.2). Une protéine est formée par une séquence particulière d'acides aminés, au nombre de 20 dans tout le monde vivant. C'est la séquence des 4 nucléotides A, T, G, C qui détermine la séquence des acides aminés de la protéine selon un code commun à tous les êtres vivants.

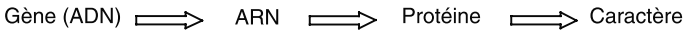


Figure 3.2. Le paradigme de la génétique moléculaire.
Cette représentation a permis l'essor de la biologie moléculaire, puis de la transgénèse, avec de grands progrès dans la compréhension du passage du niveau des gènes au niveau des caractères. Elle ne s'applique sans doute qu'à une minorité de gènes. De nombreux gènes impliqués dans la régulation de fonctions métaboliques importantes sont en fait pris dans un réseau d'interactions complexes. Ainsi, un même gène peut contrôler l'expression de plusieurs gènes et donc la synthèse de plusieurs protéines.

La lecture de l'information du gène, appelée transcription, se fait par une enzyme qui transcrit l'information génétique sous forme d'une chaîne d'acide ribonucléique (ARN) ; la chaîne d'ARN est formée aussi par la séquence de 4 ribonucléotides, correspondant aux bases A, G, C et l'uracyle (U) qui remplace la thymine. Cette transcription conduit aux ARN messagers (ARNm) qui après avoir migré dans le cytoplasme vont être traduits en une séquence d'acides aminés (formant la protéine) par l'intermédiaire d'une machinerie nucléoprotéique, les ribosomes (voir encadré 3.2 et figure 3.6). Mais la correspondance entre un acide aminé et un nucléotide n'est pas directe, sinon, il n'existerait que 4 acides aminés et non 20 : les ribosomes lisent la séquence de l'ARNm en regroupant les nucléotides par triplets ou codons, un même acide aminé pouvant être codé par des triplets différents (le code est dit dégénéré). Il existe donc une « matrice », un code de passage de la séquence des nucléotides à la séquence des acides aminés. Or ce code (tabl. 3.1), basé sur un alphabet à 4 lettres représentées par les 4 bases A, T, G, C, est le même de la bactérie à l'éléphant : *le code génétique est universel*, l'équipement de lecture est aussi le même. Cette découverte a été l'une des plus marquantes de la biologie au xx^{e} siècle. La machinerie cellulaire d'une bactérie est capable de décrypter un gène d'éléphant et réciproquement celle d'un éléphant peut décrypter un gène de bactérie (bien que l'usage des codons d'un règne à l'autre n'est pas forcément le même ; pour coder une sérine, on trouvera préférentiellement UCU dans les gènes

Encadré 3.2. Le passage de l'ADN du gène à la protéine

L'ADN du gène est d'abord traduit en ARN (acide ribonucléique) par une enzyme l'ARN polymérase. Cette enzyme est capable de reconnaître le début de la séquence codante (région promotrice du gène, voir ci-dessous) sur laquelle elle se fixe. Elle sépare alors les deux brins de l'ADN et recopie l'un des deux brins en ARN ; c'est la transcription. Il s'agit d'une copie conforme à la séquence d'ADN par synthèse d'une séquence complémentaire, aux bases A, T, G, C de l'ADN correspond respectivement les bases U, A, C, G au niveau de l'ARN (la thymine n'existant pas au niveau de l'ARN est remplacée par l'uracyle). À ce niveau toute la séquence est transcrite, les introns, comme les exons. Puis les introns qui contiennent des séquences particulières sont reconnus par une machinerie protéique complexe qui permet de les exciser et d'épisser les exons entre eux pour former l'ARN messager (ARNm) qui sera transféré dans le cytoplasme. Chez les bactéries, comme chez tous les Procaryotes, il n'existe pas d'introns, il n'y a pas l'information pour l'épissage des ARNm. Pour faire fonctionner un gène d'Eucaryote chez les Procaryotes, il faut donc éliminer les introns.
Les ARNm vont se fixer sur les ribosomes qui sont des complexes nucléoprotéiques situés dans le cytoplasme. C'est à ce niveau qu'à lieu la traduction de l'ARN en protéines. La lecture de l'ARN se fait par triplet, un triplet correspondant à un acide aminé selon le code du tableau 3.1. Ainsi la succession des bases A, T, G, C de l'ADN détermine la séquence des acides aminés synthétisés et donc la structure primaire de la protéine. La fin de la synthèse est indiquée par un codon « stop ». Les protéines acquièrent ensuite leur structure secondaire et tertiaire par plusieurs repliements qui leur confèrent une structure tridimensionnelle. Elles peuvent alors remplir leur fonction.

d'*Arabidopsis thaliana* et UCA chez l'éléphant). On peut ainsi faire produire une protéine d'une espèce par une autre espèce. À partir des 4 bases, on peut même synthétiser des séquences déterminées d'ADN, c'est-à-dire construire une séquence avec une information particulière, et l'introduire dans un génome, quel qu'il soit, où elle sera lue. La transgénèse ne fait qu'exploiter ces deux possibilités.

Des espèces éloignées ont beaucoup de gènes communs

Aujourd'hui, grâce aux progrès de la génomique, on découvre que les espèces, même éloignées, ont beaucoup de gènes en commun. Ainsi les différents mammifères partagent pour l'essentiel les mêmes gènes. Chez les plantes, les graminées comme le maïs, le riz, le sorgho, la canne à sucre, le blé, diffèrent essentiellement par l'arrangement des gènes, ou plutôt de segments chromosomiques, dans leur génome (Moore *et al*., 1995 ; Gale et Devos, 1998). On parle de synténie pour signifier que d'une espèce à l'autre, des ensembles de gènes liés se retrouvent dans le même ordre (fig. 3.3). Il en est de même pour la pomme de terre, la tomate, le piment, l'aubergine (Grube *et al*., 2000). De plus, des espèces végétales de genres très éloignés comme le riz et *Arabidopsis* ont beaucoup de gènes communs. Ce qui change ou peut changer, c'est leur régulation et aussi la séquence des protéines pour lesquels ils codent (allèles). Le génome de la levure avec environ 5 500 gènes présente lui-même environ 30 % de ses gènes en commun avec le génome humain (environ 30 000 gènes).

Tableau 3.1. Le code génétique. Correspondance entre les codons (triplets) et les 20 acides aminés.

	2e lettre				
(1)	U	C	A	G	(3)
U	UUU Phénylalanine	UCU Sérine	UAU Tyrosine	UGU Cystéine	U
	UUC "	UCC "	UAC "	UGC "	C
	UUA Leucine	UCA "	UAA Stop	UGA Stop	A
	UUG "	UCG "	AAG "	UGG Tryptophane	G
C	CUU Leucine	CCU Prolamine	CAU Histidine	CGU Arginine	U
	CUC "	CCC "	CAC "	CGC "	C
	CUA "	CCA "	CAA Glutamine	CGA "	A
	CUG "	CCG "	CAG "	CGG "	G
A	AUU Isoleucine	ACU Thréonine	AAU Asparagine	AGU Sérine	U
	AUC "	ACC "	AAC "	AGC "	C
	AUA "	ACA "	AAA Lysine	AGA Arginine	A
	AUG Méthionine	ACG "	AAG "	AGG "	G
G	GUU Valine	GCU Alanine	GAU Aspartate	GGU Glycine	U
	GUC "	GCC "	GAC "	GGU "	C
	GUA "	GCA "	GAA Glutamate	GGA "	A
	GUG "	GCG "	GAG "	GGG "	G

(1) : 1re lettre du codon, (3) : 3e lettre du codon. Le code génétique est un code dégénéré : un acide aminé peut être codé par plusieurs codons. On remarque souvent plusieurs codons pour un seul acide aminé. Seuls le tryptophane et la méthionine correspondent à un codon unique.

Du point de vue génétique, les frontières entre espèces ne sont donc pas si strictes qu'on pouvait le croire il y a encore peu de temps. L'unicité de code génétique « de la bactérie à l'éléphant » et le grand nombre de gènes communs à différentes espèces vivantes, même très éloignées, relativise la notion de transgression des barrières spécifiques, souvent implicite avec la notion de transgénèse. De nombreuses fonctions à la base de la vie sont régulées par les mêmes gènes quelles que soient les espèces (le cycle de Krebs, lié à la respiration, est pratiquement commun à toutes les espèces vivantes). Ainsi, un gène n'est pas spécifique à une espèce : transférer un gène de bactérie chez une plante ne fait pas pour autant évoluer la plante vers une bactérie. Quant aux espèces, elles ne sont pas à considérer comme définitivement fixées ; sur une échelle de temps très longue, elles sont à voir comme des arrangements momentanés de gènes échangés par des populations. Ce sont donc les échanges de gènes entre individus d'une même espèce ou d'espèces différentes, voire très éloignées, qui sont à l'origine des espèces que nous connaissons aujourd'hui. Cela explique la continuité observée dans la variation intraspécifique et interspécifique.

Des gènes fragmentés et de l'ADN non codant

(voir encadré 3.3)

Il est important de souligner que chez les eucaryotes, les gènes sont noyés dans de multiples séquences d'ADN, souvent répétées ; plus même, ils sont morcelés (on parle d'*introns* pour ces séquences non codantes à l'intérieur d'un gène, fig. 3.4).

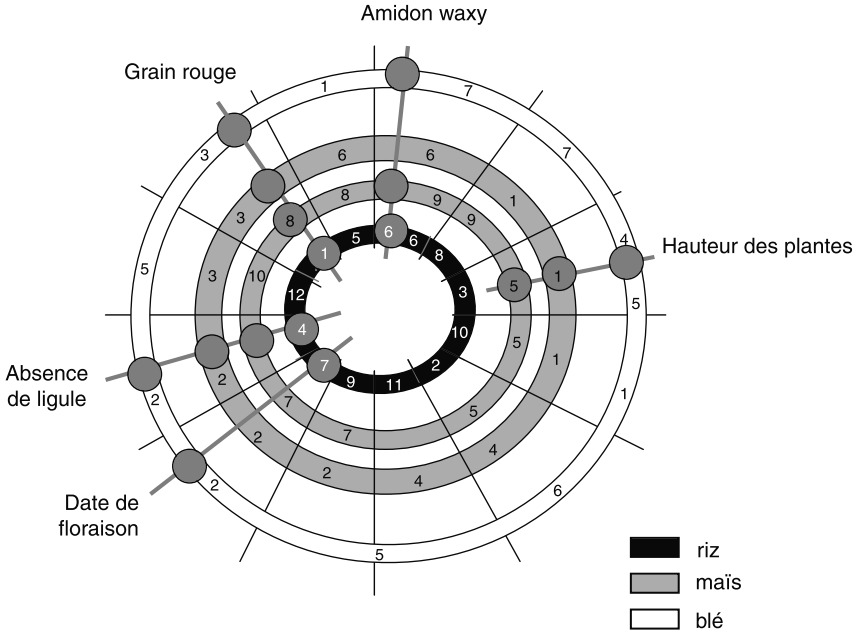


Figure 3.3. Représentation de la synténie chez les graminées (d'après Moore *et al*., 1995).
Au centre du cercle sont les 12 chromosomes de riz. L e2e et le 3e cercles concentriques représentent les 10 chromosomes du maïs dont les segments correspondent aux chromosomes du riz. Le cercle le plus extérieur correspond aux 7 chromosomes d'un génome de blé. Les emplacements de certains gènes connus sont indiqués (pour la date de floraison, l'absence de ligule, la couleur du grain, l'amidon *waxy* et la hauteur des plantes) : ils se correspondent d'un génome à l'autre.

Certaines de ces séquences, variables d'un individu à l'autre, ont l'information pour s'insérer et s'exciser du génome ; elles semblent se répliquer pour elles-mêmes et de ce fait sont qualifiées d'ADN « égoïste ». Elles correspondent à des transposons ou à des rétrovirus (virus dégénérés). D'autres types de séquences répétées sont le résultat d'erreurs de réplication de l'ADN. Le génome apparaît ainsi avec une structure fluide qui change en permanence. Malgré cela le gène garde sa place et sa fonction : c'est une sorte d'invariant au milieu d'un océan agité bien qu'il puisse lui aussi varier suite à des phénomènes de transposition et de mutation (Bradford *et al*., 2005). Les lois de Mendel existent toujours… C'est cette stabilité du gène qui est exploitée en sélection et en transgénèse.

Taille des génomes

La taille des génomes est très variable, elle se mesure en nombre de bases A, T, G et C à la base de l'information génétique. Quelques exemples :
– le génome d'*Arabidopsis*, avec 130 millions de paires de bases est le plus petit des génomes végétaux, ce qui explique qu'il est été séquencé le premier ;
– le génome du riz avec 430 millions de paires de bases est le génome le plus petit parmi les plantes cultivées, ce qui explique son séquençage, après celui d'*Arabidopsis* ;
– le génome de la tomate avec 1 milliard de paires de bases ;
– le génome du maïs avec 2,5 milliards de paires de bases, pratiquement comme l'homme (2,9 milliards de paires de base) !

– le génome du blé cultivé avec 16 milliards de paires de bases ;
– le génome de la tulipe avec 30 milliards de paires de bases.

Cette grande taille du génome et sa variation, avec un facteur 100 entre *Arabidopsis* et le blé cultivé vient de nombreuses duplications des gènes, voire du génome

Encadré 3.3. L'ADN répété chez les plantes

Le génome est constitué de gènes à copie unique et d'ADN répété, faiblement ou fortement. Selon les espèces végétales l'ADN répété représente de 10 à 90 % du génome : 10-15 % chez *Arabidopsis*, 50 % chez le riz, 80 % chez le maïs, 90 % chez le blé. Il correspond à différents types d'ADN : les séquences répétées fonctionnelles avec des familles de gènes dispersés, les répétitions de familles géniques et des séquences fonctionnelles non codantes.
Différentes protéines peuvent être codées par des gènes dispersés en un nombre de copies variable dans tout le génome : les protéines de réserve des graines (quelques copies pour les β, δ, γ-zéines et environ 100 copies pour les α-zéines chez le maïs), les protéines à boite F par exemple (au moins 568 familles avec environ 50 copies chez *Arabidopsis,* impliquées dans la dégradation ciblée des protéines), les protéines à motif PPR (pentatricopeptide repeat, environ 200 familles chez *Arabidopsis* avec 35 copies, qui réguleraient l'expression de gènes chloroplastiques ou mitochondriaux)… Certaines copies ont pu diverger au cours du temps et remplir des fonctions légèrement différentes du gène ancêtre. D'autres sont devenues non fonctionnelles, donnant naissance à des pseudogènes, non transcrits. Ces répétitions peuvent favoriser l'intensité d'expression (cas des zéines). Les ARNr et les ARNt sont aussi codés par des gènes répétés (1 000 fois environ pour l'ARNr 5S). Dans le cas de certains gènes de résistance aux maladies (du type Leucin Rich Repeat), les répétitions en tandem (jusqu'à 600 chez le riz), résultats de crossing-overs inégaux, apporteraient une variabilité nouvelle permettant une réponse de la plante à l'évolution des pathogènes. Enfin, des séquences d'ADN ne codent pour aucun ARN ou protéine, mais ont une fonction bien définie. Ainsi, les répétitions télomériques (aux extrémités des chromosomes) jouent un rôle dans la réplication de l'ADN.
Les séquences sans fonction connues sont nettement les plus importantes en quantité. Les VNTR *(Variable Number Tandem Repeats)* comprennent l'ADN minisatellite et microsatellite. Les minisatellites correspondent à des répétitions en tandem de longueur variable, d'une unité de 10 à 100 nucléotides (c'est la variabilité du nombre de ces répétitions d'un être humain à l'autre qui était à la base des empreintes génétiques ; maintenant on utilise plutôt des microsatellites). L'ADN microsatellite correspond à des répétitions d'unités de plus petites tailles, de 2 à 5 nucléotides ; la variabilité du nombre de répétitions (due au « glissement » de la polymérase le long de ces motifs pendant la réplication) et leur dispersion dans tout le génome en font des marqueurs moléculaires très utilisés pour la détection des locus impliqués dans la variation des caractères quantitatifs (QTL). Enfin, il y a les séquences transposées. Une grande proportion du génome des organismes supérieurs est constituée de rétrotransposons et de transposons, séquences d'ADN capables de se dupliquer et de se « déplacer » dans le génome. Ces séquences représentent environ 80 % de l'ADN génomique chez le maïs. Une autre catégorie de séquences transposées semble venir d'ADN de virus. Tout cet ADN mobile, sans fonction connue, pourrait jouer le rôle de ballast génétique pour permettre le déroulement correct des mitoses ou des méioses. Il peut aussi s'agir d'ADN « égoïste », qui n'existerait que pour lui-même et qui échappe à la sélection naturelle, puisque n'ayant aucun effet.

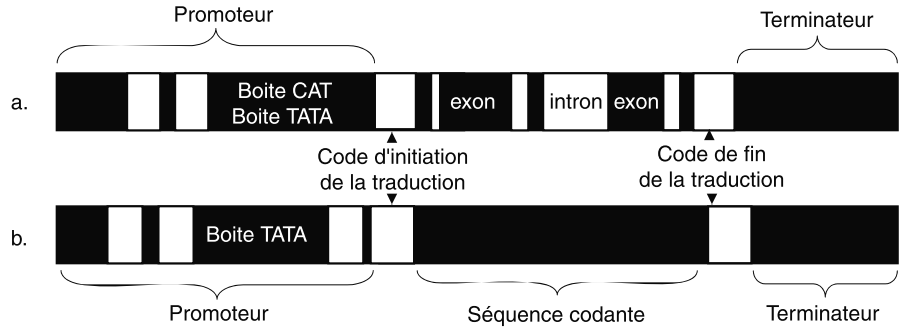


Figure 3.4. Structure comparée d'un gène (a) chez les Eucaryotes et (b) chez les Procaryotes. La grande différence est la présence d'introns (séquences non codantes) au milieu de la séquence codante chez les Eucaryotes.

de base au cours de l'évolution des espèces. Ainsi le génome du blé est formé de trois génomes juxtaposés (c'est un allohexaploïde). On sait maintenant que le maïs est formé de deux génomes homologues, mais qui se sont segmentés et recombinés au cours de l'évolution : le génome du riz peut d'ailleurs être considéré comme l'ancêtre des génomes des céréales, du maïs, du sorgho, de la canne à sucre, comme le montre la synténie de ces génomes (voir fig. 3.3). Mais, même chez le riz, il y a eu des phénomènes de duplication, comme le montre l'hérédité souvent bigénique de caractères qualitatifs. Enfin, l'ADN non codant peut représenter jusqu'à 90 % de l'ADN (encadré 3.3).

La taille d'un transgène (quelques milliers de paires de base) est donc très faible par rapport à la taille du génome dans lequel il sera inséré. Si cette remarque n'apporte aucune information sur les effets possibles de l'introgression sur le fonctionnement du génome, elle montre au minimum que la transgénèse ne peut pas changer l'équilibre des bases A, T, G, C au niveau du génome.

La régulation du fonctionnement des gènes

Les gènes sont présents dans toute cellule, mais ils ne s'expriment pas dans tous les organes, ni en permanence. Pour s'exprimer au bon moment, dans le bon tissu ou organe, la séquence codante d'un gène est sous le contrôle d'un *promoteur* (séquence liée à la séquence codante) qui peut lui-même être sous le contrôle d'autres gènes (fig. 3.4). Ainsi, depuis les travaux pionniers de Jacob et Monod (1959) dans ce domaine on parle de *gènes de structure* pour les gènes qui dirigent la synthèse des protéines déterminant les caractères, et de *gènes régulateurs* pour ceux qui agissent sur le taux de transcription des gènes structuraux. Mais, la réalité est bien plus complexe : les gènes fonctionnent en réseau, des gènes de structure peuvent eux-mêmes être des régulateurs d'autres gènes. Un même gène (facteur de transcription) peut contrôler l'expression de plusieurs autres gènes, donc la synthèse de plusieurs protéines. Au cours du développement, selon les conditions épigénétiques, un même gène peut aussi contrôler la synthèse de plusieurs protéines. Une même protéine, selon les conditions de son environnement, peut avoir des conformations tridimensionnelles différentes et avoir des fonctions différentes. Cela illustre la complexité de la régulation du vivant (Fox-Keller, 2000).

Dans le contrôle du développement, les gènes sont en interaction les uns avec les autres et aussi avec le milieu. Il ne suffit donc pas de connaître les gènes d'un individu pour savoir comment il fonctionne. Après la génomique structurale, le challenge de la génomique fonctionnelle est bien de savoir comment on passe du niveau des gènes au niveau des caractères d'un individu.

Cette complexité ne signifie pas que tous les gènes sont impliqués dans le contrôle de réseaux métaboliques complexes. Ainsi, les gènes dits majeurs, dont les effets sont nettement visibles au niveau du phénotype, sans aucune ambiguïté possible et souvent quel que soit le milieu où le fond génétique dans lequel ils se trouvent, ont sans doute une expression plus directe. S'ils sont pris dans un réseau, ils ont des effets plus déterminants que les autres gènes de ce réseau. Ils sont à la base des caractères qualitatifs. À l'opposé, les gènes qui apparaissent à effets plus faibles, souvent dépendants du milieu, sont sans doute pris dans un réseau d'interactions complexes. Ils sont en grand nombre et à la base de la variation continue des caractères quantitatifs. Il est alors clair que les gènes moins régulés seront plus faciles à manipuler par transgénèse, car leurs effets, assez indépendants des autres gènes présents, voire du milieu, seront plus faciles à prévoir.

La transgénèse

Retour sur la définition

La transgénèse est définie de façon assez large comme l'intégration d'un (ou plusieurs) gène(s) dans le génome d'une plante par des procédés artificiels, c'est-à-dire en dehors de la voie sexuée. La nouveauté avec la transgénèse, par rapport aux outils jusque-là à la disposition du généticien et du sélectionneur (voir chapitre précédent), est que l'on va agir de façon dirigée sur le logiciel génétique qui pilote le fonctionnement d'un organisme. Ainsi on peut faire s'exprimer chez les plantes des gènes bactériens ou animaux. C'est le cas dans la plupart des exemples de transgénèse actuellement en cours (résistance aux herbicides, résistance aux insectes). Cependant, des gènes tout d'abord identifiés chez des bactéries peuvent aussi exister chez des plantes ; nous verrons que c'est le cas de la résistance à un herbicide, le glyphosate, d'abord trouvée chez une bactérie puis chez les plantes et par culture *in vitro* chez le maïs (voir chap. 4). Les gènes peuvent aussi provenir de l'espèce améliorée ou des espèces voisines. Dans ce cas, la transgénèse ne fait pas autre chose que ce qui est fait par les méthodes classiques de sélection. Avec les études de génomique conduisant à identifier les allèles favorables à un locus dans une espèce donnée, ce type de transgénèse deviendra de plus en plus fréquent. En général*, les gènes transférés sont des constructions* génétiques élaborées pour remplir des fonctions bien précises et s'exprimer à un moment donné dans un organe donné.

Avec l'universalité du code génétique et le grand nombre de gènes communs partagés par des espèces même très éloignées, on peut se demander où est la transgression à l'origine du terme transgénèse. En effet, cet échange de gènes s'est déroulé naturellement au cours de l'évolution et l'homme lui-même y a fait appel pour améliorer les espèces. Ainsi de nombreuses espèces végétales résultent de croisements interspécifiques (le colza, le blé…, le triticale, une espèce créée par

l'homme très récemment). Le pain que nous mangeons à de forte chance d'être issu de variétés de blé ayant récupéré un fragment chromosomique d'une espèce sauvage, par suite de manipulations des génomes et des chromosomes (voir chap. 2). De nombreuses variétés hybrides font aussi intervenir des systèmes de castration génétique (stérilités mâles) obtenus par croisements interspécifiques.

Sur le plan de la terminologie, voire sur le plan juridique, il serait logique et justifié de distinguer la transgénèse interspécifique entre espèces éloignées, voire entre règnes différents, de la transgénèse intraspécifique ou entre espèces voisines, avec la difficulté de savoir où mettre la barrière. En effet, la transgénèse intraspécifique ne fait qu'accélérer ce qui pourrait être fait par la voie sexuée. Donc si l'on peut admettre des effets inattendus dans le fonctionnement d'un transgène avec la transgénèse interspécifique, les « surprises » doivent être beaucoup plus limitées avec la transgénèse intraspécifique ou quasi-intraspécifique. Elles seront totalement nulles lorsque la recombinaison homologue sera maîtrisée et que l'on remplacera un gène (en fait un allèle) par un autre.

Sur le plan juridique, au niveau de l'UE, un organisme génétiquement modifié (OGM) a une définition sensiblement différente de celle donnée précédemment. En effet, un OGM est défini comme un organisme résultant de *l'intervention de modes de multiplication ou de recombinaison différents des modes naturels et ayant modifié son génome*. Dans les textes (Directives 90/219/EEC et 90/220/EEC et leurs mises à jour, en particulier Directive 2001/18/EC), cette définition se prolonge par une liste de techniques dont l'utilisation n'entraîne pas le statut d'OGM : la mutagénèse, le doublement du nombre chromosomique, la fusion de protoplastes entre cellules de la même famille et la multiplication *in vitro* à partir de n'importe quelle cellule. Les lignées mâles stériles du colza obtenues par fusion de protoplastes à partir de la stérilité mâle du radis ne sont pas considérées comme des plantes transgéniques. De même les lignées de blé résistantes au piétin verse, obtenues par le transfert par voie sexuée d'un fragment de chromosome d'*Aegilops*, ne sont pas considérées comme génétiquement modifiées. Mais une variété de pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum*) ayant reçu un gène de résistance au mildiou de son ancêtre (*Solanum bulbocastanum*) par les voies de la transgénèse (Song *et al.*, 2003) est considérée comme génétiquement modifiée ! Un manque de cohérence peut donc être noté. Dans le droit français et européen, la définition de la transgénèse relève de la méthode et non du gène transféré ; donc de ce point de vue, la transgénèse intraspécifique et la transgénèse interspécifique sont considérées comme identiques, ce qui est regrettable (voir chap. 6).

Pourquoi la transgénèse ?

Dans le cas de transgénèse interspécifique, il s'agit d'apporter des propriétés nouvelles à l'organisme qui ne se trouvent pas dans l'espèce et ceci pour des applications variées pour, par exemple, développer des plantes résistantes aux maladies, aux insectes, ou de meilleures qualités nutritionnelles, ou adaptées à des conditions de milieu particulières (froid, sécheresse), ou encore produisant des substances pharmaceutiques (voir chap. 4). De ce point de vue-là, la transgénèse peut être vue comme une sorte de mutagénèse, mais une mutagénèse dirigée. Dans le cas de transgénèse intraspécifique, ou entre espèces assez proches, il s'agit aussi de gagner

du temps et d'être plus efficace dans la transmission du gène : on ne veut transmettre que le gène.

À noter un cas particulier de transgénèse en développement en médecine humaine : *la thérapie génique*, qui correspond à une transgénèse au niveau des cellules d'un organe. À la différence de la transgénèse, le gène n'est pas incorporé dans les cellules germinales, il n'est pas transmis à la descendance. Ce n'est donc pas un OGM au sens classique. Cette méthode est envisagée pour guérir les maladies dites « génétiques », déterminées par le défaut de fonctionnement d'un gène qui entraîne l'absence de synthèse de la protéine nécessaire. Plutôt que d'apporter la protéine par des voies externes sous forme de médicament, le but est de corriger le défaut de fonctionnement d'une cellule dans un tissu donné en agissant sur son logiciel génétique pour lui faire produire la protéine nécessaire (en y injectant un gène humain non déficient). L'intérêt d'une telle stratégie lorsqu'elle sera bien maîtrisée est évident. Mais, il ne faut pas oublier que dans ce cas, l'individu guéri pourra toujours transmettre le gène déficient qu'il porte à sa descendance.

Construction du transgène

Un transgène est souvent chimérique, car il doit contenir les éléments suivants (fig. 3.5) :

• *un promoteur* c'est-à-dire une séquence qui permet de contrôler la transcription du gène dans le temps et l'espace, *i.e.* dans un organe ou un tissu donné. Il peut comprendre une ou plusieurs *séquences régulatrices* qui modulent la traduction du messager du gène d'intérêt (par exemple pour augmenter la quantité de protéine produite). Il peut être *constitutif* avec une expression permanente dans tous les organes, ou *inductible* sous l'action d'un signal interne à la plante déclenché par un facteur extérieur, par exemple une piqûre d'insecte. Les promoteurs eucaryotes sont en général différents des promoteurs procaryotes. Le promoteur le plus utilisé est le promoteur de l'ARN 35S, du virus de la mosaïque du chou-fleur, qui est un promoteur constitutif et entraînant un fort niveau d'expression du gène (promoteur dit fort). Comme autres promoteurs constitutifs utilisés on peut citer le promoteur du gène d'actine du riz, surtout utilisé pour la transformation du riz, et le promoteur du gène de l'ubiquitine de maïs pour la transformation des céréales (l'actine joue un rôle important au niveau de la formation du cytosquelette, et l'ubiquitine intervient dans la dégradation des protéines). Le promoteur de la phospho-énol-pyruvate-carboxylase foliaire (PEPC, enzyme de la photosynthèse des plantes en C4, comme le maïs) est utilisé pour une expression restreinte aux feuilles. D'autres promoteurs spécifiques d'un organe ou d'un tissu sont connus et utilisés, comme par exemple des promoteurs spécifiques des anthères ou du tubercule chez la pomme de terre… Ces types de promoteurs font l'objet de recherches importantes pour l'avenir de la transgénèse. Ainsi, avec un contrôle précis du lieu d'expression d'un transgène, la présence d'un transgène ne s'exprimant qu'au niveau des feuilles ne présentera aucun risque pour le consommateur de grain puisque la protéine sera absente de cet organe ;

• *la séquence codante du gène d'intérêt* duquel on élimine souvent les introns (séquences non codantes) s'il s'agit d'un gène d'eucaryotes ;

• *une séquence de fin de lecture*, ou terminateur, qui peut être issue de séquences de gènes d'*Arabidopsis*, de tabac ou même d'*Agrobacterium*.

On appellera transgène la construction qui sera finalement intégrée dans le génome de la plante, et qui comprend donc l'ensemble promoteur + séquence codante d'intérêt + terminateur (fig. 3.5).

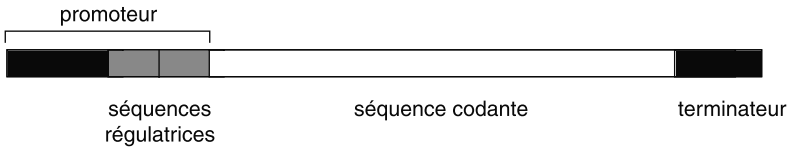


Figure 3.5. Schéma d'un gène ou transgène. Pour un transgène, les différentes parties peuvent venir d'organismes différents.

Les outils et méthodes à la disposition du généticien

Les principaux outils de manipulation de l'ADN

Après avoir extrait l'ADN ou les ARNm, le généticien a à sa disposition différents outils pour manipuler l'ADN et les gènes d'intérêt.

L'ADNc (ADN complémentaire). L'ADNc est obtenu à partir des ARNm par action d'une enzyme, la transcriptase réverse, qui permet de passer de l'ARN à l'ADN. Il correspond donc aux gènes qui s'expriment à un moment donné dans un tissu donné. C'est pourquoi il n'a pas d'introns et est dépourvu des séquences régulatrices en amont et en aval.

Les « ciseaux » et la « colle » pour l'ADN. Les techniques du génie génétique font essentiellement appel à deux types d'outils, les « ciseaux » et la « colle » pour l'ADN. Les ciseaux sont représentés par les enzymes de restriction, d'origine bactérienne (majoritairement mais pas uniquement), qui sont capables de couper de façon spécifique un fragment d'ADN au niveau de certaines séquences de nucléotides qu'elles reconnaissent. D'autres enzymes, les ligases, sont capables de « coller » bout à bout deux fragments d'ADN.

Les plasmides et le clonage du génome. Il existe chez les bactéries, en plus du seul chromosome qui forme leur génome principal, de petits génomes circulaires, appelés plasmides, doués de réplication autonome contrôlée par une séquence appelée origine de réplication. Ils se multiplient indépendamment des bactéries et sont présents en un nombre de copies plus ou moins élevé. Par coupure de la chaîne d'ADN qui les compose avec des enzymes de restriction, on peut y insérer un fragment d'ADN : il sera multiplié avec la bactérie qui le contient. Comme en général il ne s'introduit qu'un plasmide par bactérie, à partir de cultures monocellulaires, on va ainsi multiplier chaque fragment. On parle alors de *clone* du fragment.

Les banques d'ADN. Une banque d'ADN est l'ensemble des clones qui, réunis, contiennent la totalité du génome d'une espèce (banque d'ADN génomique) ou tout ou partie de copies des transcrits du génome (banque d'ADNc faite à partir de différents organes ou conditions). Les banques génomiques ont l'avantage et l'inconvénient de couvrir tout le génome ; elles ont les gènes dans leur forme native, avec leurs introns et leurs séquences régulatrices, ce qui peut être très utile.

Action sur l'expression d'un gène

Le blocage des fonctions par ARN antisens : une séquence codante introduite en sens inverse d'une autre séquence déjà présente dans le génome donnera un ARN antisens (en sens inverse de l'ARN normal dit « sens ») qui en s'hybridant avec l'ARN sens empêchera sa lecture par le ribosome et donc la synthèse de la protéine (Bourque, 1995). On connaît maintenant d'autres façons « d'éteindre » l'expression d'un gène avec des mécanismes plus ou moins bien compris. Par exemple la méthode du RNAi (RNA interference) correspond à l'inactivation post-traductionnelle d'un gène par introduction d'un ARN double-brin homologue à la séquence codante du gène ; cela conduit à la dégradation des ARNm.

La surexpression. La transcription du gène est stimulée (production plus grande d'ARN) en agissant au niveau de certaines séquences régulatrices du promoteur dont certaines permettent la surexpression. On utilise pour cela des promoteurs dits « forts », comme le promoteur 35S. De la surproduction d'ARN il résulte en général une surproduction de protéines. La surexpression est l'une des méthodes les plus utilisées en transgénèse pour augmenter certaines fonctions de gènes. Elle permet en particulier de surexprimer un gène de l'espèce ; ainsi, lorsque la recombinaison homologue sera maîtrisée, il sera possible par cette méthode de remplacer un gène donné par un gène plus efficace. Aujourd'hui, le gène avec son surexpresseur s'insère de façon non contrôlée dans le génome.

Les méthodes d'isolement d'un gène

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour isoler un gène. Nous ne donnerons que trois exemples.

Si la protéine codée par le gène est connue : à partir des ARNm exprimés à un moment donné dans un organe donné on produit les ADNc (par une enzyme, la transcriptase réverse) ; ces ADNc sont insérés dans des plasmides bactériens. Pour repérer les clones avec le gène, on utilise des sondes d'ADN marquées (radioactives ou fluorescentes), synthétisées d'après la séquence des acides aminés de la protéine produite par le gène (l'ADN est transféré sur des membranes, dénaturé, et mis en présence de la sonde radioactive simple brin qui s'hybridera uniquement avec les fragments porteurs du gène recherché). Si la radioactivité ou la coloration est détectée, on identifie ainsi les clones qui possèdent le gène d'intérêt, qui sera ensuite extrait par « ouverture » enzymatique des plasmides.

Si l'on peut faire des hypothèses sur le gène recherché, après avoir cloné les ADNc, comme précédemment, pour identifier ceux qui le portent, il est possible d'avoir recours à une sonde formée par la séquence d'un gène connu assurant une fonction « homologue » à celle du gène recherché chez une autre espèce. Les chances de succès dépendent de la conservation des séquences d'ADN au cours de l'évolution. Même si l'identité n'est pas stricte, l'hybridation entre la sonde et le gène est possible.

La mutagénèse insertionnelle est aussi très utilisée. Par insertion d'un transposon ou d'ADN-T à l'intérieur d'un gène, le gène est inactivé et il en résulte une mutation. À partir des mutants phénotypiques, une banque d'ADN est constituée, les régions génomiques flanquantes de l'insertion sont séquencées et ainsi le gène disrupté peut être reconstitué « *in silico* ». L'identification des clones porteurs de la

mutation insertionnelle se fait par utilisation du fragment inséré comme sonde, et à partir de là, le gène intact est récupéré. L'étude de l'effet phénotypique de la mutation, au niveau de différents caractères, permettra de préciser la fonction du gène. Dans ce double but, isoler des gènes et étudier leur fonction, des collections de transformants aléatoires — 60 000 lignées transformées d'*Arabidopsis* à l'Inra de Versailles et 50 000 lignées transformées de riz au Cirad de Montpellier — ont été obtenues par mutagénèse insertionnelle à partir d'ADNt. Ces collections sont d'une grande valeur pour aller à la recherche de gènes, car tous les gènes portent potentiellement une mutation.

La multiplication du transgène

Dans ce but, le gène est inséré dans un plasmide, lui-même introduit dans une bactérie (*Escherichia coli*) ; ce plasmide va se reproduire identique à lui même, en même temps que la bactérie ; mais pour être sûr que le plasmide et donc le gène, ne sera pas perdu au cours de la multiplication, on adjoint au gène un marqueur de sélection, dit *marqueur de clonage*. Il s'agit souvent d'un gène conférant la résistance à un antibiotique (d'intérêt thérapeutique réduit du fait d'un très fort pourcentage de micro-organismes résistants déjà présents dans l'environnement, tels que la néomycine, la kanamycine, l'ampicilline) placé sous le contrôle d'un promoteur bactérien (donc ne s'exprimant pas dans les plantes). Ainsi en présence de l'antibiotique, seules se multiplieront les bactéries porteuses du gène de résistance. Les copies en très grand nombre du gène pourront alors être extraites des plasmides par coupure enzymatique ; elles seront incorporées au vecteur utilisé.

La construction réalisée comprend donc, au stade final, le gène d'intérêt, le marqueur de clonage et le marqueur de sélection.

⏩ Les méthodes de transformation (fig. 3.6)

Pour obtenir une plante transformée ayant intégré un gène dans son génome et le transmettant à ses descendants, l'un des moyens est de transformer une cellule isolée, débarrassée de ses parois cellulosiques, appelée « protoplaste ». Les cellules végétales étant totipotentes, c'est-à-dire capables de régénérer un individu (sous certaines conditions qui ne sont pas toujours bien maîtrisées selon les espèces et les génotypes de l'espèce), il sera alors possible à partir d'une cellule transformée de régénérer une plante dont toutes les cellules contiendront le gène incorporé. Si la transformation se fait à partir d'un fragment d'organe ou d'un cal (cellules indifférenciées obtenues par culture *in vitro*), certaines cellules seront transformées, d'autres non, et la plante régénérée sera chimérique car elle sera constituée d'un mélange des deux types de cellules ; un gamète, produit par la plante, portera, intégré dans les chromosomes, ou ne portera pas le transgène. Il suffit alors dans une descendance en autofécondation de l'individu régénéré de repérer les individus porteurs du transgène, celui-ci étant présent dans toutes leurs cellules. La transformation à partir d'une seule cellule serait donc plus rapide mais la régénération à partir des protoplastes peut poser des problèmes. En pratique on préfère travailler à partir de tissus.

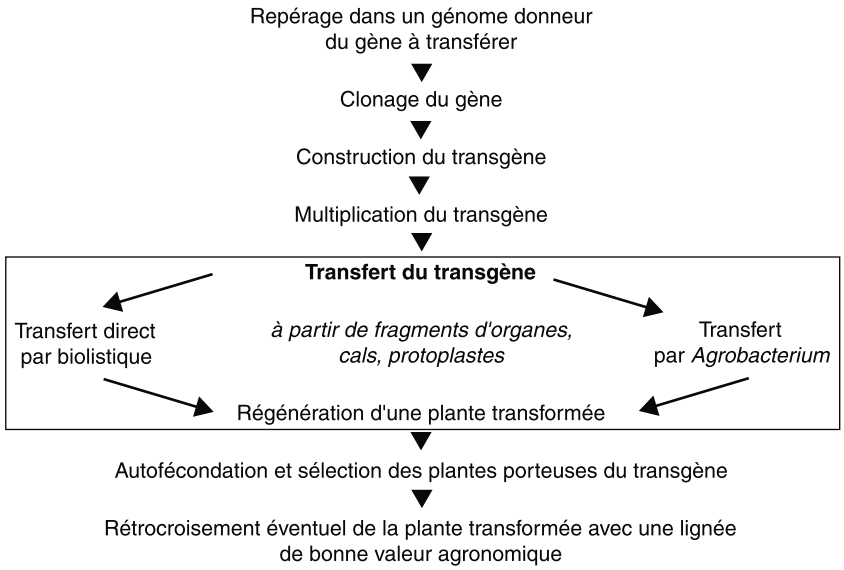


Figure 3.6. Les grandes étapes de la transgénèse.

Pour sélectionner les cellules transformées, il faut un marqueur de sélection qui est introduit en même temps que le transgène (lié au transgène dans les premières expériences de transformation, mais séparé de celui-ci dans les méthodes actuelles de transformation). Le marqueur le plus classiquement utilisé est la résistance à un antibiotique (néomycine, kanamycine, hygromycine) ou à un herbicide (glufosinate par exemple). Après action de ces substances lors de la culture *in vitro*, seules les cellules transformées se multiplient. On ne régénère donc que des plantes transformées.

La transformation par *Agrobacterium tumefaciens*

Il s'agit d'un processus naturel réalisé par une bactérie (*Agrobacterium tumefaciens)* qui entraîne la galle du collet (van Larebeke *et al.*, 1974 ; Chilton *et al*., 1977). Cette bactérie a la propriété remarquable de transférer une partie de son ADN dit ADN-T dans le génome de cellules végétales pour les asservir à ses besoins en leur faisant produire des opines, substrat aminocarboné que seule la bactérie peut cataboliser. Ce transfert, qui se fait par un plasmide de 200 kb environ, demande des fonctions de virulence et de reconnaissance de certaines séquences d'ADN. La séquence transférée est limitée et définie par deux séquences (de 25 paires de bases), appelées bordure gauche (BG) et bordure droite (BD), reconnues par les protéines de virulence (*Vir*). Au niveau de la bactérie, par action d'une de ces protéines, l'un des brins de la séquence à transférer est coupé à partir de la bordure de droite ; un nouveau brin d'ADN est ainsi synthétisé jusqu'à la bordure de gauche et coupé à ce niveau. Protégé et entraîné par des protéines *Vir*, ce brin est conduit jusque dans le noyau des cellules infectées. Une protéine *Vir* accrochée à l'une des extrémités de l'ADN-T provoque la cassure de l'ADN hôte quand une zone de quelques bases homologues de l'extrémité de l'ADN-T est reconnue. Il y a alors déplacement des

brins d'ADN et insertion de l'ADN-T, avec l'aide d'enzymes de réparation de l'ADN de la cellule hôte.

N'importe quelle séquence d'ADN peut être placée entre les bordures droite et gauche, elle sera intégrée dans le génome de la plante, comme l'aurait été la séquence d'ADN-T. Pour le transfert, on utilise des plasmides désarmés, ayant perdu leur pouvoir pathogène par suppression des gènes responsables de la formation de la tumeur, mais avec les fonctions de virulence, essentielles pour l'introduction dans la cellule et le transfert de la séquence d'ADN jusqu'au noyau.

Les séquences avec le transgène, le marqueur de sélection et éventuellement d'autres séquences spécifiques à la méthode de transfert utilisée, sont d'abord préparées dans le plasmide de la bactérie *Escherichia coli* facile à manipuler au laboratoire. Deux méthodes de transfert ont été utilisées. La première méthode utilisée consistait à élaborer chez *Agrobacterium* un plasmide réunissant tous les éléments nécessaires (Casse-Delbart, 1996). La construction (transgène + marqueurs de sélection) est clonée dans un petit plasmide chez *Escherichia coli ;* ce plasmide est introduit par conjugaison ou électroporation chez *Agrobacterium* où il ne peut se maintenir sur milieu sélectif que s'il est intégré au plasmide désarmé d'*Agrobacterium*. C'est pourquoi pour cette méthode, on parle de vecteur co-intégré. Pour faciliter cette intégration il faut une séquence homologue à une partie de la région T. Diverses constructions sont possibles avec un vecteur co-intégré (voir Casse-Delbard, 1996). Nous n'en présentons qu'une sur la figure 3.7. Elle correspond au cas où le gène d'intérêt lié au marqueur de sélection est cloné dans un petit plasmide entre les deux bordures gauche et droite, le marqueur de clonage et la séquence homologue étant en dehors de ces bordures. Il n'y a alors insertion que du gène d'intérêt et du marqueur de sélection.

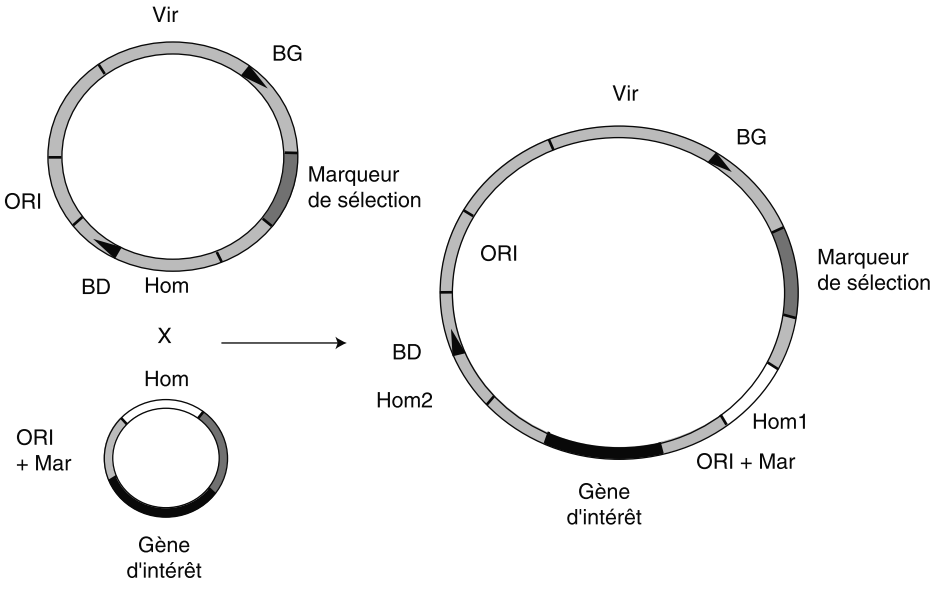


Figure 3.7. Transfert par *Agrobacterium*. Exemple de construction de plasmides avec un vecteur co-intégré.

Aujourd'hui, avec la découverte que les gènes de virulence peuvent jouer leur rôle en position *trans* (non liée aux autres éléments), la méthode la plus utilisée est celle du *système binaire* (fig. 3.8). On place chez *Agrobacterium* deux plasmides qui restent indépendants et seront injectés tous les deux dans la cellule : un plasmide dit « assistant » qui porte les gènes de virulence et l'origine de réplication du plasmide Ti et un plasmide de petite taille ($5\ 10^3$ paires de base) préparé dans *Escherichia coli* portant la construction gène d'intérêt + marqueur de sélection entre les bordures droite et gauche, avec une origine de réplication fonctionnelle dans *Agrobacterium* (compatible avec le plasmide Ti) et le marqueur de clonage en dehors des bordures. Ce plasmide dit « binaire », par référence à la méthode utilisée, est donc capable de se répliquer à la fois dans *Escherichia coli* et dans *Agrobacterium*. Le plasmide assistant est destiné à promouvoir le transfert du plasmide portant le transgène (de la reconnaissance de la cellule jusqu'à l'intégration du transgène dans le génome). Par cette méthode, comme avec la précédente, seuls le transgène et le marqueur de sélection sont intégrés, mais de façon plus simple. Il est aussi possible de construire un plasmide binaire avec deux régions d'ADN-T, une région pour le gène d'intérêt et une région pour le marqueur de sélection, le marqueur de clonage étant en dehors de ces régions. Les deux gènes sont alors introduits de façon indépendante dans le génome. Nous verrons (section 4 de ce chapitre) que l'on peut même mettre le marqueur de sélection et le transgène sur des plasmides différents. Ces constructions facilitent l'élimination du gène marqueur ; elles sont à privilégier pour une transgénèse ne transmettant que le gène désiré.

Au début des travaux de recherches sur la transgénèse, le transfert par *Agrobacterium* n'était efficace que pour les dicotylédones, à partir de fragments de tissus divers : hypocotyle, cotylédons, tiges, pétioles… la seule limite étant la possibilité de regénération d'une plante. Les graminées semblaient exclues de cette voie car elles étaient insensibles à l'infection par *Agrobacterium* et présentaient des difficultés de regénération *in vitro*. Aujourd'hui, la technique est maîtrisée chez le riz et

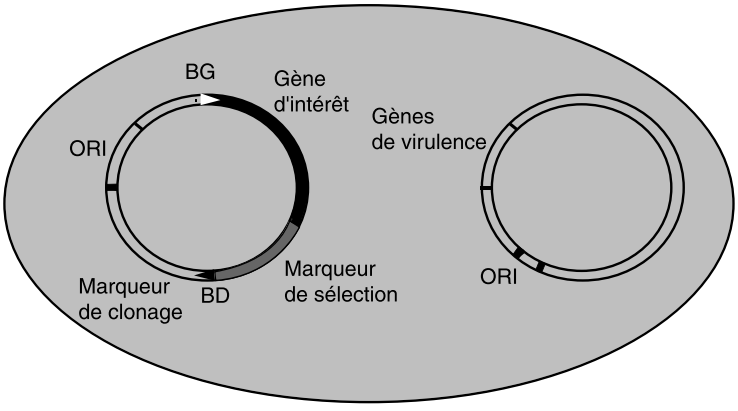


Figure 3.8. Transfert par *Agrobacterium*. Exemple de construction de plasmides avec un vecteur binaire.

le maïs grâce à l'utilisation de souches d'*Agrobacterium* qui surexpriment certains gènes de virulence suite à leur duplication (souches elles-mêmes obtenues par transgénèse).

Le transfert par *Agrobacterium* présente l'avantage de n'introduire qu'un nombre limité de copies du gène (une à deux ou trois) dans le génome d'une cellule transformée ; donc, parmi tous les événements obtenus, il est possible de sélectionner celui correspondant à la meilleure efficacité combinée à la quantité minimale de matériel héréditaire exogène introduit.

Le transfert direct

Il s'agit d'utiliser des moyens physiques ou chimiques pour forcer la pénétration d'un fragment d'ADN dans une cellule végétale. Citons seulement quelques techniques : l'électroporation de protoplastes, la micro-injection et la biolistique qui consiste à projeter à haute vitesse sur des cellules ou des tissus des microbilles de tungstène ou d'or porteuses de fragments d'ADN (le gène à transférer). Cette dernière méthode est la plus utilisée. On peut travailler sur des méristèmes ou des embryons immatures, ce qui évite les problèmes de régénération de plantes à partir de cellules ou tissus. Mais la plante développée à partir de ces explants est une chimère pour l'événement de transformation. Il faut donc attendre la génération suivante pour sélectionner les descendants transformés. Toutefois, par le marqueur de sélection il est parfois possible de sélectionner les cellules transformées. Son inconvénient par rapport à la méthode *Agrobacterium* est d'entraîner généralement le transfert d'un grand nombre de copies. Elle a l'avantage de pouvoir s'appliquer à n'importe quelle espèce, et était la seule solution pour les monocotylédones résistantes à l'infection par *Agrobacterium* avant la construction de souches adaptées. C'est de plus une solution pour réaliser la transformation au niveau du génome chloroplastique.

Les vecteurs utilisés sont en général de petits plasmides (moins de 3 000 paires de bases). Les constructions comprennent : une origine de replication chez *Escherichia coli*, le marqueur de clonage dans la bactérie, le gène d'intérêt et le marqueur de sélection. L'origine de réplication et le marqueur de clonage sont éliminés avant transformation. Il suffit d'avoir prévu dans la construction du fragment d'ADN des sites reconnus par une enzyme de restriction ; après action de cette enzyme on aura par exemple un brin long avec le gène d'intérêt et le marqueur de sélection, et un brin court avec l'origine de réplication et le marqueur de clonage, qui pourront être séparés par électrophorèse. Mais, comme avec *Agrobacterium*, pour faciliter l'élimination du marqueur de sélection, il vaut mieux préparer le marqueur et le gène d'intérêt sur des plasmides différents. Les deux types de fragments s'insèrent de façon indépendante dans le génome. Pour augmenter la facilité de détection de plantes qui seront à la fois avec le marqueur de sélection et le gène d'intérêt, sachant que le tri se fait facilement sur le gène marqueur, on peut mettre moins d'ADN portant le marqueur de sélection que d'ADN avec le gène d'intérêt, et observer plus de plantes : avec 10 fois moins, on peut espérer avoir la moitié des plantes ayant intégré dans leur génome le gène marqueur et le marqueur d'intérêt (*in* Franche et Duhoux, 2001).

⏩ L'insertion et l'expression du gène

Le processus d'intégration

Le processus d'intégration est encore mal connu. On sait que l'intégration n'est pas complètement aléatoire. Elle semble se faire préférentiellement dans les régions riches en bases A ou T, en amont du codon d'initiation de la lecture du gène, plus souvent dans les introns que dans les exons, et elle demande une similitude entre la bordure gauche de l'ADN-T et le génome hôte (Brunaud *et al.*, 2002). Située dans une séquence codante, elle provoquera une mutation insertionnelle, le plus souvent défavorable. Cependant dans la majorité des cas elle aura lieu en dehors des séquences codantes puisque chez les eucaryotes, les gènes sont « noyés » dans un océan de séquences non codantes ; la non maîtrise de l'insertion n'aura donc en général que peu de conséquences. Elle impose surtout d'éliminer des événements défavorables, témoins d'insertions dans des gènes.

L'insertion du transgène se fait de façon non contrôlée même si la séquence introduite présente une grande homologie avec une séquence déjà présente dans le génome receveur, ce qui est le cas avec une transgénèse intraspécifique. Il n'est donc pas encore possible de remplacer un gène par un autre : cela nécessiterait une recombinaison dite homologue entre le transgène et la partie homologue du génome, un phénomène qui est très rare chez les plantes supérieures, avec une probabilité de l'ordre d'un taux de mutation (de 10^{-6} à 10^{-5} parmi tous les événements d'introgression d'une séquence d'ADN dans un génome, Wright *et al*., 2005). En revanche, il est observé chez une mousse (*Physcomitrella patens*) ainsi que chez les bactéries, les levures et les champignons filamenteux. À noter que chez les plantes, il est cependant observé chez le chloroplaste, organite cellulaire d'origine procaryotique. Chez les animaux, des progrès importants ont été accomplis dans la maîtrise de ce phénomène par l'utilisation de cellules souches embryonnaires et il est opérationnel chez certaines lignées de souris. Il est clair que sa maîtrise au niveau du génome nucléaire des plantes supprimerait une partie des critiques qui sont faites à la transgénèse. Un espoir apparaît avec l'utilisation de nucléases « doigt de zinc », qui peuvent reconnaître des triplets de nucléotides et couper l'ADN en des points précis ; elles ont ainsi permis d'obtenir chez le tabac un taux de recombinaison homologue de 10 % (Wright *et al*., 2005).

Les risques d'une insertion non maîtrisée

Le premier risque est que le transgène ne s'exprime pas comme attendu. Il peut y avoir des modifications d'effets selon le « fond génétique ». Le risque est surtout que le gène introduit ne fonctionne pas avec l'intensité d'expression prévue, du fait des régulations multiples (différentes en passant de la bactérie à la plante, voire d'une plante à une autre plante). L'effet du fond génétique existe d'ailleurs aussi lorsque l'on introduit un gène dans un génome donné par la méthode des rétrocroisements. Ainsi chez le maïs, le gène *opaque-2*, très intéressant pour améliorer la qualité des protéines, car il augmente la teneur en acides aminés indispensables, diminue très souvent le rendement des génotypes dans lesquels il est introduit, car il est en interaction avec de nombreux gènes ; pour corriger cet effet défavorable, il faut sélectionner

d'autres gènes dits « modificateurs ». S'il n'est donc pas toujours possible de prévoir *a priori* comment un gène va fonctionner dans un génome, la transgénèse ne conduit pas pour autant à la production de « monstres », un maïs transgénique reste un maïs. Cependant, l'effet du transgène doit être bien étudié avant d'envisager sa dissémination dans l'environnement et son utilisation à grande échelle. En fait, la transgénèse est considérée par le sélectionneur de plantes comme une source de nouvelle variabilité, comme la mutagénèse. Après passage au travers de différents cribles, les cas d'effets défavorables sur les caractères agronomiques importants, y compris ceux relatifs à la qualité des produits sont nécessairement éliminés. Il pourrait toutefois rester des caractères défavorables non considérés dans ces cribles.

Un deuxième risque pourrait être au niveau du fonctionnement du génome dans lequel le transgène est introduit. L'insertion du transgène pourrait « éteindre » certains gènes actifs ou au contraire « réveiller » des gènes éteints. En fait le génome apparaît comme un ensemble qui supporte beaucoup de variation (Bradford *et al*., 2005). Dans les croisements interspécifiques beaucoup de gènes différents sont mis en présence ; malgré cela après doublement, les deux génomes coexistent très bien et sont parfaitement stables. Par doublement chromosomique, on modifie complètement les effets de dosage entre gènes, voire la régulation des gènes (Scheid *et al*., 1996 ; Guo *et al*., 1996 ; Gallais, 2003), la variabilité ne s'exprime pas tout à fait de la même façon, mais les espèces autotétraploïdes artificielles sont parfaitement stables. Dans le génome, il se produit souvent naturellement des inversions, des translocations, des duplications, voire des délétions, cela ne remet pas en cause pour autant les lois de l'hérédité. Enfin, il y a tout le problème de l'ADN non codant qui « bouge » en permanence sans que cela ne remette, là aussi en cause, les lois de l'hérédité (encadré 3.3). Du point de vue de l'équilibre du génome, les modifications apportées par la transgénèse apparaissent donc mineures par rapport à toutes ces modifications.

Un troisième risque pourrait être au niveau de la stabilité de l'insertion. Après la sélection des événements de transformation, dès qu'ils ont été transmis par une méiose, rien n'indique que les transgènes seraient plus instables que les autres gènes. La transgénèse n'est plus une nouvelle technique, en vingt ans d'existence, aucun phénomène particulier d'instabilité propre aux transgènes n'a été démontré. En fait, les transgènes, une fois incorporés dans le génome, vont être soumis aux mêmes lois d'évolution que les autres gènes, avec une probabilité très faible de mutation au niveau des bases A, T, G, C, et des possibilités de mutagénèse insertionnelle par des transposons.

Ces trois risques sont en fait limités par tout le travail de sélection qui est fait après l'obtention des premières plantes transformées : en effet, ne sont retenues que les plantes pour lesquelles le transgène s'exprime bien comme attendu, sans conséquences négatives au niveau d'autres caractères que celui qu'il contrôle. De plus, s'il y avait des problèmes particuliers d'instabilité de l'intégration, ils apparaîtraient sans doute dès les premières méioses des plantes transgéniques.

La notion d'événement de transformation

Compte tenu du fait que les effets directs ou indirects d'un transgène peuvent être différents selon le site d'insertion, on parle d'événement de transformation pour un

site donné, un événement correspondant donc à un transgène particulier, à un emplacement donné chez une espèce donnée (par exemple : *Bt*11, *Bt*176, *Mon*810… sont des événements de transformation pour la résistance à la pyrale chez le maïs).

Génétique du transgène

Dans un croisement entre une plante transgénique et une plante standard, un transgène se comporte comme un gène dominant puisque son « allèle » correspond à l'absence du transgène. Une plante transformée, avec un seul site d'insertion, est dite hémizygote. Pour fixer le transgène à l'état homozygote, il suffit alors d'autoféconder cette plante, elle donnera des plantes homozygotes pour le transgène qui peuvent être identifiées par marquage moléculaire (en théorie, on obtiendra dans la descendance 3/4 de plantes transformées, 1/4 de plantes non transformées). En l'absence d'effet de dosage, l'effet du transgène sera le même au niveau d'un génotype hémizygote que d'un génotype homozygote ; cette particularité simplifie le développement de variétés hybrides, puisqu'il suffit que le transgène soit « fixé » à l'état homozygote chez l'un des parents, l'autre parent pouvant être non transgénique.

⏩ L'élimination des gènes marqueurs

Deux types de marqueurs sont utilisés au cours de la transgénèse, un marqueur pour le clonage du gène, qui ne peut pas s'exprimer dans la plante car il est sous le contrôle d'un promoteur bactérien, et un marqueur pour le repérage et la sélection des plantes transformées. Pour limiter tout risque possible dû à leur présence dans le génome, en particulier dans le cas d'un marqueur « résistance aux antibiotiques » (voir chap. 4), ces deux types de marqueurs peuvent être éliminés. La CGB et la Communauté européenne ont d'ailleurs pris des mesures interdisant la commercialisation de variétés transgéniques avec des marqueurs de résistance aux antibiotiques (voir chap. 6). De plus, même du point de vue de l'utilisation de la transgénèse, l'élimination des marqueurs de sélection est une nécessité puisque, si une plante est transformée avec un marqueur donné, ce marqueur ne pourrait plus être utilisé pour transformer cette même plante (Goldsbrough, 1992).

En ce qui concerne le marqueur de clonage, avec le transfert par la méthode *Agrobacterium*, le problème de son élimination ne se pose pas avec des constructions où il est placé en dehors des bordures droite et gauche de l'ADN-T, puisque ainsi il n'est pas inséré dans le génome. Avec le transfert par biolistique, le marqueur de clonage peut être éliminé avant transformation. Il reste donc à éliminer le marqueur de sélection. Deux cas sont à distinguer : soit le gène d'intérêt et le marqueur de sélection ont été introduits liés, sur un même fragment d'ADN, soit ils ont été introduits de façon indépendante, dans deux constructions différentes. Dans le premier cas, le plus complexe, deux procédés d'élimination ont été proposés, demandant tous les deux des constructions particulières :
– l'utilisation du *système Cre*/*Lox* du bactériophage P1 (Dale et Ow, 1990, Zhang *et al.*, 2003) : le marqueur est placé entre deux bordures *Lox* de même orientation (de 34 bp), spécifiques d'une enzyme, une recombinase *Cre* (fig. 3.9). Après la transformation avec cette construction, la plante transgénique est croisée avec une

plante porteuse du gène *Cre* codant la recombinase permettant la recombinaison entre les deux séquences *Lox* ; ceci a pour conséquence l'excision du gène marqueur dans 95 à 100 % des cas. Zhang *et al.* (2003) sur maïs signalent une excision complète (à 100 %) dans de nombreux croisements. Le gène *Cre* est alors éliminé dès la F_2 en sélectionnant, grâce aux marqueurs moléculaires, les plantes qui ne le portent pas. Un système d'auto-excision est aussi possible : pour cela le gène *Cre*, placé sous le contrôle d'un promoteur inductible par un choc thermique, est associé au marqueur entre les deux séquences *Lox*. Le choc thermique entraîne alors l'auto-excision du marqueur (Zhang *et al*., 2003).

– l'utilisation d'un *système de transposition* : le gène marqueur est inséré dans un transposon, de type *Ac* (Ebinuma *et al*., 1996 ; Goldsbrough *et al*., 1993) ; après la transformation et la sélection des plantes transformées, si la transposition est activée, le transposon entraîne alors avec lui le gène marqueur. Cependant, il peut se réintégrer dans le génome. Dans ce cas, il ne pourra être éliminé facilement que s'il se réinsère sur un autre chromosome, ou sur le même chromosome mais suffisamment loin ; il suffit alors de rechercher dans la descendance obtenue par auto-fécondation de la plante transformée les individus qui n'auront gardé que le transgène désiré.

La meilleure solution est l'introduction sur des fragments séparés du gène désiré et du marqueur de sélection. Avec le transfert par la méthode *Agrobacterium*, cela se fait par l'utilisation du système binaire (Yoder et Goldsbrough, 1994). On utilise une souche d'*Agrobacterium* possédant trois plasmides, le plasmide « assistant » avec les fonctions de virulence et deux vecteurs binaires, l'un avec le marqueur de sélection entre les deux bordures de l'ADN-T, l'autre avec le gène d'intérêt entre les deux bordures de l'ADN-T ; les fonctions de virulence du plasmide assistant permettent alors le transfert des deux types d'ADN-T dans la cellule. Les insertions du gène d'intérêt et du gène marqueur se font de façon indépendante, mais, il apparaît que si l'intégration du marqueur a lieu, celle du gène d'intérêt a aussi souvent lieu en même temps. Une variante est issue de cette méthode : elle consiste à utiliser un système binaire comprenant un plasmide assistant désarmé et un plasmide

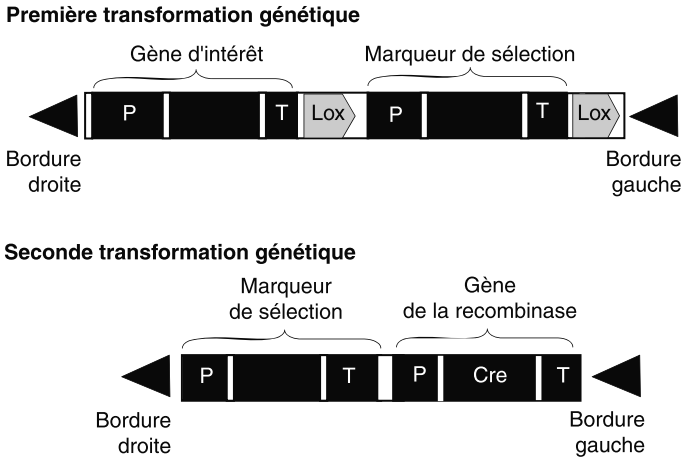


Figure 3.9. Le système *Cre*/*Lox* pour l'élimination d'un marqueur de sélection (ou de clonage).

binaire avec deux zones T, l'une contenant le gène d'intérêt, l'autre le marqueur de sélection (fig. 3.10). Dans ce cas, le gène d'intérêt et le marqueur de sélection sont encore insérés de façon indépendante dans le génome. Avec le transfert par biolistique, deux fragments sont préparés, l'un avec le gène marqueur, l'autre avec le gène d'intérêt ; là encore, ils s'insèrent de façon indépendante dans le génome.

Après sélection, quelle que soit la méthode de transfert, on obtient donc une plante double hémizygote, pour le gène désiré et pour le marqueur, avec dans leur quasi-totalité des insertions se situant sur des chromosomes différents ou éloignées sur un même chromosome. S'il n'y a qu'un seul gène marqueur et un seul gène d'intérêt, l'autofécondation d'une telle plante donnera donc en théorie la disjonction propre à deux locus indépendants, soit 9/16 de plantes avec le gène d'intérêt et le marqueur, 3/16 de plantes avec seulement le gène d'intérêt, 3/16 de plantes avec seulement le marqueur et 1/16 de plantes sans le gène d'intérêt ni le marqueur. Par l'utilisation de sondes moléculaires des gènes, les plantes avec seulement le gène désiré peuvent alors être sélectionnées et fixées. C'est maintenant la technique la plus répandue.

Ces différentes possibilités d'élimination des gènes marqueurs montrent que la transgénèse est de mieux en mieux maîtrisée. L'objectif est de n'introduire que le gène désiré, en une seule copie, là où l'on veut, pour qu'il s'exprime toujours de la même façon. Lorsqu'il sera complètement atteint, la transgénèse se différenciera donc de moins en moins de ce qui est fait par les méthodes classiques d'amélioration des plantes, et ceci d'autant plus que les gènes viendront de la même espèce. En effet, les progrès dans la génomique fonctionnelle devraient permettre d'identifier de nouveaux gènes d'intérêt à l'intérieur d'une espèce à effet important sur la qualité des produits, l'adaptation au milieu…

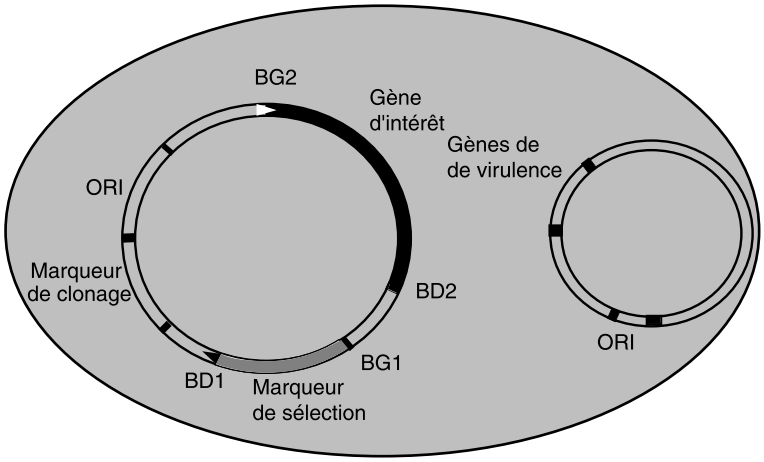


Figure 3.10. Le système binaire avec introduction sur un même plasmide du transgène et du marqueur de sélection.

La transgénèse au niveau du chloroplaste (transplastomique)

Nous avons vu que chez les plantes, en plus du génome nucléaire, il y a deux autres génomes, le génome mitochondrial et le génome chloroplastique. Ces deux génomes ont une origine bactérienne : ils seraient le résultat d'une « infection » de protoplante qui aurait eu lieu il y a environ un milliard d'années et qui se serait transformée en une sorte d'association bénéficiaire aux deux parties (symbiose). Au cours de l'évolution, de nombreux gènes présents dans les bactéries contaminatrices ont été « incorporés » dans le génome nucléaire, ce qui explique que ces génomes portent relativement peu de gènes (ce transfert est donc un exemple d'évolution par transgénèse naturelle). Ils ont cependant conservé toute la machinerie nécessaire pour aller du gène aux protéines, avec le même code génétique que celui du noyau, compte tenu de l'universalité du code génétique. On peut donc faire s'exprimer n'importe quel gène au niveau des mitochondries ou au niveau des chloroplastes.

Les deux types d'organites peuvent être transformés par la technique de la biolistique (Johnston *et al*., 1988 ; Boynton *et al*., 1988). Cependant des marqueurs de sélection des cellules transformées sont beaucoup plus difficiles à trouver pour les mitochondries que pour les chloroplastes. Pour le moment, seule la transformation du chloroplaste a commencé à être exploitée. Pour sélectionner une cellule modifiée on peut utiliser la résistance à un antibiotique. L'élimination du marqueur de sélection peut se faire en utilisant les propriétés de recombinaison du plastome : en encadrant le gène marqueur par des séquences identiques (140 bp), orientées dans le même sens, il se produit entre ces deux zones des événements de recombinaison qui permettent l'excision spontanée du gène. On peut aussi envisager la recombinaison homologue (entre régions identiques de l'ADN du plastome et du transgène), et faire ainsi une transgénèse ciblée en positionnant le transgène où l'on veut, en l'intégrant dans un plasmide encadré par de courtes séquences homologues à la région visée du plastome (Maliga, 1993).

Les avantages de la transformation du chloroplaste sont :
– *l'absence de transmission du transgène par voie pollinique*. La transformation au niveau du chloroplaste permettrait d'empêcher la dispersion du transgène par le pollen, lorsqu'il y a un risque associé au flux pollinique. En effet, le chloroplaste chez de nombreux angiospermes n'est transmis que par voie maternelle. En revanche chez les gymnospermes (conifères), il n'est transmis que par voie paternelle. Il existe cependant des exceptions. Ainsi chez le *Pelargonium*, la luzerne et le seigle, il est transmis par les deux voies ; chez *Actinidia* (Kiwi), il est transmis par voie paternelle (Chat, 2003). Chez le tabac, la transmission maternelle est bien connue mais des travaux sur des tabacs transplastomiques montrent une possibilité de transmission du transgène par le pollen, à des taux faibles, 1 % (Medsyesy *et al.*, 1986 ; Avni *et al.*, 1991). En fait les mécanismes de l'hérédité uniparentale ou biparentale du chloroplaste sont encore mal connus. Pour l'application de la transplastomique, il faudra donc encore s'assurer de la non-transmission du transgène par le pollen.
– *des taux d'expression élevés*. Du point de vue de l'expression des gènes l'avantage de la transformation du chloroplaste, pour la production de protéines particulières,

est de permettre l'insertion d'un grand nombre de copies (car dans une cellule chloroplastique il peut y en avoir plusieurs dizaines, leur nombre variant selon les espèces de un à plus d'une centaine, chacun avec un fort degré de ploïdie) ce qui permet d'avoir des taux d'expression très forts, jusqu'à 25 % des protéines totales solubles. De plus, avec le chloroplaste, il n'y a pas d'effet de position, ni de risque de *silencing* (non expression du transgène). Enfin l'accumulation de la protéine dans le chloroplaste réduit les risques de toxicité pour la plante et peut faciliter sa purification ultérieure.

L'hormone de croissance humaine, la sérum-albumine (et le vaccin contre l'hépatite B) sont ainsi produites dans des chloroplastes de feuilles de tabac. Ces deux protéines produites dans ces conditions sont conformes à ce qui était attendu et actives. Par contre, un désavantage de la transgénèse du chloroplaste est que la glycosylation (modification post-traductionnelle par addition de molécules dérivées du glucose qui a des conséquences sur les propriétés fonctionnelles) n'est pas possible dans les plastides. Ce système ne pourra donc pas être utilisé pour produire les glycoprotéines (voir chap. 4).

⏩ Conclusion

La transgénèse est un outil important d'une part pour mieux comprendre les effets des gènes et le fonctionnement d'un organisme et d'autre part pour l'élaboration de nouveaux génotypes.

La transgénèse comme outil pour la connaissance

Analyse de la fonction d'un gène

Lorsqu'un gène a été isolé, pour analyser sa fonction, on peut lui adjoindre un promoteur permettant une surexpression de la protéine codée. Si une telle construction est transférée dans le génome d'une plante, il doit en résulter une augmentation de l'activité métabolique catalysée par cette protéine, dont la fonction pourra alors plus facilement être étudiée. On peut aussi inactiver un gène de séquence connue par la stratégie anti-sens. L'avantage de cette technique par rapport à la mutagénèse insertionnelle, est qu'elle n'inactive pas le gène lui-même : elle permet donc elle aussi une analyse de l'activité métabolique, qui est diminuée au lieu d'être augmentée comme précédemment. La technique du RNAi peut aussi être utilisée.

Analyse de l'expression d'un gène

Même si les études d'expression (synthèse de l'ARN messager) ont beaucoup progressé avec le développement des puces à ADN (Hinfray, 1997), elles restent assez coûteuses, surtout si l'on veut suivre l'expression des gènes au cours de la vie de la plante. La transgénèse apporte alors un moyen supplémentaire et facile à utiliser pour étudier de façon précise l'expression d'un gène. Au promoteur du gène étudié (donc sans sa séquence codante), on associe la séquence codante d'un *gène rapporteur*, choisi en fonction de la facilité de détection de son expression. Par exemple on utilise le gène bactérien de la β-glucoronidase (GUS) qui colore en

présence d'un substrat spécifique les tissus en bleu, là où il s'exprime, ou encore le gène de luciférase de la luciole qui entraîne l'émission de photons ou le gène de la *Green Fluorescent Protein* (GFP), non toxique, qui va permettre aux tissus d'émettre une fluorescence. Après transformation avec une telle construction, il suffit donc d'observer au cours du temps où et avec quelle intensité le gène rapporteur s'exprime dans la plante : cela montre où et à quel moment s'est faite l'activation du promoteur du gène étudié et en conséquence où le gène est normalement exprimé.

La structure des promoteurs peut aussi être étudiée par cette technique en réalisant des délétions de la séquence promotrice puis en observant l'effet de ces modifications sur le profil d'expression du gène rapporteur.

Analyse de l'adressage des protéines

Les cellules végétales ont différents compartiments ou organites que les protéines doivent atteindre pour remplir leurs fonctions. Pour localiser et suivre des protéines dans une cellule, une stratégie proche de la technique des gènes rapporteurs peut être utilisée. Deux séquences codantes, l'une qui code la protéine d'intérêt, l'autre une protéine marqueur fluorescente (la GFP) sont réunies dans une même construction avec un promoteur permettant l'expression la plus constante. Après intégration de la construction dans le génome d'une plante, celle-ci synthétisera une molécule hybride, dite protéine-fusion, fluorescente. En admettant que la protéine marquée a les mêmes propriétés que la protéine native, il sera ainsi possible de la suivre *in vivo* de sa synthèse à sa localisation définitive. C'est par cette méthode que l'adressage, du cytoplasme des cellules chlorophylliennes aux plastes, de la petite sous-unité de la Rubisco (enzyme de la photosynthèse), a pu être compris.

Génétique inverse

La génétique classique allait du caractère vers le gène. Avec la transgénèse, il devient possible d'aller du gène vers le caractère, ce qui est très puissant du point de vue de l'analyse du fonctionnement de la plante, l'étude comparative portant seulement sur la plante génétiquement modifiée et sa forme isogénique normale (donc avec seulement le transgène en moins). Il est ainsi possible d'étudier les effets du transgène. C'est aussi le raisonnement de la génétique inverse qui est utilisé pour les études des collections de mutants d'insertion obtenus.

La transgénèse pour la construction de génotypes

Du point de vue de la construction de génotypes, trois intérêts de la transgénèse apparaissent :

• *l'utilisation d'une nouvelle variabilité* : c'est sans doute aujourd'hui le principal intérêt de la transgénèse. On peut utiliser des gènes d'une autre espèce, même très éloignée des plantes (comme des gènes de bactéries), ce qui apporte une source de variabilité complètement nouvelle chez les plantes. C'est ainsi que l'on a pu introduire la résistance aux insectes dans des espèces qui en étaient dépourvues et que l'on peut faire produire des neuroleptiques aux plantes (vues comme des micro-usines de biosynthèse). Si cette technologie permet de transgresser les barrières

entre espèces, elle permet aussi de travailler au sein d'une même espèce avec ses propres gènes. Avec les progrès de la génomique, de plus en plus de gènes (allèles) intéressants sont clonés chez les plantes. Grâce à la transgénèse « maîtrisée » il serait donc possible d'exploiter ces sources de variabilité intraspécifique beaucoup plus rapidement que par une sélection assistée par marqueurs (voir chap. 2).

• la *rapidité et la précision du transfert* d'un gène dans un génotype. Ces deux avantages sont aujourd'hui encore un peu théoriques. En effet, dans l'état actuel de la technique, la transgénèse s'applique en priorité à des génotypes qui se prêtent bien à la transformation mais qui sont rarement les plus intéressants agronomiquement (adaptés à la culture *in vitro*, et en particulier régénérant bien, ce qui est plus délicat chez les monocotylédones). En ce cas, une fois un événement de transformation obtenu, il est transféré par rétrocroisement dans les génotypes désirés, avec tous les inconvénients du rétrocroisement (voir p. 39) : durée de l'opération et risque d'introgression du génome du parent donneur, ce qui peut diminuer la valeur agronomique du parent reconverti. Cependant on dispose dans le cas présent d'un marqueur moléculaire du gène introduit, et avec des marqueurs définissant une fenêtre à gauche et à droite et d'autres marqueurs répartis sur tout le génome, il sera possible de conduire le backcross très rapidement, à un coût plus faible (il n'y a pas d'évaluation agronomique à faire, ou seulement en fin de processus, grâce au marquage du gène) et en limitant l'effet d'entraînement par *linkage (linkage drag)*. C'est l'avantage même de la technique du backcross assisté par marqueurs (voir p. 52). À terme, avec les progrès dans la technique, il est évident que le gain de temps et le transfert du gène avec une précision chirurgicale deviendront l'intérêt essentiel de la transgénèse. Cela est particulièrement vrai dans le cas où le sélectionneur doit aller chercher des gènes chez des espèces sauvages apparentées, se croisant mal avec l'espèce à améliorer. Ainsi, l'introduction de la résistance au piétin verse chez le blé, à partir de l'*Aegilops*, a été très longue, plus de dix ans, et l'on a introduit tout un segment chromosomique. De même, chez le colza, l'introgression du gène de restauration de fertilité du radis, afin de pouvoir faire des variétés hybrides, a entraîné un gène de teneur élevée en glucosinolates qui sont défavorables à la qualité des tourteaux.

La transgénèse apparaît donc comme un outil aux possibilités exceptionnelles pour élaborer avec une extrême précision les génotypes avec des caractéristiques nouvelles qui pourront satisfaire au mieux les besoins de l'homme (voir chapitre suivant), et cela beaucoup plus rapidement et avec une meilleure précision que par les méthodes classiques. En dix ans, les techniques ont déjà beaucoup évolué en efficacité et en raffinement, et elles évolueront encore. Demain il sera très certainement possible de modifier directement les gènes en place par une mutagénèse dirigée grâce à la maîtrise de la recombinaison homologue. Mais pour cela il est absolument nécessaire de maintenir les recherches sur l'outil (voir chap. 6).

Par rapport aux méthodes de sélection jusque-là utilisées, ce qui change avec la transgénèse est le franchissement possible des barrières d'espèces pour l'échange de gènes et la possibilité même d'introduire des gènes artificiels ou chimériques ; c'est aussi la rapidité de la modification et sa précision (un seul gène transmis) avec la non nécessité de recourir à la voie sexuée pour l'introduction dans le génome de caractères d'intérêt. En ce sens, la transgénèse est bien à comparer à

la mutagénèse. Parmi les techniques aujourd'hui à la disposition du sélectionneur pour exploiter la variabilité génétique, la transgénèse est l'une des plus puissantes : ainsi, à la fois elle donne accès à une nouvelle variabilité permettant d'obtenir des caractères jusque-là inconnus dans une espèce, et elle fournit un outil remarquablement précis pour l'utilisation de cette variabilité. Les progrès encore à venir dans la maîtrise de cette technique sont tels que, dans un avenir sans doute assez proche, n'importe quel gène pourra être transféré dans n'importe quel génotype. Comme avec les études de génomique, le nombre de gènes à transférer ne devrait plus être limitant, cela ouvre des perspectives tout à fait nouvelles pour la génétique et l'amélioration des plantes, en particulier la transgénèse intraspécifique. Avec cette forme de transgénèse, il s'agira de faire mieux et plus rapidement ce qui s'est toujours fait par la voie sexuée. Enfin, il est probable que d'autres outils de manipulation de la variabilité génétique se développeront et seront susceptibles de remplacer la transgénèse.

Alors, y a-t-il une rupture ou une continuité dans les outils à la disposition du sélectionneur ? Il y a une continuité dans les objectifs, car il s'agit toujours de créer des génotypes répondant de mieux en mieux aux besoins de l'homme. De plus, il reste aussi une certaine continuité dans les méthodes, la transgénèse ne se substituant pas aux méthodes conventionnelles de sélection. Dans le processus de création des variétés, elle permet « seulement » une nouvelle variabilité pour certains caractères « majeurs », avec une introduction éventuellement plus rapide et plus précise dans un génotype donné que par la voie sexuée ; mais, elle n'est pas une méthode de construction de génotypes pour des caractères complexes polygéniques. C'est d'ailleurs pourquoi les entreprises de biotechnologies, qui mettent au point les transgènes, ont besoin d'être en liaison très étroite avec des sélectionneurs traditionnels (au point de fusionner avec eux) pour valoriser leur outil. Cependant, il existe bien une discontinuité au niveau de l'origine de la variabilité génétique utilisée et une rupture technologique. Les barrières d'espèces sont levées, la voie sexuée est remplacée par la voie « *in vitro* » et l'ère de l'intervention directe sur les gènes est ouverte. Il existe aussi une discontinuité par le fait que cet outil est coûteux et qu'il tend à être réservé aux grandes entreprises de sélection. Nous verrons au chapitre 6 qu'il contribue à accentuer la concentration des acteurs du secteur de l'amélioration des plantes.

Chapitre 4

Ce qu'apporte ou peut apporter la transgénèse

Avec les progrès dans la connaissance des génomes et du fonctionnement des gènes, les caractères qui peuvent être apportés par la transgénèse ne sont pratiquement limités que par l'imagination du chercheur ; la liste des exemples de transformation réussis ou en cours d'étude est maintenant longue, même si dans beaucoup de cas, des recherches sont encore nécessaires avant de parvenir à leurs applications. Pour montrer ce qu'apporte ou peut apporter la transgénèse, nous nous limiterons à donner quelques exemples choisis dans différents domaines d'intérêt :
– la protection et la régularisation de la production agricole, ce qui correspond aux premières variétés transgéniques développées, avec la résistance aux insectes, la résistance aux herbicides, mais on peut y ajouter aussi l'adaptation au milieu physique (tolérance à la sécheresse, au froid) et la résistance aux maladies,
– l'amélioration des qualités nutritionnelles ou organoleptiques des aliments,
– la production de substances pharmaceutiques et les alicaments,
– l'adaptation des plantes à leur utilisation par les animaux,
– l'adaptation des plantes à leur transformation industrielle.

Dans ce chapitre ne sont considérés que les avantages des variétés transgéniques, leurs limites ou leurs risques sont traités dans le chapitre 5.

⏩ Des variétés transgéniques pour protéger et régulariser la production agricole

Contexte agronomique et économique

Importance des pertes de récolte

Sans lutte contre les insectes, les maladies et les mauvaises herbes, les pertes de récolte peuvent être très importantes. Au niveau mondial, selon une estimation de Oerke et Dehne (1994, 1997, *cf*. tabl. 4.1), les pertes potentielles (sans protection)

seraient de 83,8 % pour le cotonnier, 82,4 % pour le riz, 73,4 % pour la pomme de terre, 59,3 % pour le maïs et de l'ordre de 50 % pour les céréales à paille (blé et orge). Avec les modes de culture actuels, faisant appel à une certaine protection, et incluant le désherbage manuel, elles sont encore estimées à 36,9 % pour le cotonnier (culture très protégée), 51 % pour le riz, 41,8 % pour la pomme de terre, 37,9 % pour le maïs et 32 % pour les céréales. Mais il existe de grandes différences entre régions du monde quant à l'efficacité de la protection des cultures, mesurée par le taux de réduction des pertes. Celle-ci est la plus forte en Europe (environ 60 %) et seulement autour de 40 % en Amérique du Nord et le reste du monde, où les cultures sont plus extensives qu'en Europe. Ainsi, en Europe de l'Ouest, en l'absence de toute protection des cultures, 57 % de la production possible serait perdue (pertes moyennes calculées pour les cultures de blé, d'orge, de maïs et de pomme de terre). Avec les traitements contre les maladies, les insectes et les mauvaises herbes, les pertes seraient encore de 21 %. En moyenne au niveau mondial, malgré la protection des cultures, 42,5 % de la production est perdue. Cette perte est due pratiquement pour une part égale aux maladies (13,5 %), aux ravageurs (15,7 %) et aux mauvaises herbes (13,3 %).

Tableau 4.1. Quelques exemples de pertes « actuelles »* (premier chiffre) et « potentielles » (deuxième chiffre) de récolte au niveau mondial (Oerke *et al*., 1994).

Espèces	Pertes totales	Pertes dues aux maladies	Pertes dues aux insectes	Pertes dues aux mauvaises herbes
riz	52,0-83,0	15,0-20,0	21-29	16,0-34,0
maïs	38,5-59,6	10,9-11,7	14,5-19,1	13,1-28,8
blé	21,6-51,9	12,4-16,7	9,3-11,3	12,3-23,9
orge	29,5-47,1	10,1-15,2	8,8-11,0	10,6-20,9
pomme de terre	41,3-73,6	16,3-24,4	16,1-26,4	8,9-22,8
cotonnier	37,7-83,5	10,5-10,2	15,4-37,0	11,8-36,3

* Pertes actuelles = % de pertes avec les conditions de culture actuelles par rapport au rendement potentiel ; pertes potentielles = pertes sans traitement par rapport au rendement potentiel.

La production agricole mondiale pourrait donc être fortement augmentée par une meilleure protection des plantes contre leurs agresseurs. Cela permettrait en particulier d'augmenter assez rapidement la production par habitant dans les pays en voie de développement. La diminution des pertes dans les pays développés se justifie aussi, du point de vue de l'agriculteur, qui doit valoriser au mieux ses investissements. Le désherbage manuel ayant ses limites (problème de disponibilité de main d'œuvre, pénibilité du travail), on peut penser à une meilleure lutte chimique ; cependant, les résistances aux herbicides n'existent pas toujours. En ce qui concerne la lutte chimique contre les maladies et les ravageurs, les résultats de Oerke et Dehne (1997) montrent qu'elle a une efficacité limitée, sans doute parce qu'elle n'est pas toujours appliquée au moment adéquat ; de plus elle est coûteuse et peut être polluante (Paoletti et Pimentel, 2000). La résistance génétique aux maladies, aux ravageurs et aux herbicides apparaît comme une meilleure solution, à combiner d'ailleurs avec toutes les autres méthodes de lutte dans une lutte intégrée. L'amélioration des plantes a toujours recherché la résistance aux maladies et aux ravageurs,

mais la variation génétique à l'intérieur des espèces n'a pas toujours permis de trouver les résistances recherchées, comme dans le cas de la résistance aux insectes. Dans ces cas où les résistances n'existent pas naturellement, la transgénèse apparaît comme une voie à explorer.

Nous présentons dans ce qui suit ce qu'apporte ou peut apporter la transgénèse pour la lutte contre les insectes, les mauvaises herbes et les maladies. Après avoir présenté les constructions génétiques utilisées, nous montrerons l'apport des variétés transgéniques pour l'agriculture et nous tenterons de donner quelques éléments sur leur intérêt économique, plus particulièrement pour les variétés transgéniques résistantes aux insectes et aux herbicides.

La difficulté d'une analyse économique de l'apport des variétés transgéniques résistantes aux insectes et aux herbicides

Comme conséquence d'une meilleure protection des cultures, à côté de gains possibles pour l'environnement, les variétés transgéniques devraient apporter un gain économique pour l'agriculteur. Nous verrons ces gains au cas par cas. Cependant, un bilan économique n'est pas facile à faire (Lemarié, 2001). En se plaçant dans la situation des États-Unis, où les variétés transgéniques sont acceptées, sans mise en place d'une double filière (avec OGM et sans OGM) trois types d'approches peuvent être réalisés :

– à partir des parcelles d'expérimentation où il est possible de comparer la variété transgénique à sa forme isogénique non transgénique ; cela à l'avantage de donner des indications assez précises sur les différences de rendement. Mais outre le fait que les rendements peuvent être surévalués par rapport à ce qu'ils seraient à grande échelle, dans une exploitation, ils ne permettent pas de passer au bilan économique au niveau d'une exploitation. En effet, une exploitation est à voir comme un système complexe, et ce qui est vrai au niveau d'une parcelle, ne l'est pas nécessairement au niveau d'une exploitation ; des simulations peuvent toutefois être faites avec des hypothèses sur le prix des produits et des semences ;

– par comparaison d'exploitations cultivant des variétés transgéniques et d'exploitations avec des variétés classiques, mais la comparaison sera difficile, car les résultats peuvent être dépendants de l'échantillonnage : il faudrait comparer entre elles des exploitations de même type, ce qui à notre connaissance n'a pas été fait ;

– des études macro-économiques ont aussi été développées pour introduire tous les acteurs d'une filière et tenir compte de l'évolution possible des prix des productions agricoles et des produits phyto-sanitaires utilisés suite au développement des variétés transgéniques. Ainsi, aux États-Unis, le développement des variétés transgéniques résistantes aux herbicides a entraîné une diminution de prix des désherbants.

Il en résulte une diversité de conclusions selon les approches et les hypothèses. À cela s'ajoute la difficulté d'extrapoler à l'Europe, et à la France en particulier, des conclusions obtenues à partir d'analyses réalisées aux États-Unis, le contexte technique et économique n'étant pas le même. De plus, en Europe, il faudrait tenir compte du coût de la mise en place d'une double filière de production, avec OGM et sans OGM. Pour ce point, il est seulement possible de faire des simulations. Nous avons donc choisi dans ce qui suit, pour les variétés transgéniques résistantes aux insectes et résistantes aux herbicides, de nous intéresser surtout aux performances

au niveau de la parcelle en tenant compte du rendement de la production et du coût des intrants directement lié au caractère transgénique (coût des semences, coût des pesticides). Le problème du coût de la double filière et de son impact sur le développement des variétés transgéniques sera abordé au niveau de la gestion des risques (chap. 6).

La résistance aux insectes

Éléments généraux

Inconvénients et limites de la lutte chimique contre les insectes

Sans aucune protection des cultures contre les insectes, les pertes induites par leurs attaques s'élèveraient au niveau mondial à plus d e400 milliards de dollars. Par l'emploi d'insecticides, ces pertes sont réduites de 70 à 75 %. La protection n'est donc jamais totale, et dans de nombreuses situations, il est nécessaire d'intervenir à plusieurs reprises tout au long du cycle cultural pour obtenir un haut niveau de production. Par le passé, dans les zones géographiques avec un niveau de risque d'attaque, des programmes de traitements étaient appliqués plus ou moins systématiquement, entraînant un gaspillage de moyens et un risque de pollution. Aujourd'hui, les interventions sont généralement beaucoup plus raisonnées, avec des produits adaptés et dosés, en fonction des stades de développement de la plante, de la nature et du niveau de l'infestation, grâce à des systèmes de veille (stations d'avertissement agricole) et d'aide à la décision s'appuyant sur un suivi précis des cultures des ravageurs, ce qui améliore considérablement la situation. Cependant, les interventions en culture peuvent être rendues impossibles ou inefficaces du fait des conditions climatiques (périodes pluvieuses, sécheresse, faibles températures…). Les insectes eux-mêmes peuvent être difficiles à atteindre, lorsque leurs larves creusent des galeries dans les différentes parties de la plante (comme chez le maïs avec le cas de la pyrale dans les parties aériennes, et de la chrysomèle dans les racines) : elles sont protégées de tout traitement extérieur et seul un insecticide venant de l'intérieur de la plante peut empêcher leur développement. Enfin, les insectes peuvent être devenus résistants aux insecticides utilisés (cas de la noctuelle du cotonnier, *Helicoverpa armigera*, qui en Australie, Chine et Inde, était devenue résistante aux pyréthrénoïdes). Dans toutes ces situations, les variétés transgéniques résistantes aux insectes peuvent apporter des réponses efficaces et élégantes à ces problèmes.

Du point de vue environnemental, les insecticides chimiques affectent les insectes non-cible. De plus, le développement de leur utilisation « intensive » est responsable de la mort de nombreux oiseaux. L'EPA chiffrait en 1989 de 1 à 2 millions le nombre d'oiseaux tués dans le monde par le carbofuran, ce qui contribue à la diminution de la diversité des populations d'oiseaux (Paoletti et Pimentel, 2000). Enfin les insecticides sont dangereux pour l'homme qui les manipule, mais aussi par les traces de produits qui peuvent rester au niveau des fruits ou légumes destinés à la consommation. La plupart des molécules utilisées dans la lutte contre les insectes sont dangereuses pour l'homme (voir rapport Afssa, 2004) :
– les pyréthrinoïdes (comme la deltaméthrine) apportés par pulvérisation sur la plante, entraînent chez l'homme des diarrhées, des vomissements, une ataxie, des

convulsions pouvant déboucher sur une fibrillation musculaire, la paralysie, des difficultés respiratoires et la mort (pour des doses de 2 à 250 mg/kg). Des cas d'allergie ont aussi été décrits ;
– le fipronil, insecticide maintenant interdit, qui était utilisé dans l'enrobage des semences est connu pour être cancérigène chez le rat (cancer de la thyroïde) ;
– les carbamates (dont le carbofuran), insecticides apportés en granulés au moment du semis ou en pulvérisation en cours de végétation, agiraient au niveau endocrinien ; le carbofuran entraîne des altérations des spermatozoïdes chez le rat et le lapin ; il perturbe le système thyroïdien chez la brebis.

Des variétés génétiquement résistantes aux insectes devraient donc permettre une protection des plantes plus efficace, des économies d'insecticides avec une pollution moindre et moins de risque pour l'agriculteur et le consommateur. Le problème est que, à l'intérieur d'une espèce, les résistances aux insectes sont rares et difficiles à utiliser quand elles existent. La transgénèse a permis de créer des résistances lorsqu'elles n'existaient pas au sein de l'espèce.

Les gènes codant pour la synthèse de molécules à effets insecticides

Des travaux de transgénèse ont été réalisés avec des gènes issus de plantes et des gènes d'origine bactérienne. Parmi les gènes issus de plantes, le gène codant pour la lectine du perce-neige a été étudié dans le but de conférer la résistance au doryphore à la pomme de terre (un exemple qui a beaucoup fait parler de lui, suite aux travaux du chercheur écossais Pustzai, voir chap. 6). On peut aussi citer les gènes codant pour les inhibiteurs de protéases, la tryptophane carboxylase par exemple, originaires des fabacées ou des solanacées. Ils ralentissent la protéolyse digestive des insectes, ce qui entraîne un retard de développement des larves, voire une mortalité larvaire accrue. Ces inhibiteurs de protéases sont actifs contre les lépidoptères, les coléoptères et les orthoptères. Malheureusement, les résultats obtenus ont été peu encourageants. Ce sont les gènes d'origine microbienne qui ont été le plus développés, avec le plus célèbre d'entre eux, le gène *Bt* issu de la bactérie *Bacillus thuringiensis*. Cette bactérie présente une grande variabilité génétique. Ainsi à partir de l'étude d'un grand nombre de souches, une centaine de toxines différentes (appelées « crystal proteins », *Cry*) ont pu être isolées et étudiées. Chacune d'elles a un spectre d'hôte (d'insectes) qui lui est spécifique. *Cry1*, la plus utilisée, est active contre les lépidoptères ; *Cry3* est active contre les coléoptères ; *Cry4* contre les diptères (Chauffaux *et al*., 1996).

Les toxines *Bt* détruisent par lyse les cellules épithéliales de l'intestin des insectes ravageurs cibles ; il en résulte une paralysie du système digestif de l'insecte qui cesse de s'alimenter et meurt. O na pu isoler des différentes souches bactériennes les gènes responsables de la synthèse de ces toxines, et introduire dans le génome des plantes certains d'entre eux, choisis en fonction de son spectre d'activité. Selon le promoteur qui lui est associé, ces gènes peuvent s'exprimer :
– dans tous les tissus de la plante, avec les promoteurs dits « constitutifs » tels que le 35S, avec seulement quelques traces au niveau de la graine (de l'ordre de 10^{-6}, 1 ng/g) (Fearing *et al*., 1997),
– seulement dans certaines parties de la plante, avec des promoteurs dits « tissus spécifiques » comme par exemple le promoteur de la PEPC qui ne s'exprime que dans les tissus verts donc ni dans le pollen ni dans la graine,

– seulement en cas d'agression, avec des promoteurs « inductibles » par piqûre d'insectes ou début de consommation des tissus foliaires par les larves.

Les plantes transformées (dites *Bt*) sont identiques aux plantes non transformées, sauf pour leur aptitude à produire la toxine dans des conditions définies. À la différence des autres insecticides, cette toxine est inoffensive pour les autres insectes : elle détruit spécifiquement un ordre d'insectes (lépidoptères ou coléoptères ou diptères) et respecte donc mieux les équilibres de populations naturelles d'insectes. Utilisée dans la lutte biologique, elle est bien connue pour son profil toxicologique et elle apparaît sans effet sur les mammifères, les poissons et les oiseaux qui la consomment à dose normale. Jusqu'à plusieurs g/kg de poids vif dans la ration d'une souris n'ont provoqué aucun trouble. La raison en est l'absence de récepteurs à la toxine *Bt* dans les cellules épithéliales de l'intestin des mammifères, des oiseaux et des poissons, alors que ceux-ci sont présents chez les insectes. De plus, chez les bovins qui ingèrent la toxine à travers un ensilage ou un fourrage vert de maïs *Bt,* elle est dégradée au cours de la digestion dans le rumen comme toute protéine. Au niveau des ensilages elle est d'ailleurs totalement dégradée (Fearing *et al*., 1997). Cela se traduit par une même valeur alimentaire mesurée sur moutons ou vaches laitières (Barrière *et al*., 2001, 2002). Enfin, nous verrons (chap. 5) que la durée de vie de cette molécule est courte : les risques de pollution de l'environnement sont ainsi minimisés.

Les variétés transgéniques résistantes aux insectes ont essentiellement été développées chez le maïs et le cotonnier. Chez le colza, les insectes qui font le plus de dégâts sont essentiellement des coléoptères (charançon, méligèthe, altise…). *Bt* n'est donc pas utilisé pour cette espèce ; on utilise alors des inhibiteurs de protéases.

Le maïs *Bt*

Le maïs est, dans certaines zones, en Europe et aux États-Unis, très attaqué par un petit papillon crépusculaire, la pyrale (*Ostrinia nubilalis*) qui, par sa larve mineuse des tiges, peut faire des dégâts très importants, en particulier dans le sud-ouest, le centre, la vallée de la Loire, l'Alsace et même le sud du Bassin parisien. Aux États-Unis, pour le seul État de l'Illinois, les pertes annuelles dues à ces attaques étaient dans les années 1990-1995 de plus de 50 millions de dollars par an. Des résistances génétiques ont été recherchées au sein de l'espèce (Anglade, *in* Gallais et Bannerot, 1989). Avant floraison, des génotypes résistants ont été trouvés ; ils expriment un facteur insecticide, le DIMBOA (2-4-dihydroxy-7-methoxy-1-4-benoxazine) ; cependant ce facteur a un déterminisme génétique assez complexe et est difficile à sélectionner (Guthrie *et al*., 1986). De plus après la floraison, il semble ne jouer qu'un faible rôle. Ces travaux ont donc été abandonnés et il n'existe pas de variétés commerciales non transgéniques résistantes à la pyrale. Le maïs doit donc être traité pour être protégé de ce papillon. Ainsi de 15 à 30 % des surfaces en maïs grain sont traitées chaque année en France (sud du Bassin parisien, Alsace, Poitou-Charentes, Aquitaine, Rhône-Alpes) soit plus d e500 000 ha (avec un coût d'environ 30 à 45 euros/ha, selon les produits et la fréquence des traitements). Il en résulte une pollution de l'environnement et un déséquilibre des populations naturelles d'insectes, détruisant des insectes utiles (syrphes, chrysopes) et laissant la place libre aux insectes nuisibles, en particulier les pucerons et les acariens. De plus, ces

traitements ne peuvent pas être efficaces à 100 % car la larve doit être détruite avant qu'elle ne pénètre dans les tissus de la plante ; ensuite, elle est protégée. Or les conditions climatiques sont parfois telles qu'il est difficile d'intervenir au moment adéquat. Une lutte biologique est possible, soit par des granulés à base de *Bacillus thuringiensis* (bactérie inactivée, mais qui a produit les cristaux de la toxine *Bt)*, soit par le trichogramme, un petit hyménoptère dont la larve se développe dans les œufs de pyrale. Mais ces deux moyens de lutte ne sont pas toujours très efficaces : les traitements avec les granulés *Bt* doivent être appliqués plusieurs fois, et malgré de grands progrès réalisés, le trichogramme n'a pas l'efficacité attendue selon les conditions climatiques, surtout en cas de forte attaque. De plus, les capsules de trichogrammes sont apportées manuellement, car elles ne doivent pas toucher le sol : c'est donc une technique coûteuse (43 euros/ha). En France, seulement 50 000 à 60 000 ha sont ainsi traités contre la pyrale.

La solution idéale pour lutter efficacement contre la pyrale serait d'avoir une plante qui fabrique dans les tissus attaqués des molécules insecticides, susceptibles de tuer les jeunes larves dès qu'elles pénétreraient dans la plante. C'est bien ce qui était recherché avec les résistances génétiques « naturelles » (Anglade, 1989) dont nous avons souligné les limites. La transgénèse, avec l'utilisation du gène *Bt Cry1Ab* apporte une solution pour une protection efficace, par le même principe que la lutte génétique naturelle : la plante produit un facteur « d'antibiose », la toxine *Bt*. En l'absence de pyrale, les variétés transgéniques résistantes aux insectes ont la même production (à l'effet du backcross près, voir chap. 2), mais en présence d'une infestation par ce papillon, leur rendement peut être de 20 % supérieur ou plus (par rapport à l'absence de traitement). De plus, par la présence de la toxine dans tous les tissus des feuilles et des tiges, la protection est bien plus efficace qu'avec n'importe quelle autre méthode, car les chenilles dans les galeries sont atteintes quelles que soient les conditions climatiques. Enfin, en dehors de la plante vivante, la molécule est très facilement détruite par le rayonnement UV, elle se dégrade aussi dans le sol sans risquer de polluer l'environnement (voir chapitre 6). À noter que les différents événements de transformation n'ont pas tous la même efficacité ; ainsi parmi les trois événements actuellement utilisés (homologués) : *Bt11* (*Cry1Ab*) et *Mon810* sont plus efficaces que *Bt176* (*Cry1Ab*) apparu relativement peu efficace en Espagne.

La résistance du maïs à la pyrale a une conséquence favorable au niveau sanitaire. En effet, chez un maïs normal, non traité, les chenilles mineuses font des galeries dans les tiges et dans l'épi. Ces galeries permettent le développement de champignons microscopiques (moisissures) comme les *Fusarium*, qui produisent des mycotoxines (fumonisines) très toxiques pour l'homme et les animaux (chevaux, porcs). D'autres mycotoxines, tout aussi dangereuses peuvent être présentes comme les aflatoxines issues d'un autre champignon *Aspergillus falvus*. D'après des tests réalisés sur la souris, les fumonisines agissent sur le système nerveux, dégradent le système immunitaire et ont un effet cancérigène au niveau du foie (Gelderblom *et al*., 2001). Chez le porc et le poulet, Piva *et al*. (2001a et b) ont observé une croissance plus faible chez un maïs contaminé en fumonisine que chez un maïs sain *Bt*, isogénique. Cela signifie que la toxine peut aussi affecter le métabolisme général. Des intoxications par les aflatoxines, létales pour l'homme, ont déjà été observées (Chao *et al*., 1991). La preuve de ce risque sanitaire a été apportée par

des contrôles réalisés en Angleterre (octobre 2003) qui ont révélé une contamination importante de produits dérivés de maïs bio. Ainsi, 32 produits dérivés de ces lots de maïs ont dus être retirés du marché (*Food Standard Agency,* 2003). Les variétés *Bt* apportent une solution pour se protéger de ce risque. Des études faites aux États-Unis montrent une très nette réduction des teneurs en fumonisines avec les hybrides *Bt* (de 4 à 8 fois plus faibles que celles des maïs conventionnels, Munckvold et Hellmich, 1999). On trouve toutefois une différence nette entre les événements de transformation : avec *Bt176* on observe un moins bon contrôle de la fumonisine, ce qui est cohérent avec son efficacité plus faible que celle des deux autres événements utilisés (Munckvold, 2000).

Les variétés transgéniques produisant une toxine *Bt* permettent également de lutter contre la sésamie (un diptère qui pond dans le cornet foliaire du maïs au stade jeune et dont les larves peuvent endommager fortement, voire détruire, l'apex végétatif) et contre la chrysomèle des racines du maïs (*Diabrotica virgifera virgifera*), insecte pour lequel aucune résistance naturelle n'est connue chez le maïs. Ce coléoptère n'était pas observé en Europe avant 1992, mais bien connu aux États-Unis où ses dégâts sont plus importants que ceux engendrés par la pyrale. Il serait arrivé en Europe, par transports aériens, des États-Unis via la Serbie, suite à la guerre en Yougoslavie. Il a été détecté en 2002 dans le Bassin parisien, où il est sans doute arrivé par les aéroports du Bourget et de Roissy. En l'absence de résistance variétale, la seule solution est l'utilisation d'insecticides classiques, avec le risque d'apparition de races résistantes aux organophosphorés et aux carbamates comme cela a déjà été observé aux États-Unis. Les variétés transgéniques résistantes aux insectes apporteraient une réponse rapide à ce problème. La toxine *Cry3Bb* s'est révélée efficace contre la chrysomèle et le gène codant pour cette protéine est déjà utilisé par Monsanto (événement *Mon863*). La quantité de toxine produite par cet événement n'entraîne que 40 à 50 % de mortalité des larves, mais ce serait suffisant pour assurer une protection. Pour augmenter l'efficacité de la protection, les entreprises Pioneer et Dow ont mis au point un maïs avec deux gènes codant pour les toxines *Cry34Ab1* et *Cry35Ab1* (Bourguet *et al*., 2002). Pour cumuler la résistance à la pyrale et la résistance à la chrysomèle dans un même génotype il faut réunir les transgènes entraînant la résistance à ces deux ravageurs, par exemple *Mon810 + Mon863.* Dans le cas d'une variété hybride simple, cela se fait simplement en croisant un parent femelle porteur d'un événement avec un parent mâle porteur de l'autre événement.

Sur le plan technique et environnemental, le bilan des maïs *Bt* résistants aux insectes apparaît positif :

– pas d'utilisation d'insecticides ou diminution des quantités utilisées donc pas ou peu de pollution,

– meilleur respect des autres populations d'insectes non-cibles, alors que les insecticides classiques détruisent les coccinelles, les thrips prédateurs et l'hyménoptère parasite des pucerons,

– pas d'effets secondaires, même indirects, car il s'agit d'une molécule non toxique, et à dégradation rapide dans la plante et même dans les sols (sauf en sols argileux),

– un produit (grain) plus sain, sans mycotoxine, donc sans risque pour la consommation humaine ou animale.

Bilan économique

Le maïs *Bt* résistant à la pyrale ne présente évidemment aucun intérêt économique en l'absence d'attaque de pyrale. Même en cas d'attaque, les pertes de rendement sont très variables (de 0 à plus de 30 %, en moyenne environ 15 % en France) ; le gain par le traitement sera lui aussi très variable. Avec une attaque faible, l'agriculteur sera perdant par rapport à la culture conventionnelle car les semences transgéniques ont un surcoût de 20 à 30 euros/ha (d'après les données actuelles aux États-Unis). L'intérêt économique des maïs résistants aux insectes ne peut apparaître que dans les zones où les attaques de pyrale sont assez fortes et systématiques. Si la probabilité d'attaque est trop faible, l'agriculteur n'a aucun intérêt à choisir une variété *Bt*. En cas d'attaque, pour que l'utilisation des variétés transgéniques résistantes aux insectes soit justifiée, le gain de rendement doit être supérieur au surcoût de semences transgéniques, autrement dit, l'attaque doit être supérieure à un certain seuil (encadré 4.1 et fig. 4.1 ; Lemarié, 2001). C'est ce qui peut expliquer la plus faible progression du maïs transgénique résistant aux insectes par rapport à la progression spectaculaire du soja transgénique résistant aux herbicides : il faut toujours désherber le soja alors qu'il ne faut pas toujours traiter le maïs contre la pyrale. Cependant, les études de l'USDA montrent qu'en 1998 les agriculteurs avaient investi à perte (perte due également à la baisse du prix du maïs payé à l'agriculteur), traduisant une sur-adoption des variétés transgéniques résistantes aux insectes. Cette sur-adoption des variétés transgéniques résistantes aux insectes qui semble persister pourrait correspondre à une forme d'assurance dans les zones où les attaques de pyrale ne sont pas systématiques.

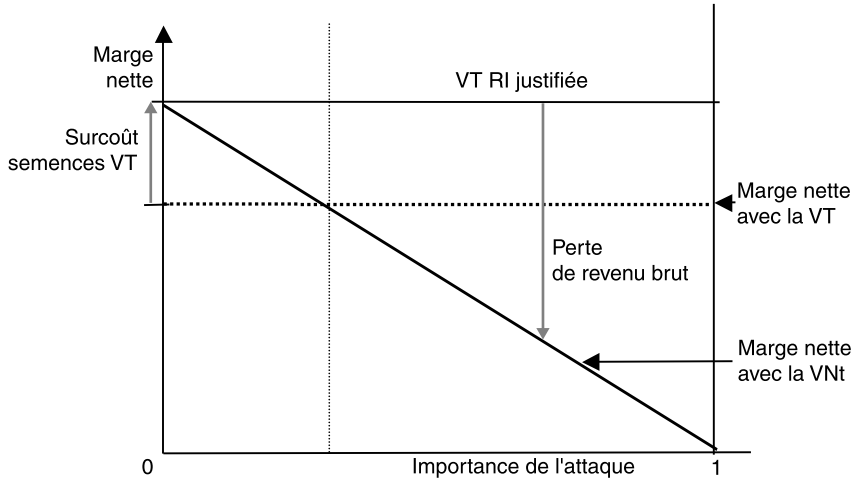


Figure 4.1. Intérêt économique des variétés transgéniques résistantes aux insectes (VT RI).
La droite en trait gras représente la marge nette avec utilisation d'une variété normale non traitée (VNt) ; la droite horizontale en pointillé représente la marge nette avec une variété transgénique résistante aux insectes. L'intérêt d'une variété transgénique résistante aux insectes est évidemment plus grand avec une forte attaque des insectes (RI). Cependant, avec une attaque faible, le surcoût des semences transgéniques pourra être trop élevé, supérieur au coût de la perte de rendement sur la variété normale, ce qui conduira à une marge plus faible, voire à une perte. Pour ce graphique, on suppose que la protection par le transgène est totale ; l'importance de l'attaque est mesurée par la perte relative de rendement qu'elle entraîne ; elle peut donc varier de 0 à 1.

Encadré 4.1. Intérêt économique des variétés transgéniques résistantes aux insectes

L'intérêt économique des variétés transgéniques résistantes aux insectes peut s'aborder de façon assez simple d'un point de vue théorique afin d'en faire ressortir les principaux paramètres. Cette démarche s'applique aussi au cas de variétés transgéniques résistantes aux maladies.

Considérons une variété donnée, dans un milieu donné. Soit P_0 le produit brut par hectare (rendement × prix de la récolte) obtenu avec une variété normale non transgénique. Supposons que le transgène de résistance introduit dans cette variété, en l'absence d'attaque ne change pas la production et qu'en cas d'attaque, il protège totalement la variété. Alors, le produit brut avec la variété transgénique (VT), en présence d'attaque est égal au produit brut avec la variété non-transgénique en l'absence d'attaque, soit P_0. La marge nette sera :

$$M_{VT} = P_0 - p_{SVT} - Ch,$$

p_{SVT} représentant le coût des semences de la variété transgénique et Ch les autres charges.

Avec la variété non-transgénique (NT), en présence d'attaque, il faut retirer de P_0 le prix des semences (p_{SNT}), les autres charges (Ch) et la perte de récolte. Nous supposerons que les autres charges sont identiques. La perte de récolte peut s'exprimer en fonction du degré d'attaque *a* égal au rapport de la perte de rendement au rendement sans attaque. D'où la marge nette

$$M_{NT} = P_0 - p_{SNT} - C\ h - a\ P_0 = (\ 1 - a)\ P_0 - p_{SNT} - Ch.$$

La figure 4.1 représente les marges pour les deux types de variétés, pour des prix de semences et un rendement maximum fixé. Les deux marges sont égales lorsque le surcoût des semences transgéniques est égal à la perte de revenu brut d'une variété non-transgénique avec attaque. Si la perte de revenu brut est supérieure au surcoût des semences de variétés transgéniques, les variétés transgéniques résistantes aux insectes sont justifiées, mais si cette perte est inférieure au surcoût des semences, les variétés transgéniques résistantes aux insectes ne sont pas justifiées, elles conduisent à une diminution de la marge nette.

L'efficacité de la protection par le transgène peut dépendre du degré d'attaque ; dans ce cas il y aurait une perte de rendement même avec la variété transgénique ; cela diminue donc l'écart entre les marges brutes.

Enfin la comparaison des marges peut être faite entre une culture protégée chimiquement et une culture d'une variété transgénique. Dans ce cas là aussi plusieurs hypothèses peuvent être faites, soit le traitement a une efficacité totale, soit il limite les effets négatifs de l'attaque sans les supprimer totalement. Pour simplifier, si l'on compare la première situation à celle d'une culture transgénique avec efficacité totale du transgène, la différence des marges nettes peut s'écrire :

$$M_{VT} - M_{NT} = C_{tr} - (p_{SVT} - p_{SNT}) > 0\ ,$$

C_{tr} étant le coût du traitement chimique. Les variétés transgéniques sont évidemment justifiées lorsque le surcoût des semences transgéniques est inférieur au coût du traitement chimique.

Un bilan économique sur une assez longue période (dix ans) serait donc nécessaire ; il permettrait de tenir compte de la variation des cours.

Une simulation réalisée en France, en comparant le rendement d'un maïs traité par rapport à un maïs non traité, montre que dans le Bassin parisien, entre 1995 et 1999, le bilan n'aurait été favorable aux variétés transgéniques résistantes aux insectes qu'en 1995. En revanche, en Aquitaine, sur la même période, le bilan aurait été positif quatre années sur cinq avec un gain moyen de 23 euros/ha (Lemarié *et al*., 2001), ce qui est très inférieur au chiffre peu réaliste de 132 euros/ha donné par le NCFAP (Gianessi *et al*., 2003).

Évolution des surfaces en maïs *Bt* aux États-Unis

Les surfaces en maïs *Bt* aux États-Unis semblent s'être stabilisées autour de 25 % (19 % en 2000, 18 % en 2001, 22 % en 2002, 25 % en 2003, 27 % en 2004), avec toutefois une grande variation par État (41 % dans le Nebraska, 37 % dans l'Iowa mais seulement 10 % dans l'Indiana et dans l'Ohio, d'après site USDA). Trois facteurs pourraient expliquer cette stabilisation par rapport au soja (Bourguet *et al*., 2002, 2003) :

– le coût des semences des variétés *Bt* qui peut entraîner une perte de revenu net pour l'agriculteur lorsque l'attaque de pyrale n'est pas supérieure à un certain seuil (fig. 4.1). Or, pour de nombreux agriculteurs, ce seuil n'est pas dépassé, donc les variétés transgéniques *Bt* ne sont pas justifiées ;

– une réduction de la taille des populations de pyrale entre 1996 et 2001, parallèlement à la diffusion des variétés *Bt*, sans toutefois que l'on puisse établir une relation de cause à effet. Quoi qu'il en soit, cette évolution n'a évidemment pas incité les agriculteurs à opter pour des variétés *Bt* ;

– l'importance des zones refuges (zones avec des variétés non transgéniques, cultivées normalement, représentant 20 % des cultures en maïs dans le corn belt et 50 % dans la zone cotonnière du sud, voir chap. 4), voulue par l'EPA *(Environmental Protection Agency)*.

Le cotonnier *Bt*

Le cotonnier est une plante très sensible aux insectes ; ils peuvent provoquer des pertes importantes de rendement si les traitements ne sont pas appliqués assez fréquemment. Dans certaines zones (sud des États-Unis) plus de 10 traitements en cours de végétation sont nécessaires contre les lépidoptères. En Chine, par suite des conditions climatiques favorables au développement de l'insecte, le nombre de traitements peut atteindre une vingtaine (Huang *et al.*, 2001). Ainsi la culture du cotonnier reçoit à elle seule environ 25 % de la quantité d'insecticides utilisée dans le monde. Il en résulte deux avantages importants des variétés transgéniques résistantes aux insectes : tout d'abord une réduction du nombre de traitements, chiffrée aux États-Unis à 3,5 en moyenne (de 1 à 7,7 selon une série d'études menées de 1997 à 2001) ; ensuite une réduction très significative de la quantité d'insecticide utilisée, entre 20 à 80 % selon les milieux et les années. Ainsi pour l'année 1998 la diminution des applications aux États-Unis a été estimée à plus de 950 tonnes de matière active, soit 1 kg/ha ; pour 2000, la réduction est estimée à 1 360 tonnes de produit commercial Edge *et al.,* 2001). L'utilisation du cotonnier *Bt* ne supprime donc pas totalement les applications d'insecticides, mais réduit très significativement le

nombre de traitements et la quantité totale répandue au profit de spécialités moins chères et plus souples d'emploi. En Chine, avec les variétés transgéniques de cotonnier résistantes aux insectes l'emploi d'insecticide est passé de 48-55 kg/ha à 10 kg/ha, soit une quantité 5 fois moins importante (Huang *et al.*, 2001 ; Pray *et al.*, 2002). Au Mexique, des réductions de 80 % des quantités d'insecticides utilisées ont été observées (Traxler et Godoy-Avila, 2004). En Inde, Zilberman et Qaim (2003) citent des réductions de 65 à 70 % (voir p. 138).

Bilan économique pour l'agriculteur

Pour qu'il y ait un intérêt économique pour l'agriculteur, en se plaçant seulement au niveau du revenu d'une parcelle, le surcoût des semences doit être inférieur au gain dû à l'amélioration des rendements et à la réduction des autres charges.

Pour le cotonnier *Bt* la pression des insectes ravageurs est plus systématique et plus forte que pour le maïs *Bt* et les avantages économiques des variétés transgéniques résistantes aux insectes sont très nets : il en résulte une plus forte augmentation des surfaces en variétés résistantes aux insectes. Dans ce cas, il semble y avoir accord de différentes études pour reconnaître une nette diminution de l'utilisation des insecticides par l'utilisation de variétés transgéniques. Le surcoût de la semence (aux États-Unis) est nettement plus élevé que pour les variétés transgéniques résistantes aux herbicides (80-90 euros/ha, car le coût des semences dépend en partie de l'économie réalisée sur les traitements). Le gain « brut » se situerait vers 30-40 $/acre (70-90 euros/ha), avec une économie en insecticide de l'ordre de 75 $/ha (Marra *et al.,* 1998 ; Mullins et Mills, 1999 ; Edge *et al*., 2001 ; Lemarié, 2001). En 1999 aux États-Unis le gain a atteint 52 euros/ha en moyenne, ce qui est assez cohérent avec les chiffres des études précédentes. Cependant les résultats sont très variables d'un état à l'autre : l'augmentation de rendement a été de 2 % avec un revenu net de 2,55 $/ha au Mississipi, contre 19 % et 83,32 $/ha en Oklahoma.

Aux États-Unis, une étude au niveau macro-économique, montre que les bénéfices de la culture de cotonnier transgénique pourraient se répartir de la façon suivante, selon la méthode d'estimation : 40-60 % pour les agriculteurs, 26-46 % pour l'entreprise innovatrice Monsanto, 6-10 % pour le consommateur *(cotton shippers, brokers, mill buyers),* et 5 % environ pour le reste des acteurs (Price *et al*., 2004, *Economic Research Service*, USDA). L'agriculteur américain recevrait au moins autant que la firme innovatrice. Le gain pour le consommateur résulte en fait de la baisse des prix (de 1 à 1,6 $/kg) due à l'augmentation des quantités produites. Cependant, la répartition des gains entre agriculteurs et consommateurs dépendrait de l'importance de cette baisse. Si les prix ne baissent pas trop, les agriculteurs garderaient une grande partie des gains. Mais si les prix baissent beaucoup, c'est le consommateur qui bénéficierait des gains, l'agriculteur pouvant même y perdre (Lemarié, communication personnelle).

Bilan des avantages des variétés transgéniques résistantes aux insectes

À travers les exemples du maïs et du cotonnier *Bt*, les avantages des variétés transgéniques résistantes aux insectes pour l'agriculteur sont les suivants :
– une nette diminution du nombre de traitements insecticides avec une économie d'insecticides et une économie de main d'œuvre. L'intérêt économique est très net pour le producteur de coton alors qu'il n'existe pas toujours pour le maïs *Bt* ;

– un meilleur respect de l'environnement (moins de pollution par les insecticides utilisés en grande quantité, meilleur respect de la faune non-cible) ;
– une efficacité améliorée du contrôle des insectes ravageurs, qui devient indépendante des conditions climatiques ;
– un gain en sécurité pour les agriculteurs (les produits insecticides étant dangereux pour l'homme).

Les avantages économiques en Europe dépendront beaucoup du coût de la séparation des filières de production OGM et non-OGM (voir chap. 6).

La résistance aux herbicides

Éléments généraux

La nécessité et la difficulté du désherbage chimique

Les mauvaises herbes, par leur pouvoir de compétition, peuvent être la cause de pertes importantes de production. Avant le désherbage chimique, il existait parmi les plantes de grandes cultures, les plantes sarclées comme la betterave et même le maïs, et les plantes non sarclées, comme les céréales à paille. Pour les plantes sarclées, le désherbage manuel était très coûteux en main d'œuvre, et souvent il ne pouvait pas être fait suffisamment tôt pour éviter la compétition au stade jeune. Pour les céréales à paille, il était pratiquement impossible d'éviter l'effet de la compétition des mauvaises herbes, malgré quelques passages de herse ou de bineuse pour tenter de diminuer la population de mauvaises herbes et même de rouleau pour favoriser le tallage et la couverture du sol. La limitation de la population de mauvaises herbes est d'ailleurs le problème essentiel de la production de céréales en agriculture biologique. Le désherbage chimique a donc été une grande innovation pour l'agriculture. Il en est résulté une économie de temps, une plus grande efficacité du désherbage, avec une meilleure valorisation des intrants (engrais, eau, traitements) et une augmentation de la production et de sa stabilité. Cela a nécessité la mise au point de molécules spécifiques, sélectives d'une espèce ou d'un groupe d'espèces. Mais, il n'a pas toujours été possible de trouver des herbicides spécifiques de certaines espèces et il arrive aussi que certaines variétés au sein de la même espèce posent des problèmes (de même, les lignées de maïs sont plus sensibles que les hybrides, ce qui peut poser de problèmes au niveau de la production de semences). Avec un produit par culture, ou presque, voire plusieurs pour certaines cultures, la gestion du désherbage est devenue difficile dans une exploitation de polyculture. Deux principaux types de traitements sont employés : des traitements en pré-levée (avant la levée de la culture et des mauvaises herbes), et des traitements en post-levée (qui doivent être raisonnés en fonction du stade des mauvaises herbes et de la culture). Cependant, les conditions climatiques ne permettent pas toujours l'intervention au bon stade. De plus, avec les herbicides classiques de plus en plus de cas de mauvaises herbes résistantes sont apparus, ce qui diminue leur efficacité et peut même conduire à leur abandon. Par exemple : la résistance aux triazines de certaines dicotylédones est apparue dès 1974 aux États-Unis puis en Europe ; la résistance à l'acétolactate synthase (ALS) de l'amarante, du séneçon et de la morelle noire à partir de 2000, est aussi apparue aux États-Unis de 1997 à 2000.

Enfin les herbicides ne sont pas sans danger pour l'homme qui les manipule, voire pour le consommateur, et surtout pour l'environnement. Certains herbicides (dits systémiques, car ils pénètrent et circulent dans la plante) ou leurs produits de dégradation s'accumuleraient dans des organes de réserves comme la racine. En principe, les variétés transgéniques avec un gène qui faciliterait la dégradation de l'herbicide présenteraient moins de risque de ce point de vue, mais cela n'est pas clairement démontré (rapport Afssa 2004, voir chap. 5). Cependant de nouveaux événements de transformation qui auraient une meilleure aptitude à dégrader l'herbicide ont été mis au point (Dale *et al*., 1998). En ce qui concerne le danger pour l'environnement, la pollution des nappes phréatiques par l'atrazine (anti-dicotylédones), herbicide aujourd'hui interdit, est un exemple bien connu. Cependant avec la suppression de l'atrazine le désherbage du maïs est devenu très difficile et demande l'utilisation de plusieurs produits, avec une grande expertise (AGPM, 2004).

L'apport des variétés transgéniques résistantes aux herbicides et les molécules utilisées

Un des premiers avantages des variétés transgéniques résistantes aux herbicides est de permettre l'utilisation d'un désherbant total, non sélectif, qui détruit toutes les plantes, quel que soit leur stade, sauf celles qui seront protégées par un transgène permettant à la plante de résister par détoxification en métabolisant l'herbicide ou par modification des propriétés de la cible. La même molécule peut alors être utilisée pour toutes les espèces. Le traitement étant efficace quel que soit le stade, il gagnera en souplesse et en efficacité, en devenant beaucoup moins dépendant des conditions climatiques.

Les deux molécules les plus utilisées (pénétrant toutes les deux par voie foliaire) sont :

• *le glyphosate* (*Roundup*®) : c'est un herbicide total, inhibiteur spécifique d'une enzyme importante pour la formation des acides aminés aromatiques pour lequel très peu de mutations de résistance sont observées au niveau bactérien. C'est une molécule bien connue, très utilisée pour le désherbage total bien avant l'arrivée des variétés transgéniques résistantes aux herbicides (en interculture, ou pour le désherbage de cultures pérennes comme les arbres fruitiers, ou encore l'entretien des voies ferrées, principal marché de Monsanto dans les années 1970). Elle est facilement détruite dans le sol (durée de vie de 60 jours), peu mobile, peu toxique pour les animaux (dose létale 50 : 4 900 mg/kg ; dose journalière admissible : 0,05 mg/kg/jour). Chez les plantes non résistantes, le glyphosate inhibe l'activité de l'EPSPS (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase), une enzyme, qui, dans le chloroplaste, catalyse la formation d'acides aminés aromatiques, le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine ; leur synthèse étant bloquée, de nombreux chemins métaboliques sont affectés, la plante s'épuise et meurt. La résistance est obtenue par modification du site de fixation de l'herbicide telle que l'enzyme devient insensible au glyphosate (Padgette *et al*., 1995). Dans la majorité des cas (soja, cotonnier, maïs, colza, betterave) elle a été obtenue par le transfert d'un gène d'*Agrobacterium* codant pour une EPSPS particulièrement tolérante au glyphosate ; dans le cas du maïs, elle a aussi été obtenue par mutagénèse *in vitro* du gène de l'EPSPS du maïs. Ces transgènes sont construits pour s'exprimer au niveau du chloroplaste avec un promoteur 35S et

une séquence codant pour un peptide de transfert vers le chloroplaste, issue du pétunia. Chez les plantes transformées ainsi obtenues, dites *Roundup® Ready* ou RR, la dégradation de l'herbicide est assez faible ou nulle, sauf chez le soja. Pour avoir une métabolisation assez rapide (cas du canola RR) on associe au transgène de l'EPSPS le gène de la glyphosate oxydo-réductase (GOX) issu d'une souche d'une bactérie *Achromobacter*, codant pour une enzyme de métabolisation. Dans ce cas, la dégradation du glyphosate produit l'acide aminométhylphosphinique (AMPA) comme par la dégradation naturelle.

• *le glufosinate* ou *phosphinotricine* (Basta®) : c'est un inhibiteur de la glutamine synthétase (GS), enzyme qui transforme l'ammonium en glutamate. Il en résulte l'accumulation d'ammonium, plus particulièrement dans les plastes où il devient rapidement toxique. Il s'agit aussi d'une molécule qui se dégrade facilement dans le sol. Dans une première voie, la résistance est obtenue par surexpression de la molécule cible (la GS) qui conduit à une production permanente d'une quantité suffisante de l'enzyme. Cette voie n'a pratiquement pas été utilisée. Une deuxième voie a consisté à rechercher un gène permettant la détoxification. Ce gène (*bar*) a été trouvé chez une moisissure *Streptomyces hygroscopus* (bactérie qui synthétise un composé, le bialophos, dont dérive la phosphinotricine) ; il code pour la phosphinotricine acétyl-transférase (PAT) qui protège la bactérie par une réaction de N-acétylation (Scalla, 1997). L'efficacité du système de détoxification peut être débordée avec de fortes doses d'herbicide, surtout par température basse. Ce système de résistance correspond aux variétés *Liberty Link* de Bayer CropScience.

Les deux molécules étant efficaces quelles que soient les conditions, il devrait en résulter des économies d'herbicides par ajustement aux besoins réels, avec moins de risque de pollution de l'environnement qu'avec les molécules classiques.

Les variétés transgéniques résistantes aux herbicides ont surtout été développées chez le soja aux États-Unis et sur le colza de printemps (canola) au Canada, deux espèces pour lesquels les problèmes de désherbage sont cruciaux. Chez le maïs il existe aussi un certain développement. Mais pour le maïs, le désherbage chimique (avec l'atrazine encore autorisée aux États-Unis) reste efficace et peu coûteux ; l'interdiction de l'atrazine pourrait relancer l'intérêt des variétés transgéniques résistantes aux herbicides de maïs.

Le soja résistant aux herbicides

Valeur agronomique du soja RR

L'évolution des surfaces en variétés transgéniques résistantes aux herbicides aux États-Unis a été très rapide, ce qui témoigne des avantages de ces variétés pour les agriculteurs américains. Aujourd'hui elles couvrent 80 % de la surface en soja, et au niveau des nouvelles variétés elles représentaient 75,9 % des essais officiels à l'université de l'Illinois en 2001. Cela signifie la quasi-disparition dans un terme proche des variétés non transgéniques. Or, les variétés actuelles résistantes aux herbicides ont en moyenne un rendement inférieur aux variétés normales (Elmore *et al.*, 2001) : 3,9 bushel/acre de moins soit 2,62 q/ha, dans les études de Raymer et

Grey (2003, fig. 4.2). Cela souligne encore plus l'intérêt que leur portent les agriculteurs. Cette infériorité peut être due à trois facteurs :

• *l'amélioration des variétés non résistantes aux herbicides pendant la mise au point des variétés résistantes aux herbicides* : les progrès continuent sur les variétés non résistantes aux herbicides, donc il est normal de trouver une infériorité des variétés résistantes aux herbicides par rapport aux non résistantes aux herbicides ; cependant, avec un progrès de 0,5 % par an (20 kg/ha/an) au niveau des variétés non résistantes aux herbicides, ce facteur est insuffisant pour expliquer l'infériorité observée ;

• *le « linkage drag »* c'est-à-dire la transmission au cours des programmes de rétrocroisements d'autres gènes avec le transgène RR. En effet, comme nous l'avons vu, la plupart des programmes de transgénèse font appel au rétrocroisement : le transgène est introduit dans un génotype qui se prête assez bien à la transformation, on sélectionne un événement de transformation qui n'a pas d'effet défavorable, et cet événement est transmis par rétrocroisement aux autres génotypes. Même s'il n'y a pas d'association négative entre l'aptitude à la transformation et le rendement, le génotype donneur du transgène n'est en général pas parmi les meilleurs génotypes. De plus, pendant la durée de l'introduction, le rendement des variétés conventionnelles progresse. Comme en introduisant le transgène par rétrocroisement on introduit aussi d'autres gènes qui lui sont liés (cela peut représenter plus du tiers du chromosome, voir chap. 2), ceux-ci venant d'un génotype moins performant contribuent à diminuer la performance du génotype introgressé. Ils seront d'autant plus nombreux que le programme de rétrocroisement aura été arrêté tôt, après le 3e ou le 4e rétrocroisement, ce qui est souvent le cas chez le soja pour gagner du temps dans la création variétale (Raymer et Grey, 2003). Cet effet a pratiquement toujours été observé au cours des programmes de rétrocroisement (voir exemples betterave et colza, fig. 2.9).

• *un effet défavorable lié au transgène RR ou à la culture des plantes RR*. Cet effet pourrait avoir deux origines : un effet défavorable pléiotropique du gène, qui affec-

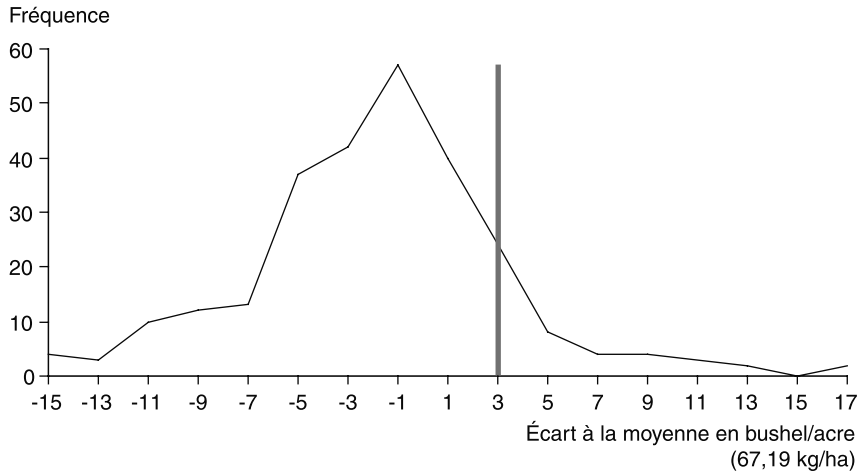


Figure 4.2. Distribution des rendements de variétés de soja transgénique résistantes aux herbicides (Raymer et Grey, 2003). La ligne verticale en gris représente la moyenne des variétés non-transgéniques.

terait d'autres fonctions physiologiques, et un effet de l'application de glyphosate. Sur ce point, les résultats sont contradictoires.

L'effet d'entraînement par *linkage*, qui est la cause la plus probable, est appelé à disparaître au cours des cycles de sélection, si les croisements de départ font intervenir du matériel transformé. Il n'en reste pas moins que dans la phase de transition, les variétés transgéniques résistantes aux herbicides ont un rendement inférieur. Cela n'a pas empêché les agriculteurs de les choisir, parce qu'elles leur simplifient beaucoup le problème du désherbage, et finalement parce qu'elles présentent un intérêt économique (voir ci-dessous). Aujourd'hui, on peut dire que les efforts de la sélection portent essentiellement sur des variétés RR. Dans un avenir très proche aux États-Unis, elles auront totalement remplacé les variétés normales ; compte tenu des investissements faits, elles seront alors aussi productives, voire plus productives, que les variétés non transgéniques actuelles.

Intérêt économique du soja RR

Le développement spectaculaire des variétés transgéniques résistantes aux herbicides chez le soja aux États-Unis est bien une preuve qu'elles ont des avantages qui ont séduit les agriculteurs. On peut aussi remarquer le développement « clandestin » du soja résistant aux herbicides au Brésil, alors qu'il était théoriquement interdit ; mais les agriculteurs à la frontière avec l'Argentine en ont vite compris les avantages.

Les raisons de ce développement très rapide du soja résistant aux herbicides tiennent essentiellement à une simplification des pratiques agricoles, par le semis sans labour, d'où une économie de carburant et une érosion moindre, ce qui est très important aux États-Unis et surtout au Brésil. Auparavant les agriculteurs utilisaient plusieurs herbicides, car les adventices étaient difficiles à contrôler et au moins deux traitements herbicides étaient nécessaires. Avec les variétés résistantes aux herbicides un seul traitement peut suffire, ce qui, en moyenne, réduit le temps de travail. Par ailleurs, la période où l'on peut traiter est plus longue, ce qui diminue les risques d'intervenir trop tard : il en résulte une plus grande souplesse. Enfin les herbicides « classiques » sont plus rémanents (cas de l'atrazine, maintenant interdit) et peuvent affecter les cultures suivantes : la rotation est donc plus facile avec les variétés résistantes aux herbicides et la lutte est plus efficace contre toutes les adventices.

L'avantage économique du soja résistant aux herbicides dépend de plusieurs facteurs (Bonny, 2004a) :
– le surcoût de la semence ou *technology fee* : pour le soja entre 1998 et 2000 il a été de 15 à 30 euros/ha ;
– la dépense en herbicides dans la culture « conventionnelle », en moyenne elle est plus élevée, jusqu'à deux fois plus, le désherbage étant même « raté » dans certaines conditions. Avec les variétés transgéniques résistantes aux herbicides, la diminution du risque de désherbage raté doit être prise en considération. Les études réalisées aux États-Unis montrent une économie de 10 % seulement dans les quantités d'herbicide ;
– le rendement : les variétés résistantes aux herbicides sont actuellement sensiblement moins productives que les variétés conventionnelles, mais cela n'est que temporaire. Cela pourrait être plus ou moins compensé par un prix supérieur du soja résistant aux herbicides, la récolte étant plus propre (moins d'impuretés et moins d'adventices) ;

– la valorisation du temps de travail économisé par la diminution du nombre de traitements et le développement de la culture sans labour ;
– l'économie d'énergie (culture sans labour et du nombre de passages) ;
– les conséquences au niveau de l'exploitation.

Il résulte des trois premiers facteurs une marge assez voisine de celle de la culture normale (le coût des autres herbicides ayant baissé, comme conséquence du développement des variétés transgéniques résistantes aux herbicides) : le poste semences + herbicides tend bien à être plus faible pour les variétés résistantes aux herbicides. Des gains de 46 euros/ha ont été estimés aux États-Unis sans tenir compte des gains indirects. Lemarié (2001) montre un gain de 16 à 32 euros/ha, avec des économies sur l'herbicide de 65 à 80 euros/ha et un surcoût des semences de 44 à 60 euros/ha. Cependant des résultats contradictoires montrent l'absence de diminution, voire une augmentation de la quantité d'herbicide (Benbrock, 2003 ; Murray, 2003). Les études ne sont pas toujours complètes, et claires. Qu'il y ait globalement eu augmentation de l'utilisation du glyphosate est une évidence. Il est aussi possible qu'au début les agriculteurs aient « forcé » les doses par un manque de maîtrise d'une nouvelle technique avec la recherche d'une assurance désherbage, tout en se simplifiant le travail, sachant que la plante cultivée résiste. Ils ont réalisé un seul ou deux passages, mais à forte dose. Un tel comportement, s'il a vraiment existé, devrait disparaître.

Au niveau macro-économique, différentes études (*Economic Research Service*-USDA ; Moschini, 2001, Price *et al*., 2004) montrent que pour la société, les bénéfices liés à la culture du soja transgénique pourraient se répartir de la façon suivante : environ 20 % des bénéfices iraient à l'agriculteur, 40 % à l'entreprise innovatrice, et environ 40 % au consommateur. Il est en particulier à noter que le développement des variétés résistantes aux herbicides a entraîné une baisse du coût des traitements herbicides qui bénéficie aux agriculteurs utilisant des semences conventionnelles, car les entreprises agro-chimiques pour limiter leurs pertes et rester concurrentielles ont baissé les prix des herbicides classiques (Bullock et Nitsi, 2001 ; Kalaitzandonakes, 2003). Une telle évolution, outre qu'elle n'incite pas à une réduction de l'usage des herbicides, rend difficile l'étude de l'intérêt économique des variétés transgéniques résistantes aux herbicides par rapport à une variété normale.

Autres espèces

Le colza (canola) résistant aux herbicides

– Changement des méthodes de culture

Comme pour le soja, l'utilisation des variétés transgéniques résistantes aux herbicides entraîne un changement dans les méthodes de culture, avec le développement des techniques sans labour. Au Canada, la pratique de la culture sans labour représente 50 % des agriculteurs ayant adopté les variétés transgéniques résistantes aux herbicides contre 35 % chez les agriculteurs utilisant les variétés traditionnelles. Il en résulte aussi des économies importantes de carburant.

– Économie d'herbicide

Des études montrent des économies de 29 % dans les quantités d'herbicide utilisées pour le canola au Canada. En cohérence avec ce chiffre, James (1998) estimait un

gain de 38,7 $/ha par la culture de variétés transgéniques résistantes aux herbicides ; en revanche, Fulton et Keyowski (1999) ont rapporté une perte, à cause d'un rendement plus faible des cultures avec variétés transgéniques, alors que les coûts étaient plutôt inférieurs à ceux des cultures avec des variétés conventionnelles. En France, pour le Colza, des travaux du Cetiom (Messéan, 2000) montrent une réduction possible de 20 à 30 % des quantités de matières actives utilisées, ce qui est plus faible que l'estimation canadienne. Le NCFAP (Gianessi, 2003) estime pour l'Europe une baisse possible des coûts de désherbage de 25 %, avec une augmentation des rendements (due à la suppression de la compétition avec les mauvaises herbes) de 6 %.

– Bilan économique

Dans les régions de l'ouest du Canada, le canola résistant aux herbicides occupe 55 % des surfaces avec les deux technologies (RR de Monsanto et *Liberty Link*® de Bayer CropScience). Dans ce cas les cultivars résistants aux herbicides sont au moins aussi productifs que les cultivars normaux et dans beaucoup de cas supérieurs (Stringam *et al.,* 2003). De 1997 à 2000, il apparaît en moyenne un net avantage économique des variétés résistantes aux herbicides (15 %) avec un rendement plus élevé (tabl. 4.2) : il y a une augmentation des charges, mais celle-ci est nettement inférieure à l'augmentation de revenu brut. Dans une étude publiée en 2001, le *Canola Council of Canada* donnait pour les dépenses en semences par hectare 39,87 DC (dollars canadiens) + 22,38 DC pour la licence + 28,45 DC en herbicide avec une variété transgénique résistante aux herbicides contre 26,06 DC en semences + 46,86 DC en herbicide avec une variété conventionnelle. Avec les variétés transgéniques résistantes aux herbicides il y avait un gain de productivité d'environ 10 % et une économie de travail d'environ 10 DC/ha (environ 11 %). Cependant les agriculteurs affirment là aussi avoir choisi les variétés résistantes aux herbicides d'abord pour des considérations de facilité du travail de désherbage. À noter que depuis plusieurs années de culture (sept ans) il n'est pas encore apparu de gros problème de désherbage : s'il est bien apparu des repousses tolérantes à un ou plusieurs herbicides, leur contrôle s'est fait jusque-là par l'application d'herbicides conventionnels.

Tableau 4.2. Étude économique comparée de la production de canola avec des variétés non transgéniques (NT) et des variétés transgéniques résistantes aux herbicides (RH). D'après Stringam *et al.* (2003).

	Variétés NT	Variétés RH	Gain dû aux variétés RH (%)
Rendement kg/ha	1 498	1 652	+ 10,3
Revenu brut (DC)*/ha	462	514,7	+ 11,4
Coûts directs (DC)/ha	260,4	282,2	+ 8,4
Marge brute (DC)/ha	202,2	232,5	+ 15

* DC : Dollar Canadien.

Le maïs résistant aux herbicides

Aux États-Unis, l'étude du NCFAP montre une réduction possible des coûts dans la culture du maïs de 15 euros/ha par l'utilisation de variétés transgéniques résistantes

aux herbicides. Cependant l'avenir des variétés transgéniques résistantes aux herbicides de maïs dépend beaucoup de celui de l'atrazine, herbicide sélectif des monocotylédones. Cet herbicide est toujours autorisé aux États-Unis, où il est en cours de ré-homologation (le volume total annuel utilisé aux États-Unis, pour la période 1990-1997 est d'environ 34 700 tonnes). En France l'atrazine est interdite depuis 2004 (2003 était une année de transition permettant l'utilisation des stocks). Les solutions alternatives se traduisent par une augmentation des quantités d'herbicides utilisées, avec une augmentation du nombre de traitements (deux passages au lieu d'un seul pré + post-levée ou les deux en post-levée, mais avec plus de contraintes). Il en résulte une augmentation des coûts du désherbage (au moins lorsqu'il y a deux passages) et une efficacité du désherbage en général moindre quelles que soient les stratégies retenues (AGPM, 2004). Il y a aussi le risque de ne pas intervenir à temps pour éviter la compétition entre le maïs et les mauvaises herbes. Sachant que le maïs est sensible à la compétition par les mauvaises herbes au stade jeune, il pourrait en résulter une diminution des rendements. Le désherbage sans atrazine demande davantage de technicité. On se trouve donc dans un cas où la résistance à un herbicide total pourrait être très intéressante d'autant plus que, hors de l'Amérique Centrale, il n'y a aucun risque de croisement du maïs avec des espèces sauvages.

La betterave résistante aux herbicides

La betterave est très sensible à la concurrence des mauvaises herbes : pour éviter les pertes de rendement il est important d'empêcher le développement des adventices pendant au moins deux mois après la levée. Ainsi, 3 à 6 traitements herbicides sont nécessaires (sur 400 000 ha en France), un en pré-levée et 2 à 4 en post-levée. Des travaux réalisés en France montrent que les variétés transgéniques résistantes aux herbicides permettraient de diviser par deux le nombre de traitements. Elles ne nécessiteraient plus qu'une ou deux matières actives alors que 4 à 6 sont actuellement utilisées. Il en résulterait une plus grande souplesse du désherbage, car le traitement serait décalé sans risque de perdre en efficacité en cas de mauvais temps, alors que les herbicides classiques demandent d'intervenir à des stades précis de développement des adventices. De plus, les variétés transgéniques résistantes aux herbicides permettraient aussi un meilleur contrôle des repousses de pomme de terre, des betteraves mauvaises herbes (avant croisement avec les betteraves résistantes) et des plantes vivaces (qui autrement nécessitent des interventions manuelles) et ceci sans phytotoxicité pour la betterave, à la différence des herbicides actuels. Enfin, les études réalisées sous contrôle de la CGB (2001) montrent :
– un gain de rendement de 3 à 5 % par rapport au désherbage conventionnel dû à une élimination plus précoce et sûre des mauvaises herbes, avec une réduction de 23 % de matière active ;
– aucun impact sur l'environnement (sol et eaux).

De plus, aucune trace de métabolites dérivés de l'herbicide n'est observée dans le sucre du fait des procédés physiques d'épuration et de cristallisation (von Drescher et Schiweck, 1971).

Sur le plan économique, l'étude du NCFAP réalisée en Europe (Gianessi, 2003) concluait à une économie possible d'herbicide de 111 euros/ha, ce qui est très cohérent avec l'étude de May (2003) en Grande-Bretagne, concluant à une économie possible de 80 £/ha.

Bilan des avantages des variétés transgéniques résistantes aux herbicides

Avantages pour l'agriculteur

– un meilleur contrôle des mauvaises herbes, avec une sécurité plus grande dans la réalisation du désherbage, tout en ayant une facilité ou souplesse d'emploi plus grande ;
– un moindre coût par une économie d'herbicide, 10 % de moins pour le soja, 29 % de moins pour le canola (référence AgCare) ; pour la betterave, l'Institut technique de la betterave (ITB) évalue à une diminution possible de 46 % d ela quantité de produit utilisé. Il y a aussi économie d'énergie ;
– globalement il y a un avantage économique au niveau de l'exploitation avec à la fois augmentation des rendements (par suppression d'effets négatifs tels que la compétition par les mauvaises herbes dès le stade jeune et la phytotoxicité latente des herbicides classiques) et diminution des coûts de production.

Avantages pour l'environnement

On utilise une molécule qui se dégrade assez rapidement, à faible potentiel de lixiviation, présentant donc moins de risque de pollution des nappes phréatiques que les molécules conventionnelles.

Le développement de la culture sans labour (minimum « tillage ») permis par les plantes résistantes aux herbicides, peut limiter l'érosion et mieux protéger la faune et la flore du sol, avec une économie d'énergie.

Donc, là encore, comme pour les variétés transgéniques résistantes aux insectes, à côté de l'intérêt pour l'agriculteur, l'effet est positif pour l'environnement. Les risques essentiellement pour l'environnement sont considérés au chapitre suivant.

Quelques autres travaux en développement

L'adaptation au milieu

La tolérance à la sécheresse, au froid et au sel

La sécheresse, le froid et la salinité sont des causes évidentes de limite de la production des plantes cultivées dans le monde.

– La tolérance à la sécheresse

Une bonne alimentation des plantes en eau est indispensable pour avoir de bons rendements : ainsi, une production de 80-90 q de céréale demande environ 8 600 tonnes d'eau, soit 860 mm, soit autant ou plus que la pluviométrie annuelle. Ces besoins en eau sont répartis différemment dans le temps selon les plantes. Ainsi pour une plante comme le blé, les besoins sont étalés sur 9-10 mois excluant les mois les plus secs, mais pour le maïs qui a des besoins inférieurs (de l'ordre de 600 mm), les besoins sont concentrés sur 5 mois incluant l'été. L'irrigation s'est donc beaucoup développée en agriculture : 277 millions d'ha seraient irrigués dans le monde. L'irrigation perturbe le cycle naturel de l'eau ; la majeure partie de l'eau absorbée est évaporée dans l'atmosphère et est perdue localement. Pour ne pas trop puiser

dans les réserves naturelles en eau, il est donc indispensable d'avoir des variétés valorisant bien l'eau absorbée et tolérant la sécheresse pour les plantes qui ont une part importante de leur cycle pendant l'été (cas du maïs). Or, la sélection classique a été très peu efficace pour l'amélioration de l'aptitude à produire en conditions de déficit hydrique ; même si les nouvelles variétés sont plus tolérantes au stress hydrique que les anciennes, des progrès importants restent à réaliser. La transgénèse semble pouvoir apporter de nouvelles sources de variabilité pour ce caractère.

Plusieurs voies sont en cours d'exploration. Une première piste est donnée par l'utilisation de l'eau chez les plantes de la résurrection (*Selaginella lepidophylla,* la rose de Jericho). Ces plantes sont capables de résister à des sécheresses intenses et de « renaître » avec seulement quelques gouttes de pluie. Elles se distinguent des autres plantes par leur richesse en un sucre particulier, le tréhalose, qui semble bien jouer un rôle particulier dans la résistance au stress hydrique (Muller *et al*., 1995). Garg *et al*. (2002) ont en effet montré qu'un riz transformé avec deux gènes de la bactérie *Escherichia coli,* codant pour la synthèse de tréhalose, produisait de trois à huit fois plus de tréhalose qu'une plante normale et était plus résistant au stress hydrique, simulé par un stress salin. Avec 6 g/litre de sel dans la solution nutritive (ce qui provoque un stress supérieur à celui observé dans les sols dits salés), il a survécu pendant 6 semaines avec des feuilles vertes, alors que les plantes témoins dépérissaient par dégradation rapide de leur chlorophylle. Par ailleurs après avoir été soumis à la sécheresse, il reprenait sa croissance avec une alimentation hydrique normale, alors que les témoins non transgéniques avaient leur croissance nettement affectée.

Il est aussi possible de faire surexprimer les gènes ayant une fonction protectrice de l'état des structures cellulaires. Ainsi Xu *et al*. (1996) ont réussi à conférer une meilleure tolérance au stress hydrique et au stress salin à des plantes de riz par le transfert et la surexpression d'un gène de l'orge codant pour une protéine LEA (les protéines LEA — *Late Embryo Abundant protein* — sont des protéines qui s'accumulent dans l'embryon entrant en phase de dessication à la maturité des grains). Les symptômes du stress étaient retardés, la croissance était supérieure en conditions de stress et la reprise de la croissance était meilleure lorsque les conditions redevenaient favorables. Chez le tabac et la luzerne, la surexpression d'une superoxyde dismutase (SOD) a permis une meilleure survie (McKersie *et al*., 1996). La SOD joue un rôle dans la détoxification en cas de stress oxydatif, provoqué par la sécheresse. Saijo *et al*. (2000) par surexpression pour un gène codant pour une CDPK (*Calcium Dependent Protein Kinase* impliquée dans la traduction du signal) ont obtenu chez le riz des plantes plus résistantes au froid, aux stress salin et hydrique : elles fanent moins et la chlorophylle reste active. De même la surexpression du gène DREB *(Drought Responsive Element)* codant pour une protéine régulatrice (facteur de transcription) se liant aux promoteurs de gènes impliqués dans la tolérance à la sécheresse ou au gel améliore cette tolérance (Jaglo-Ottosen *et al*., 1998). Cependant aucun de ces procédés n'a encore vu le jour à grande échelle.

Une autre piste a été ouverte par l'étude des bases génétiques de la tolérance au stress hydrique grâce à l'analyse du protéome (ensemble des protéines exprimées à un moment donné dans un organe donné) et par l'utilisation des marqueurs moléculaires au sein de populations de maïs résultant du croisement de deux lignées. À un locus

particulier mis en évidence (locus ASR, qui code pour un facteur de transcription), la surexpression semble bien entraîner une amélioration de la tolérance au stress hydrique (travaux en cours, Jeanneau *et al*., 2002). La surexpression de ce même gène, cloné chez la tomate et introduit chez le tabac, a entraîné une amélioration très nette de la résistance au sel (Kalifa *et al*., 2004). Cela semble bien prouver que ce gène est impliqué dans la régulation de l'adaptation au stress hydrique et au stress salin.

La tolérance au stress hydrique étant un caractère complexe, des mécanismes variés étant impliqués, il est possible que l'avenir soit à la combinaison de différents systèmes tels que ceux présentés (Zhang *et al*., 2000). Il faudrait alors introduire simultanément plusieurs gènes, ce qui techniquement est tout à fait possible.

– La tolérance au froid et au gel

La sélection classique n'a pas été très efficace pour ce type de caractère. L'identification de gènes en cause dans la résistance au gel fait l'objet de recherches. Des protéines anti-gel (des glycoprotéines) sont connues chez certains poissons (Ahmed *et al*., 1973) et les gènes codant pour ces protéines ont été identifiés. Leur transfert chez les plantes permettrait-il une amélioration de la résistance au gel de certains fruits charnus, les fraises par exemple (Apoteker, 1999 ; Murray, 2003). D'après Murray (2003) c'est l'exemple même de recherche inutile à entreprendre car il ne sera pas possible d'avoir chez les fruits une concentration suffisamment élevée en glycoprotéines pour avoir une amélioration significative de la résistance au froid. Pour améliorer la tolérance au froid de la plante entière, d'autres pistes sont en cours d'exploration ; certaines sont communes avec la recherche de la tolérance à la sécheresse (voir ci-dessus), d'autres sont plus spécifiques. En particulier, on sait que le passage à basses températures induit la synthèse de facteurs de transcription du type CBF *(C-repeat/drought responsive element Binding Factor)* qui se lient aux promoteurs de gènes dont l'activation dépend donc de la température (gènes *cor*, *cold regulated*, Hajela *et al.,* 1990 ; Smirnoff et Bryant, 1999). La surexpression (avec promoteur 35S) du facteur de transcription CBF1 d'*Arabidopsis*, a bien effectivement conduit chez *Arabidopsis* à une tolérance au froid de plantes non acclimatées (Jaglo-Ottosen *et al*., 1998). D'autres gènes ont pour effet de préparer la plante à la dessication due au gel, par l'augmentation des concentrations cellulaires (mutants *eskimo*, chez *Arabidopsis*, Xin et Browse, 1998).

– La tolérance au sel

Une part importante des sols cultivables de la planète (30 %, environ 450 millions d'ha d'après *l'International Center for Biosaline Agriculture*, ICBA) correspond à des terrains salés où la production est affectée, voire empêchée, par la présence du sel. Dans ces zones, l'irrigation ne fait qu'aggraver le problème de la salinité. Augmenter de façon significative la production des cultures sur ces sols aiderait à résoudre des problèmes de famine dans certains pays. Le problème est que toutes les plantes sont très sensibles au sel. Cependant, des pistes d'amélioration par transgénèse existent, certaines sont communes avec celles recherchant la tolérance à la sécheresse ou au froid (voir ci-dessus), d'autres sont plus spécifiques. Ainsi, chez *Arabidopsis*, la surexpression d'un transporteur de sodium a permis aux plantes de se développer sur des concentrations de NaCl allant jusqu'à 200 mM (Apse *et al*., 1999). Chez la tomate la surexpression d'un gène codant pour une protéine contrôlant

l'échange des ions H^+ et Na^+ entre le cytoplasme et la vacuole a permis d'avoir des plantes qui, en solution irriguée avec 40 % de la salinité de l'eau de mer, accumulaient le sel dans les vacuoles des cellules de feuilles tout en produisant des fruits normaux, alors que dans ces conditions, les plantes non transgéniques ne pouvaient pas croître (Zhang et Blumwald, 2001). D'autres résultats prometteurs ont été obtenus sur le riz (Zhang *et al*., 2000 ; Datta, 2002 ; Swaminarthan, 2003 *in* Le Buanec, 2003). Les travaux de Datta (2003) sont particulièrement intéressants à signaler, car il s'agit d'un gène trouvé chez le riz et transféré chez le riz.

– L'approche simultanée de la tolérance aux trois stress

Tolérances à la sécheresse, au froid et à la salinité sont liées physiologiquement : le froid et la sécheresse provoquent tous les deux une déshydratation des tissus et le stress salin à un effet voisin. De plus, ces trois stress induisent un stress oxydatif : l'énergie lumineuse n'est plus consommée par la photosynthèse et il se forme des produits toxiques tels que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (eau oxygénée) et des radicaux hydroxyles (OH) qui détruisent les structures chloroplastiques, entraînant la dégradation de la chlorophylle et la sénescence des feuilles. Ces mécanismes communs font que certaines constructions géniques pourront avoir un effet favorable sur la tolérance aux trois stress. Ainsi un facteur de transcription (un gène de régulation), *DREB1A* (*Dehydration Response Element*), isolé chez la levure, introduit chez *Arabidopsis,* a permis à la fois une amélioration de la résistance au froid, à la sécheresse et au sel (Kasuga *et al*., 1999 ; Smirnoff et Bryant, 1999). Avec un promoteur constitutif fort 35S, entraînant une surexpression, cela se traduisait par une réduction importante de la croissance (en l'absence de stress), mais avec un promoteur inductible (*rd29A*, issu d'*Arabidopsis*) les effets négatifs étaient très faibles, avec des effets positifs au niveau de la tolérance aux trois types de stress encore plus nets. Il y a donc là une piste de recherche très prometteuse. L'avantage de travailler avec des gènes régulateurs du type *DREB* est qu'il est possible de modifier de façon coordonnée l'expression de plusieurs gènes. Des démarches plus ou moins spécifiques à chaque type de stress sont en cours.

La valorisation de l'azote par les plantes (ou tolérance au stress azoté)

Toutes les plantes ont besoin d'azote pour croître. De ce point de vue, il faut distinguer deux grands groupes de plantes : les plantes symbiotiques, comme les légumineuses qui fixent l'azote atmosphérique par l'intermédiaire de bactéries présentes dans leurs nodosités (elles sont dites fixatrices d'azote) et les plantes non-symbiotiques, dites non-fixatrices, qui absorbent des nitrates (voire l'ion ammonium). Chez les plantes non-fixatrices, on cherche à améliorer l'efficacité de l'absorption et de l'utilisation de l'azote tandis que chez les plantes fixatrices, on cherche à améliorer l'efficacité de la fixation.

– L'amélioration de l'efficacité d'absorption et d'utilisation de l'azote

Chez les plantes de grande culture, non-fixatrices, la fumure azotée, multipliée par 10 en cinquante ans au niveau mondial, a été un moyen puissant d'augmentation des rendements qui a aussi stimulé la création de variétés productives à forte fertilisation azotée. Les plantes n'absorbant qu'une partie plus ou moins importante de l'engrais azoté apporté, il en est résulté une pollution par les nitrates, plus ou moins importante selon les régions. De plus en Europe, dans les zones d'élevage porcin,

l'apport en excès d'azote organique a entraîné une pollution encore plus forte. D'un point de vue environnemental, il faut donc diminuer les apports azotés et avoir des variétés absorbant mieux l'azote du sol, quelle que soit son origine, matière organique ou engrais. D'un point de vue économique, avec l'évolution de la PAC et des prix agricoles de plus en plus bas, pour permettre à l'agriculteur de mieux survivre, il est nécessaire d'obtenir des variétés ayant la meilleure utilisation de l'azote possible, c'est-à-dire conduisant à une marge brute équivalente à celles d'aujourd'hui, mais avec une fumure azotée significativement diminuée.

L'azote est absorbé par la plante sous forme de nitrates. Ces nitrates sont normalement réduits en nitrites sous l'action d'une enzyme, la nitrate réductase, puis les nitrites sont réduits en ammonium par la nitrite réductase et l'ammonium lui-même contribue à la formation des premiers acides aminés (glutamine et glutamate) par l'action de deux enzymes, la glutamine synthétase (GS) et la glutamate synthase. La réduction des nitrates est rarement limitante pour la réalisation d'un bon rendement en grain ou en biomasse. En revanche, divers travaux, en particulier ceux de Fuentes *et al*. (2001) montrent que la surexpression de la glutamine synthétase permettrait une photosynthèse et une croissance nettement plus élevées (+ 70 % en croissance aérienne) en conditions de stress azoté (l'expérience a été réalisée sur tabac, en surexprimant le gène de la GS cytosolique de la luzerne). Par la même démarche, Ping Jing *et al.* (2004) en surexprimant le gène de la glutamine synthétase du pin chez le peuplier ont obtenu une amélioration des taux de croissance de 41 % sur des plants âgés de cinq ans, les autres caractéristiques semblant rester identiques. Sur le blé, la surexpression de la GS a permis une augmentation des rendements, donc de l'efficacité de l'azote, de 20 % (Habash *et al*., 2001). Des travaux analogues sont en cours chez le maïs (collaboration Génoplante-Inra), avec la surexpression d'un gène de la GS du maïs (les essais au champ du matériel transgénique obtenu ont été détruits en 2004).

Une autre voie importante est ouverte par les travaux de Yanagisawa *et al*. (2004). Un gène régulateur, *Dof1* (en fait, un facteur de transcription, c'est-à-dire un gène qui agit au niveau de la transcription d'un ou plusieurs gènes et régule leur fonctionnement) a été isolé chez le maïs. Il est connu pour agir au niveau des métabolismes carboné et azoté. Transféré et surexprimé chez *Arabidopsis*, il a augmenté la teneur en acides aminés ainsi que les quantités d'azote absorbé, et surtout, lorsque les plantes étaient cultivées à un faible niveau d'alimentation azotée, il leur permit de ne pas souffrir du manque d'azote, les feuilles restant bien vertes, alors qu'elles perdaient leur chlorophylle chez le témoin. Transféré à la pomme de terre, ce gène a aussi permis un enrichissement en acides aminés (surtout glutamine et glutamate). Ce résultat semble montrer qu'un tel gène pourrait être utilisé pour améliorer l'absorption et l'utilisation métabolique de l'azote chez des espèces très variées. Il semble aussi montrer qu'il serait plus efficace de faire surexprimer des gènes régulateurs que des gènes de structure, comme les gènes de la GS. La plante serait ainsi génétiquement modifiée de façon plus équilibrée.

– Des épinards ou des laitues avec moins de nitrates

La réduction des nitrates, en conditions de plein champ, et avec une fumure normale est rarement limitante. Cependant, en serre, selon la période de l'année, les conditions de culture et les espèces (laitue, épinard) il peut y avoir

accumulation de nitrates dans les vacuoles des cellules foliaires, en quantités non négligeables, dépassant les seuils autorisés. Lorsque le nitrate est absorbé en excès, sa réduction en nitrite durant la digestion peut oxyder l'hémoglobine, causant une sorte d'anémie ; de plus les nitrites peuvent être convertis en nitrosamines cancérigènes. Les méthodes classiques de sélection ont certes conduit au développement de variétés à plus faible teneur, mais elles se révèlent assez inefficaces pour éviter tout risque d'accumulation. Des chercheurs (Quilléré *et al*., 1994) ont alors tenté de limiter cette accumulation en augmentant l'efficacité de la nitrate réductase, par surexpression d'un gène qui contrôle sa synthèse, afin de la déréguler.

Chez le tabac une réduction de 50 % du nitrate foliaire avait été observée après transfert du gène *Nia2* (cloné chez le tabac) sous promoteur fort (35S). Des résultats encourageants ont été obtenus chez la pomme de terre (Djennane *et al.,* 2002) : les clones transformés avec *Nia2* (toujours sous promoteur 35S) ont montré une diminution de 95 % de la quantité de nitrate dans le tubercule. Chez une autre variété, les clones transformés ont montré une nette amélioration de la production de biomasse, en particulier des tubercules, avec toujours un taux de nitrates très réduit, surtout dans les tubercules. La réduction plus efficace des nitrates a sans doute permis une meilleure allocation de l'azote à l'appareil photosynthétique et au métabolisme carboné (ce qui semble vérifié par une plus grande teneur en chlorophylle, Djennane *et al*., 2004).

Chez la laitue, avec la même construction génétique, il semble que l'on se heurte à un problème de régulation post-transcriptionnelle (Curtis *et al*., 1999). Il y avait bien en moyenne moins de nitrate, avec 21 % de moins à 22 jours, mais seulement 4 % de moins à 84 jours. Il est possible que la « force » du promoteur diminue avec l'âge de la plante : il faudrait donc augmenter le niveau d'expression, ce qui demande des recherches complémentaires avant de pouvoir maîtriser l'utilisation du transgène *Nia2*.

– La fixation de l'azote par les plantes

On sait depuis longtemps que les plantes dites non-symbiotiques sont capables de fixer de l'azote de l'air par l'action de certaines bactéries vivant dans la rhizosphère. Ainsi, le riz peut fixer une quantité non négligeable d'azote de l'air, de l'ordre de 30 unités par an (Roger et Ladha, 1992), avec une grande variation entre génotypes (Ladha *et al*., 1998). La stimulation de cette aptitude conduirait évidemment à une économie de nitrates avec moins de risque de pollution. On pourrait aussi chercher à transférer à ces plantes la capacité de fixation de l'azote de l'air qu'ont les plantes symbiotiques. Chez ces plantes, la fixation se fait par l'intermédiaire de bactéries des nodosités grâce à une enzyme produite par la plante, la nitrogénase, qui est régulée par 16 gènes *nif (nitrogen fixation)* identifiés. Des projets de transfert des gènes *nif* à des plantes non fixatrices, comme les céréales, en particulier le riz, ont donc vu le jour. Mais en fait, la tâche apparaît très complexe à cause du nombre de gènes et de leurs régulations ; il faudra donc sans doute attendre encore assez longtemps avant d'avoir un riz fixant de façon symbiotique l'azote atmosphérique (Britto et Kronzucker, 2004), et sans doute encore plus longtemps pour un blé, mais des pistes semblent ouvertes.

La tolérance aux métaux lourds : la phytoremédiation

La pollution par les métaux lourds, comme le mercure, le plomb, le cadmium, est de plus en plus répandue. Le plomb est très présent dans les zones industrielles ; la contamination par le cadmium est très fréquente dans les environs des mines de zinc, mais aussi dans les terrains recevant les boues d'épuration des eaux usées. Ces métaux lourds peuvent malheureusement être absorbés par les plantes que nous consommons et ils sont très dangereux pour notre santé. Le plomb en s'accumulant dans notre corps peut affecter notre système nerveux, nos cellules sanguines et le fonctionnement de nos reins. Le mercure, fréquent dans les zones industrielles, est transformé dans le sol en méthyle de mercure, qui en passant dans nos aliments (par les plantes) peut s'accumuler dans le sang et provoquer des troubles neurologiques graves. Quant au cadmium, il est cancérigène à très faible concentration. En zone polluée, il serait donc important de pouvoir « décontaminer » les sols. Le « nettoyage » par des procédés chimiques est très coûteux. La phytoremédiation consiste à cultiver certaines plantes sur les sols pollués pour prélever les ions lourds. C'est une méthode qui ne peut pas être immédiatement efficace, il faut réaliser plusieurs cultures successives, mais elle a l'avantage d'être facile à mettre en œuvre et d'être très économique. La transgénèse devrait conduire à l'obtention de plantes encore plus efficaces. Cependant la phytoremédiation est un processus complexe qui demande la solubilisation des métaux lourds dans le sol, leur absorption dans la plante, leur transport, et leur accumulation sans effets toxiques.

Une crucifère, *Thlaspi caerulescens,* est déjà bien connue pour sa capacité de rétention du zinc, qui peut représenter plus de 3 % de la matière sèche de la plante. Le processus est contrôlé par des gènes impliqués dans deux grands mécanismes : d'une part, l'augmentation de la solubilité des métaux dans le sol autour de la plante, ce qui favorise leur absorption, et d'autre part leur transport vers les organes d'accumulation. L'identification des gènes en cause dans les différents processus permettra d'envisager leur transfert dans des plantes plus faciles à cultiver et qui pourront encore être plus efficaces. Le transfert et la surexpression chez *Arabidopsis thaliana* du gène *YCF1* de la levure, impliqué dans la résistance aux drogues, a déjà apporté chez cette plante l'aptitude à accumuler du plomb et du cadmium en grande quantité dans ses vacuoles (Song *et al*., 2003). Le même gène transféré à des peupliers améliore leur aptitude à croître sur des terrains riches en plomb. De même, l'introduction chez *Arabidopsis* de deux gènes de la bactérie *Escherichia coli*, codant pour deux enzymes, l'une favorisant la transformation de l'arséniate en arsénite et l'autre permettant son accumulation dans les feuilles par la formation d'un complexe, a bien permis une augmentation de la tolérance à l'arsenic et son hyperaccumulation dans la plante. Des plantes transgéniques d'*Arabidopsis* susceptibles d'accumuler le mercure (sous forme d'un produit moins toxique) ont aussi été développées par surexpression d'un gène bactérien *merA* (Rugh *et al*., 1996). Ce gène qui code pour une enzyme (une réductase d'ion mercurique) convertit le mercure ionique en sels de mercure, beaucoup moins toxiques. Transféré chez le colza, le tabac et le peuplier, il permet à ces plantes de croître sur un milieu riche en mercure : le mercure est absorbé avant sa transformation en méthyle de mercure et il est émis dans l'atmosphère sous forme de vapeur (ce qui aurait un impact très faible sur la teneur en mercure de l'air, par rapport au *pool* déjà présent, alimenté aussi en partie par les fumeurs). Un autre gène *(merB)* a aussi été découvert : il

permet aux plantes de décomposer le méthyle de mercure en mercure ionique (Bizily *et al*., 1999). Grâce à la transgénèse, la voie à la détoxification des sols pollués par le mercure est donc ouverte.

Ainsi, il n'y aura pas de plantes « dépolluantes » passe-partout, puisqu'un système génétique spécifique à chaque métal lourd est nécessaire. Pour le moment, les travaux ont surtout porté sur *Arabidopsis thaliana*, car il s'agissait de voir si l'objectif « faire absorber des métaux lourds par des plantes » pouvait être atteint. Maintenant que cela est démontré, il reste à transférer les systèmes génétiques mis au point chez des espèces à production de biomasse importante, de façon à exporter le plus possible de métal lourd polluant en une culture avec une bonne prospection du sol au niveau des premiers horizons.

Des plantes à photosynthèse plus efficace

Du point de vue de la photosynthèse (fixation du CO_2 de l'air), il existe deux types de plantes : les plantes en C3 avec un métabolisme des sucres commençant par des composés carbonés à trois carbones, souvent originaires des pays tempérés, comme le blé, la betterave, et les plantes en C4, comme le maïs et la canne à sucre, souvent originaires des zones tropicales, avec un métabolisme des sucres commençant par des composés carbonés à quatre carbones. Les plantes en C4 ont un rendement photosynthétique supérieur aux plantes en C3, par l'absence de photorespiration, grâce à une enzyme qui a une forte affinité pour le gaz carbonique (la PEPC, phospho-énol-pyruvate-carboxylase). De ce fait, elles ont un plus grand potentiel de rendement en biomasse pour les plantes fourragères où en grain pour les céréales. Chez certaines familles de plantes (chénopodiacées) on trouve même les deux types de plantes. On peut donc penser que leur « distance » génétique n'est pas trop grande, malgré des différences aussi au niveau morphologique, et qu'il est possible de transférer l'aptitude des plantes en C4 à « pomper » le gaz carbonique aux plantes en C3 par le transfert du gène de la PEPC. Effectivement, le transfert du gène de la PEPC du maïs, plante en C4, chez le riz, plante en C3 (Ku *et al*., 1999), a bien entraîné chez cette espèce une forte activité PEPC (fonction du nombre de copies du gène introduit) avec un effet très favorable sur le rendement (+ 12 à + 35 % par rapport aux témoins) et cela en absorbant plus de gaz carbonique (Ku *et al*., 2000). Cette expérience montre donc que les plantes en C3 ont la « machinerie » nécessaire pour exprimer à un haut niveau les gènes spécifiques aux plantes C4 et ouvre la voie à l'amélioration de l'efficacité photosynthétique des plantes.

La résistance aux maladies

Au niveau mondial, les pertes causées par les maladies sont estimées à environ 13,5 % des récoltes, malgré le recours aux traitements fongicides (Oerke et Dehne, 1997). Elles sont particulièrement fortes en zone tropicale. Même en Europe de l'Ouest, la protection phytosanitaire n'évite pas les pertes, malgré un grand nombre d'interventions. La limite de la lutte chimique (coût, pollution…) conduit à rechercher d'autres solutions. Les variétés résistantes sont la seule solution (combinée à des mesures agronomiques) pour limiter les pertes tout en respectant l'environnement. La difficulté est que les gènes de résistance ne sont pas toujours présents à l'intérieur de l'espèce améliorée (par exemple la résistance au virus de la mosaïque chez le melon), d'où le recours à la transgénèse.

Le problème du développement de variétés transgéniques résistantes aux maladies se pose en des termes différents pour les virus et pour les champignons.

La résistance aux virus

Les plantes à multiplication végétative sont souvent contaminées par des virus, ce qui peut affecter gravement leur potentiel de production. Les virus étant généralement transmis par les insectes (cicadelles, pucerons), un premier moyen de protection est de lutter contre les insectes par l'utilisation d'insecticides, avec les limites signalées précédemment. Dans une telle situation, les plantes transgéniques résistantes aux insectes vecteurs peuvent donc être une solution. Mais, en général, cette protection n'est pas suffisante et il faut donc rechercher la résistance de la plante à la multiplication du virus. Les résistances génétiques « naturelles », quand elles existent, ont souvent été contournées, les souches de virus évoluant très rapidement. La mise au point de variétés transgéniques résistantes aux virus peut donc être une solution.

Le principe de la transgénèse pour la résistance aux virus est de faire produire par la plante un ARN ou une protéine d'origine virale susceptible de perturber ou bloquer le cycle viral (résistance dérivée du pathogène, Lecoq, 1997). Un virus est une molécule d'ARN (vrai pour 85 % des virus phytopathogènes) protégée par une enveloppe protéique, la capside. Normalement, lorsqu'un virus pénètre dans les cellules d'une plante, il se trouve décapsidé. Son ARN se réplique et il impose à la cellule hôte la synthèse des protéines de sa capside, ce qui conduit à sa multiplication et à sa migration vers les cellules voisines. Or, le gène codant pour la protéine de capside a été isolé. Par transgénèse, on peut ainsi faire produire à la plante la protéine de l'enveloppe (capside) du virus à combattre. Lors d'une infection de la plante par un virus, celui-ci sera automatiquement encapsidé, ce qui bloquera sa multiplication. Il semble en fait que cela empêche la décapsidation du virus par saturation des sites de décapsidation : le virus ne peut plus se multiplier.

La première variété transgénique résistante au virus, développée selon cette méthode, a été une variété de tomate (pour la résistance au virus de la mosaïque) en 1988. Cette stratégie a maintenant été appliquée avec succès à plus de 40 virus et concerne de nombreuses espèces : tabac, tomate, courgette (résistance au potyvirus de la mosaïque jaune), melon, concombre (résistance au virus de la mosaïque), pastèque (résistance au potyvirus-2 de la mosaïque), pomme de terre (résistance à la souche 0, la plus commune, du potyvirus Y), papaye, manioc, luzerne… (Kavanagh et Spillane, 1995). Cela a permis de sauver la papaye à Hawaï qui était proche de la disparition par suite du développement d'un virus, le *papaya ringspot virus* (PRSV) pour lequel il n'y avait pas de résistance (Gonsalves *et al*., 2004). Dans le cas de ce virus transmis par les pucerons, c'est la technique de l'encapsidation qui a été utilisée avec succès (Ferreira *et al*., 2002). En 1998, date de la mise au point de la première variété transgénique résistante (« hétérozygote » pour le transgène, c'est-à-dire avec une seule dose du transgène car hybride entre une variété transgénique homozygote pour le transgène et une variété normale), le rendement de celle-ci était de 140 t/ha contre 5-6 t/ha avec la variété non résistante la plus cultivée du moment. Malgré la généralisation de cette variété transgénique (plus de 50 % des surfaces) entraînant une forte pression de sélection sur le virus, la résistance est toujours stable par rapport aux races du virus de Hawaï. Le

développement d'une variété transgénique homozygote pour le transgène, donc avec deux doses et non plus une seule comme dans la première variété transgénique apporterait une résistance plus large. Avec les cinq-six ans d'expérience à Hawaï, bien que cela ne soit pas encore clairement démontré, les cultures de variétés transgéniques apparaissent comme une protection pour les cultures traditionnelles : les pucerons virulifères seraient purgés de leurs virus en passant sur les variétés transgéniques avant d'aller sur une variété normale (Gonsalves *et al*., 2004).

D'autres systèmes pour bloquer le développement du virus ont aussi été utilisés ou font l'objet d'études. On peut en particulier faire produire à la plante un ARN antisens, complémentaire des séquences virales, qui en s'hybridant avec l'ARN viral empêchera la traduction en protéine (blocage de la replicase du virus). Cependant, il apparaît que cette stratégie ne conduit qu'à des protections partielles, de faible niveau. Des séquences ribozymes ont aussi été utilisées pour dégrader (couper) les ARN viraux dès qu'ils apparaissent dans la plante. On peut aussi agir sur les protéines de mouvement du virus pour empêcher son déplacement dans la plante. Malheureusement les résultats de ces différentes voies ne sont pas toujours très concluants et les recherches doivent être poursuivies.

La résistance aux champignons

La résistance aux champignons est plus complexe à obtenir. Un premier moyen est de faire exprimer des molécules participant à la défense des plantes : enzymes lytiques (chitinases, glucanases), phytoalexines (molécules à activité anti-microbienne). Les enzymes lytiques s'accumulent normalement lors d'une attaque de la plante et sont capables de dégrader les parois fongiques. Des gènes codant pour ces protéines et provenant de plantes (haricot, orge, luzerne) ont été introduits chez le tabac (Jach *et al*., 1995 ; Zhu, 1994). Les résistances obtenues par cette voie sont en général partielles.

Une deuxième stratégie, qui fait l'objet de recherches importantes aujourd'hui, consiste à introduire dans la plante des gènes de la résistance systémique acquise ou SAR (*Systemically Acquired Resistance*, Métraux *et al*., 2002). Il s'agit d'un système de défense complexe, déclenché par la plante dès qu'elle perçoit l'attaque du parasite, avec la mise en place de nombreux mécanismes de défense : accumulation de nouvelles protéines soit directement toxiques, soit à activité enzymatique antimicrobienne (*PR proteins* pour *pathogenesis-related proteins*), mais aussi renforcement des parois (lignification)… (Candresse *et al*., 1997 ; Durand-Tardif et Candresse, 2004). Ce système peut être activé par certaines substances (par exemple l'acide salicylique, l'acide jasmonique), ce qui ouvre la porte à de nouveaux produits de traitements antifongiques, mais il peut être aussi activé par certains gènes. Ainsi, chez *Arabidopsis*, un gène régulateur clé (NPR1) a été identifié et cloné : il est activé lors d'une attaque de maladie, et code pour une protéine qui régule un ensemble de protéines activant l'expression de plusieurs gènes de défense (Cao *et al.*, 1998). Sa surexpression chez *Arabidopsis* a conduit à la résistance à deux parasites très différents, une bactérie *Pseudomonas syringae* et un champignon *Peronospora parasitica,* et cela sans affecter les autres caractères de la plante. Cette voie, par surexpression d'un gène régulateur impliqué dans la résistance systémique acquise, aurait l'avantage de conduire à une résistance à plusieurs pathogènes à la fois qui pourrait être plus stable que les résistances « verticales » monogéniques souvent utilisées. Les

travaux portent sur la recherche de promoteurs inductibles, permettant à la plante de ne produire les substances entraînant la résistance qu'en cas d'infection.

Travaux spécifiques

– Fusarioses du maïs et du blé et protection contre les effets des mycotoxines

Chez le maïs et le blé, la fusariose est à l'origine de perte à la récolte et peut conduire à la présence de mycotoxines sur les grains, dangereuses pour la santé de l'homme et des animaux. La présence même de la toxine augmente la sensibilité des plantes. Des résistances partielles peuvent exister, mais aucune source de résistance totale n'a été trouvée, quelle que soit l'espèce. Or, pour éviter toute présence de toxine, il faut l'immunité. Des travaux sont donc actuellement réalisés par différents groupes pour obtenir par transgénèse une résistance suffisante. Chez le blé, pour la protection contre les effets de la toxine de *Fusarium graminearum*, un gène issu d'un autre *Fusarium (sporotrichoides)* a été introduit, non pas pour entraîner la résistance au champignon, mais pour inactiver la toxine dès sa synthèse (Okubara *et al*., 2002). Cependant, l'inactivation obtenue n'a été que partielle ; il faudrait obtenir une expression plus importante du gène introduit.

– Carie du blé (Tilletia)

Pour protéger le blé contre la carie, des travaux ont consisté à introduire chez le blé un gène (KP4) d'un virus codant pour une protéine antifongique, dite protéine tueuse (Clausen *et al*., 2000). Dans ce cas, les chercheurs n'ont fait qu'exploiter un mécanisme naturel. En effet le champignon qui entraîne le charbon du maïs (*Ustilago maydis*) peut être infecté par des souches d'un virus produisant chacune une protéine tueuse (*Killer Protein* ou KP) différente ; le champignon infecté est insensible à la KP produite par la souche de virus qu'il porte, mais cette KP sera toxique pour les autres *Ustilago maydis,* non infectés ou infectés par une souche différente. Il se trouve que les protéines KP sont aussi toxiques pour les champignons de la famille des *Tilletia*.

– Résistance au mildiou chez la pomme de terre

Elle a été introduite par transgénèse à partir du gène de résistance trouvé chez une espèce apparentée diploïde *Solanum bulbocastanum* (Song *et al*., 2003) : il s'agit donc d'un exemple de transgénèse quasiment intraspécifique avec une introduction beaucoup plus rapide que ce que l'on ferait par rétrocroisement. En effet, la pomme de terre cultivée étant tétraploïde, cela demande un minimum de manipulation des niveaux de ploïdie. De plus les deux espèces étant sexuellement incompatibles il faut faire appel à la fusion de protoplastes pour obtenir l'hybride interspécifique qui sera le point de départ des rétrocroisements. Cette voie serait donc très longue (Naess *et al*., 2001). Le gène de résistance de *Solanum bulbocastanum* est en fait un cluster de quatre gènes (ce qui est assez fréquent dans les gènes de résistance aux maladies) ; il permet une résistance à toutes les races de mildiou actuellement connues.

– Le feu bactérien du poirier

Causée par une bactérie, *Erwinia amylovora*, cette maladie peut entraîner des dégâts très graves (mort des arbres) et aucune solution prophylactique, chimique ou choix de variétés résistantes n'est vraiment efficace pour lutter contre. La transgénèse est donc une voie possible. Différentes stratégies ont été envisagées pour empêcher la bactérie de développer son pouvoir pathogène :

– la production de protéines antibactériennes pour provoquer une lyse bactérienne non spécifique à partir de gènes d'insectes. L'efficacité la plus élevée a été obtenue par l'expression constitutive du gène d'attacine, une protéine qui modifie la perméabilité membranaire (Reynoird *et al*., 1999) ;
– le blocage de la synthèse d'exopolysaccharide (EPS) constituant majeur de la capsule de la bactérie, à partir d'un gène de dépolymérase isolé d'un phage : cette dernière voie apparaît toutefois insuffisante pour protéger efficacement les plantes (Malnoy *et al*., 2005) ;
– l'inhibition de la croissance de la bactérie en la privant de fer métabolisable : le transfert du gène de lactoferrine bovine (un chélateur du fer, qui rend le fer indisponible pour la bactérie) a permis une nette amélioration de la résistance au feu bactérien de quatre clones de la variété Passe Crassane (Malnoy *et al*., 2003).

Conclusion

La résistance complète aux virus ou aux champignons semble difficile à obtenir. Cela peut expliquer le faible développement actuel des variétés transgéniques résistantes aux maladies (à côté de raisons économiques comme la puissance des firmes de produits phytosanitaires, bien que de plus en plus de firmes qui s'occupent de développer des variétés transgéniques seraient aussi engagées dans les produits phytosanitaires, voir chap. 1). De plus, il faut souligner que le développement de telles résistances pourrait modifier les relations de la plante avec les micro-organismes favorables à son développement : par exemple, les variétés transgéniques résistantes aux maladies pourraient avoir une moins bonne aptitude à la mycorhization ou à la mise en place d'associations symbiotiques ou simplement bénéfiques au niveau de la rhizosphère (Candresse, 1997), ce qui pourrait affecter les performances agronomiques du peuplement végétal cultivé. Néanmoins les pistes ouvertes par la SAR restent très prometteuses. Ainsi, par le génie génétique, il devient envisageable de construire des résistances efficaces pour un plus large spectre de pathogènes que les résistances actuellement connues et qui pourraient être plus stables.

Les plantes transgéniques, un espoir pour une agriculture durable

Le développement souhaitable d'une agriculture durable, respectueuse de l'environnement se traduira par une diminution des intrants, entraînant *ipso facto* une diminution des rendements. Même si un autre optimum économique peut être trouvé (Rolland, 2002), s'il n'y a pas une augmentation des prix de vente des récoltes, il y a un risque fort de perte de revenu pour l'agriculteur. Or, par ailleurs, les agriculteurs sont confrontés à une forte baisse des prix agricoles, conséquence de la PAC et de la mondialisation du commerce. Comme il n'y a pas d'agriculture durable sans durabilité des agriculteurs, la transgénèse apparaît comme un moyen pour maintenir un revenu suffisant à l'agriculteur, en diminuant ses charges tout en protégeant l'environnement, par la création de variétés plus adaptées au milieu et demandant moins d'intrants, car plus résistantes aux maladies et aux insectes et valorisant bien l'azote du sol, quelle qu'en soit l'origine (N de l'engrais ou N provenant de la minéralisation de la matière organique). Si de plus, ces variétés sont de

meilleure qualité pour le consommateur ou l'industriel, cela pourrait permettre à notre agriculture de mieux survivre, avec des productions plus diversifiées (voir p. 230).

⏩ Variétés transgéniques pour le consommateur

Variétés transgéniques pour la qualité nutritionnelle[1]

Qualité des apports glucidiques

La composition des glucides des graines, des tubercules et des racines peut être modifiée par transgénèse à des fins alimentaires. Les fructanes, qui sont des polymères du fructose, font en particulier l'objet de travaux, car ils présentent un grand intérêt pour la nutrition humaine. Leur pouvoir sucrant diminuant avec la longueur de la chaîne polymérique, les fructanes à chaîne courte, avec un faible degré de polymérisation, sont utilisés comme sucre à basse calorie. Ils sont essentiellement produits en fermenteurs avec une enzyme produite par un champignon du genre *Aspergillus*. Les polymères à chaîne longue de fructose (par exemple l'inuline extraite de la chicorée, *Cichorium intybus*) présentent l'avantage de n'être pratiquement pas hydrolysés avant de parvenir dans le colon : cela permet d'avoir des aliments glucidiques moins énergétiques et la longueur de la chaîne renforce de rôle de fibre, avec un effet très favorable sur les bifidus de la microflore intestinale. On peut améliorer la chicorée pour sa teneur en inuline, mais il est aussi possible de faire produire cette substance dans une racine de plante très sélectionnée : la betterave à sucre, qui accumule beaucoup de saccharose dans ses vacuoles. Or, chez le topinambour, la synthèse de fructane se fait à partir du saccharose dans la vacuole : il suffit donc de transformer le saccharose en fructane chez la betterave. Les deux gènes codant pour les enzymes responsables de cette transformation étaient connus chez le topinambour : le gène codant pour la sucrose sucrose-fructosyl transférase (SST) et celui codant pour la fructane fructane-fructosyl transférase (FFT) (Sevenier *et al.*, 2002). Ils ont été transférés avec succès dans une variété de betterave chez laquelle 90 % du saccharose était effectivement polymérisé en fructane à chaîne courte. La production de fructane à chaîne longue apparaît aussi possible, avec une construction génétique très proche, où le gène de la SST du topinambour est remplacé par celui du tournesol. Ainsi, par la transgénèse, une production économique des différents types de fructanes serait possible, ce qui pourrait contribuer à leur plus large utilisation dans l'alimentation humaine.

Équilibre des acides aminés

Le manque de protéines et le déséquilibre en acides aminés des rations alimentaires est à l'origine de problèmes de malnutrition de populations défavorisées

1. Voir synthèses de Chupeau, 2000 et Galili *et al*., 2002.

qui ont une alimentation basée sur des céréales, des tubercules ou racines. En effet, les céréales sont souvent pauvres en acides aminés indispensables, en particulier en lysine et tryptophane ; quant à la pomme de terre, légume très répandu dans le monde, elle est pauvre à la fois en protéines et en acides aminés indispensables. Les légumineuses à graines, qui sont des sources importantes de protéines pour l'homme et les animaux sont le plus souvent assez riches en lysine, mais pauvres en méthionine et en cystéine. Une alimentation associant céréales et légumineuses peut donc limiter les risques de carence des principaux acides aminés indispensables. Cependant, pour les populations défavorisées, l'augmentation des teneurs en lysine et tryptophane des céréales et en méthionine des légumineuses permettrait d'avoir plus facilement une alimentation avec les acides aminés indispensables.

On a d'abord cherché à développer des variétés de céréales avec un meilleur équilibre en acides aminés indispensables par l'utilisation de mutants. Chez le maïs, le gène *Opaque-2* est connu depuis longtemps pour son effet favorable sur la teneur en lysine (Mertz *et al*., 1964) ; cependant, il a un effet très défavorable sur le rendement et même sur la teneur en protéines. Des travaux de sélection réalisés par le Cimmyt ont montré qu'il était possible de sélectionner des gènes modificateurs, permettant de supprimer les effets défavorables sur le rendement, tout en maintenant l'effet favorable sur la composition en acides aminés (Glover, 1992). L'amélioration obtenue permettrait de couvrir 70 % des besoins en lysine contre 50 % avec les variétés normales. L'amélioration n'est donc pas encore suffisante, et cette source de variation est difficile à utiliser.

D'autres voies d'amélioration ont été explorées et différentes pistes ont été ouvertes par la transgénèse. Cependant, elles font encore l'objet de recherches car la synthèse des acides aminés indispensables comme la lysine et la méthionine est très complexe. La lysine régule sa propre synthèse par un rétrocontrôle qui inhibe l'activité d'une enzyme intervenant dans sa synthèse, la dihydrodipicolinate synthétase (DHPS). Deux voies sont alors en cours d'étude pour accroître la teneur en lysine des grains de céréales, soit augmenter la teneur en lysine libre, soit augmenter la teneur en protéines riches en lysine. Pour élever la teneur en lysine libre, il faut réduire la sensibilité de la DHPS au rétrocontrôle par la lysine. Des gènes de bactéries (*Corynebacterium*) codant pour une DHPS insensibles à ce rétrocontrôle ont été identifiés, placés sous un promoteur de protéines de réserves des semences, et transférés chez le tabac et le colza. Les résultats montrent un doublement de la teneur en lysine (Galili *et al*., 2002), avec toutefois une augmentation du catabolisme de la lysine, ce qui limite les possibilités d'amélioration. Cependant, chez le maïs, le gène DHPS placé sous un promoteur spécifique de l'embryon de la graine, augmenterait de façon très significative la teneur en lysine (de 50 à 100 %) avec un faible catabolisme (Falco, *in* Mazur *et al*., 1999). D'autres travaux sont en cours pour inhiber ce catabolisme. L'autre stratégie consiste à introduire des gènes codant pour les protéines riches en lysine. Des gènes codant pour deux protéines de l'orge (l'hordothionine HT12, et la « Barley high lysine protein 8 », BHL8), contenant respectivement 28 et 24 % de lysine) ont aussi été introduits avec un gène bactérien codant pour une DHPS « résistante » au rétrocontrôle de la lysine. Les teneurs en lysine sont passées de 0,2 % à 0,7 % (Jung et Falco, 2000, *in* Galili *et al*., 2002). Il y aurait donc là, une voie si toutefois il n'y a pas de caractères défavorables liés.

Pour la teneur en méthionine, le problème apparaît encore plus complexe. La seule voie montrant des résultats assez positifs est l'introduction de gènes codant pour des protéines riches en méthionine. Une première voie explorée a été l'utilisation du gène de la noix du Brésil (*Bertholletia excelsa*) codant pour l'albumine 2S, riche en méthionine ; introduit chez le soja, il en résultait un doublement des teneurs en méthionine. Il en était de même chez la vesce de Narbonne (Saalbach *et al*., 1995). Malheureusement cette protéine étant allergène (Nordlee *et al*., 1996) la transformation n'a pas pu être utilisée pour l'alimentation humaine. Un autre gène codant pour une albumine 2S, issu du tournesol, a été transféré chez le lupin (très utilisé pour l'alimentation animale en Australie) ; là encore, la teneur en méthionine a été doublée (Molvig *et al*., 1997), avec une diminution de 12 % de la teneur en cystéine. Les essais sur des rats de ces lupins transgéniques ont montré des gains de poids supérieurs et une meilleure utilisation des protéines qu'avec des variétés normales.

La qualité protéique de la pomme de terre pourrait aussi être améliorée par transgénèse. Dans une première expérience, le gène de la globuline d'*Amaranthus hypochondriacus*, transféré chez la pomme de terre avec un promoteur spécifique du tubercule, a permis d'augmenter la teneur en protéines totales de plus de 35 à 4 5% (35 % d e1 %) avec une forte augmentation de la teneur en acides aminés indispensables (lysine, méthionine, cystéine et tyrosine) souvent multipliée par plus de 3 (Chakraborty *et al*., 2000). De plus, ces modifications étaient associées à une augmentation importante de la croissance et de la production de tubercules (taille et nombre). Dans une autre expérience, l'introduction de deux gènes bactériens codant pour des enzymes non sensibles au rétrocontrôle de la lysine (dont la dihydrodipicolinate synthétase, DHDPS) a multiplié par 6 la teneur en lysine (Sevenier *et al*., 2002). La modification (par mutation) du gène de DHDPS de pomme de terre pour la rendre insensible au rétrocontrôle de la lysine a permis de multiplier par 15 cette teneur (elle représentait 15 % des acides aminés, contre 1 % chez les plantes non transformées).

Qualité des acides gras (des huiles de soja, colza, tournesol...)[2]

Les huiles végétales constituent 85 % des graisses et huiles utilisées dans l'alimentation humaine. Cependant, selon leur composition en acides gras, elles n'ont pas toutes le même effet sur notre santé. Pour éviter des accidents cardio-vasculaires, les nutritionnistes recommandent d'utiliser dans notre alimentation des huiles végétales riches en acide oléique, et avec des acides gras polyinsaturés (voir définitions, fig. 4.3). Il faut proscrire les acides gras saturés pour les salades et leur préférer les acides gras polyinsaturés ; pour la friture il ne faut pas plus de 2 % d'acides gras polyinsaturés et pas d'acide palmitique ; l'acide oléique est favorable car il est stable. Pour la margarine, il faut rechercher la richesse en acide stéarique et oléique. Enfin, il faut apporter dans les aliments les acides gras essentiels non synthétisés par l'homme, comme l'acide linoléique et linolénique. Les apports journaliers recommandés pour l'homme en acides gras saturés, acides gras monoinsaturés, acide linoléique et acide linolénique, sont respectivement de 19,5 g, 4 9g, 1 0g, 2 g (Afssa, 2001). Chez les adultes, les acides gras polyinsaturés

2. Voir synthèse de Broun *et al.,* 1999.

à longue chaîne sont favorables pour prévenir les maladies cardio-vasculaires. Chez les nouveau-nés ils sont indispensables au bon développement du système nerveux central, de la fonction rénale, du cerveau et de la rétine. Un soja pauvre en acide laurique serait aussi bénéfique pour la santé humaine car cet acide gras, présent dans les tourteaux donnés aux bovins, s'accumule dans le lait et la viande et favorise ainsi le cholestérol. L'acide érucique, qui était présent dans l'huile de colza (avant 1978), provoquerait des lésions au tissu cardiovasculaire, bien que cela n'ait jamais été prouvé de façon indiscutable.

La qualité des huiles a d'abord pu être améliorée par l'utilisation de certains gènes. Ainsi, chez le colza, l'acide érucique a pu être éliminé grâce à l'introduction par croisement dans le matériel sélectionné des gènes qui bloquent sa synthèse. Mais, cette stratégie n'est pas toujours possible, car les gènes ne sont pas toujours connus ou n'existent pas dans l'espèce. La mutagénèse a été utilisée chez le colza pour tenter d'obtenir des huiles à moindre teneur en acide linolénique d'une part, et à plus forte teneur en acide oléique d'autre part (Auld *et al*., 1992). Un procédé industriel pour augmenter la stabilité des huiles est l'hydrogénation chimique, largement utilisée : elle augmente la concentration en acide oléique (C18:1), mais elle augmente aussi la teneur en d'autres acides gras qui ne sont pas sans risques pour la santé. La transgénèse est alors une solution.

La modification des acides gras par transgénèse est facilitée par le fait que leur synthèse forme une chaîne métabolique (fig. 4.3), on peut passer d'un acide gras à un autre par l'action de différentes enzymes (désaturases, élongases,…). Par exemple, sur la chaîne des acides gras saturés, le blocage de l'activité de l'enzyme qui permet de passer à l'acide gras à $2n$ carbones à l'acide à $2n + 2$ carbones va provoquer l'accumulation de l'acide gras à $2n$ carbones. Ce blocage peut se faire par stratégie antisens. On peut ainsi produire un soja transgénique passant de 25 % à 85 % d'acide oléique dans ses acides gras et avec peu d'acides gras polyinsaturés (linolénique et linoléique), sans aucun effet négatif sur les caractères agronomiques, par blocage de l'enzyme qui insère une double liaison en position 12 (désaturase d12) (Kinney, 1996 ; Spychalla, 1997 ; Mazur, 1999). Mais, si l'acide oléique est favorable, la perte des acides gras linolénique et linoléique est défavorable, car ce sont des acides gras essentiels non synthétisés par l'homme. La présence d'acide oléique aux dépens des acides gras saturés diminuerait l'incidence des maladies cardiovasculaires (comme l'a montré l'étude du régime crétois). Il devient aussi envisageable de produire une huile qui puisse se conserver assez longtemps et être stable pendant la friture sans recours aux traitements d'hydrogénation qui augmentent les risques cardiovasculaires (Kinney, 1996).

L'augmentation de la teneur en acides gras indispensables semble aussi possible de façon dirigée. Ainsi, un tabac à feuilles très riches en acide γ-linolénique (13 % des lipides foliaires) a été produit par transfert du gène codant pour la désaturase *d6* de la bourrache (Sayanova *et al*., 1997). Les graines de bourrache étant naturellement riches en acide γ-linolénique, il devrait être possible de faire exprimer ce gène au niveau des graines, en particulier chez le tournesol, qui serait un bon candidat pour la transformation, puisque l'huile contient 50 à 70 % d'acide linoléique. Chez la moutarde brune (*Brassica juncea*), le transfert et l'expression d'un gène de champignon (*Pythium irregulare*) codant pour la désaturase *d6,* a permis d'obtenir dans la

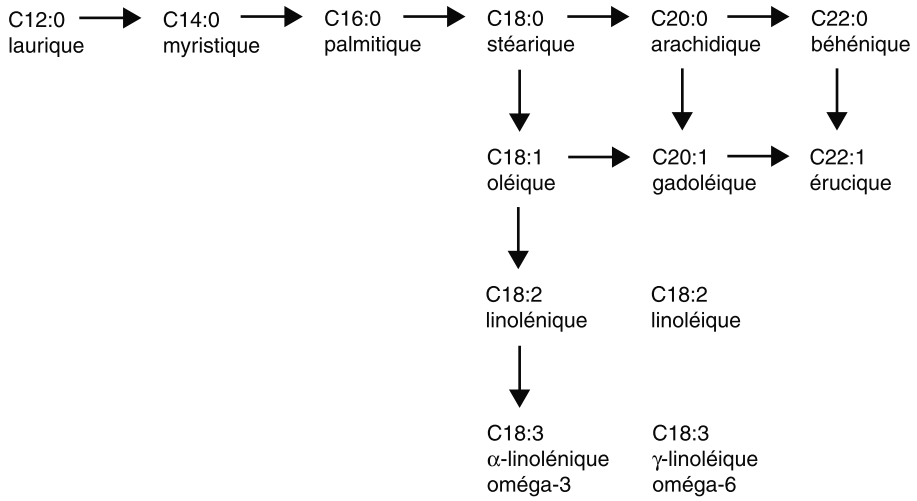


Figure 4.3. Passage d'un acide gras à un autre à partir de l'acide laurique.
Un acide gras est une chaîne hydrocarbonée avec à l'une des extrémités un groupement méthyle (CH_3) et un groupement carboxyle (COOH) à l'autre extrémité. On distingue les *acides gras saturés* où tous les atomes de carbone ont leurs 4 valences saturées, donc reliés sans double liaison (exemple : l'acide laurique, l'acide palmitique, l'acide stéarique), *les acides gras monoinsaturés* (comme l'acide oléique), avec seulement deux carbones consécutifs reliés par une double liaison, et *les acides gras polyinsaturés* avec plusieurs doubles liaisons (exemple : l'acide linolénique). Dans la notation C18:3, le premier chiffre représente le nombre d'atomes de carbone, le deuxième le nombre de doubles liaisons. Pour les acides gras « oméga » le chiffre qui suit indique la position de la première double liaison à partir du groupement méthyle.

graine des acides gras contenant 40 % d'acide γ-linolénique (Hong *et al*., 2002). Des travaux sont aussi en cours sur les acides gras « essentiels » à très longue chaîne (comme l'acide arachidonique (C20:4) qui sont bons pour la santé car ils tendent à diminuer le taux de cholestérol (Galili *et al*., 2002).

Teneur en anti-oxydants des légumes ou des fruits

Les composés phénoliques du type flavonoïde sont très favorables pour la santé (au niveau cardio-vasculaire) par leur pouvoir anti-oxydant. Ils sont produits par de nombreuses plantes, car ils jouent un rôle important dans leur croissance et développement et la résistance aux maladies. Cependant, dans les produits que nous consommons, ils sont en quantités insuffisantes. Chez la tomate, ils sont surtout localisés dans la peau, en faible quantité. La surexpression (avec un promoteur 35S) chez la tomate d'un gène de pétunia codant pour la chalcone isomérase, une enzyme clé de la synthèse des flavonoïdes, à l'origine des anti-oxydants, a multiplié par 78 la quantité d'un glucoside (la quercétine) qui a un pouvoir anti-oxydant très fort (Muir *et al*., 2001 ; Sevenier *et al*., 2002). Après transformation industrielle des fruits, l'effet d'enrichissement en flavonoïdes a été égal à 65 % de celui observé au niveau des fruits frais. Les performances phénotypiques des plantes transformées étaient comparables à celles des plantes non-transformées.

Variétés transgéniques pour des fruits de plus longue conservation

Il existe deux types de fruits : les fruits climactériques (melon, tomate, pêche, poire…) et les fruits non-climactériques (fraise, raisin, cerise, agrumes…). Chez les fruits climactériques, la maturation s'accompagne de production d'éthylène, avec hydrolyse des parois et ramollissement du fruit. Des enzymes (ACC synthase, ACC oxydase,…) intervenant au cours de ce phénomène ont été prises pour cibles par des stratégies antisens, afin d'en limiter les effets défavorables sur la qualité du fruit. Une autre cible a été le gène de la polygalacturonase qui est responsable du ramollissement du fruit (la pectinase digère la pectine du fruit, qui se trouve dans les parois). C'est ce gène qui a été inactivé dans la première tomate transgénique de Calgene (1994) aux États-Unis (variété *Flavr Savr*) mais qui n'a eu aucun succès car le géniteur de départ était de très mauvaise qualité : c'était une tomate de culture de plein champ destinée à la conserve (ce mauvais choix de géniteur a desservi la cause des légumes transgéniques, voir chap. 7). Cependant, la transformation a effectivement conduit à des fruits qui pouvaient être récoltés plus tardivement et qui se conservaient plus facilement. Chez le melon c'est l'ACC oxydase qui a été bloquée toujours par stratégie antisens (Limagrain) : la production d'éthylène est divisée par 100, mais avec un apport exogène d'éthylène, la maturation repart, ce qui permettrait de la contrôler parfaitement dans le temps. Mais, pour ce caractère, un résultat équivalent a pu être obtenu par la sélection classique, à partir d'apparentés identifiés dans la boucle du Niger, centre d'origine de l'espèce (cas du melon « Vauclusien », obtenteur ASL).

Autres exemples

Variétés transgéniques pour les qualités culinaires

– pommes de terre avec un amidon particulier (plus dense) permettant de faire des frites qui absorbent moins d'huile et ne brunissent pas à la cuisson ;
– huile sans odeur (*room odor*) à la cuisson, car riche en acide palmitique et pauvre en acide α-linolénique (3 %).

Variétés transgéniques pour des fruits sans pépins

La séquence d'un gène bactérien codant pour une RNase, mis sous un promoteur graine-spécifique, a permis d'obtenir une diminution de taille et de nombre des graines chez les citrus (Koltunow *et al*., 1998).

Variétés transgéniques pour des qualités esthétiques

Des œillets transgéniques, pour la tenue en vase prolongée des fleurs, sont déjà commercialisés (et autorisés en France, voir chapitre 1). Ces œillets ont été obtenus par introduction du gène codant pour une enzyme, l'aminocyclopropane cyclase synthase qui diminue l'accumulation d'éthylène. Par ailleurs, chez plusieurs espèces, la chaîne de synthèse des anthocyanes étant bien connue, des travaux ont été entrepris pour modifier la couleur des fleurs. On peut citer en particulier les travaux sur les œillets et le forsythia :

– les œillets bleu : cette couleur n'existe pas chez de nombreuses plantes florales par suite de l'absence du gène codant pour une enzyme (une 3-5 hydrolase) conduisant à la synthèse de la delphinidine à l'origine des pigments bleus. Ce gène isolé chez le pétunia a été transféré chez l'œillet par l'entreprise australienne Florigene (2002), mais c'est une couleur plutôt mauve qui a été obtenue. Des œillets transgéniques pour la couleur des fleurs (autre que bleu) sont déjà commercialisés ;
– le forsythia rose : un gène du muflier (*Antirrhinum majus*) codant pour la dihydroflavonol réductase et un gène de *Matthiola incana* codant pour une anthocyanidine synthase ont été introduits chez le forsythia dans le but d'obtenir la couleur rose. L'objectif n'a pas encore été atteint, puisque les couleurs obtenues n'étaient pas très nettes et plutôt d'un bronze-orange (Rosati *et al*., 2003). Une voie encore en cours consiste à favoriser le passage d'un pigment constitutif majeur des pétales (la violaxanthine) vers la capsorubine (pigment rouge du poivron), grâce à un gène venant de la tomate (Cadic, communication personnelle).

Chez le pétunia (*Petunia hybrida*) par la surexpression du gène codant pour la dihydroflavonol réductase ou du gène codant pour la flavonoid 3P-5P hydroxylase une gamme variée de coloris a pu être obtenue (Tsuda *et al*., 2004). Le gène codant pour l'hydroxylase a aussi été introduit chez la pensée (*Viola* sp). Sur le cotonnier, des travaux ont été réalisés afin d'obtenir une fibre naturellement colorée en bleu, rouge ou noir (Agracetus-Monsanto) : cela limiterait l'utilisation des teintures, très polluantes. Malheureusement, pour le moment, les couleurs obtenues ne sont pas encore très conformes à ce qui est désiré.

⏩ Variétés transgéniques pour la santé

Des aliments plus sains

Des plantes plus riches en vitamines : exemple du riz doré

Le riz est dépourvu de vitamine A, indispensable au bon fonctionnement de la vision. Dans les populations qui se nourrissent essentiellement de riz il en résulte une carence plus marquée en vitamine A, avec ses conséquences, la cécité. Au niveau géographique, on constate d'ailleurs une superposition entre l'importance du riz dans l'alimentation et les signes cliniques de carence en vitamines (Mason *et al*., 1999). D'après l'Unicef, en 1992, 124 millions d'enfants étaient affectés par cette carence au niveau mondial et chaque année 500 000 enfants deviennent aveugles de façon irréversible (Humphrey *et al*., 1992). Face à une telle situation, différentes approches ont été et sont toujours tentées. La première solution est d'essayer de développer des aliments plus riches en vitamine A. On peut enrichir les aliments traditionnels comme le sucre, l'huile, le blé, le riz, mais cela pose des problèmes technologiques, la vitamine A étant sensible à l'oxydation. On peut aussi promouvoir des produits animaux et végétaux plus riches en pro-vitamine A, mais cela se heurte aux habitudes alimentaires et aussi aux traditions des agriculteurs. Quant à l'approche médicamenteuse on en conçoit ses limites, avec des distributions qui devraient être réalisées au moins deux à trois fois par an. La mise au point

de variétés de plantes riches en pro-vitamine A et correspondant aux espèces déjà cultivées dans les pays concernés apparaît donc comme une solution plus facile à mettre en œuvre que les autres solutions déjà tentées. Ainsi, des programmes d'amélioration de la teneur en pro-vitamine A ont été développés en Inde pour la carotte et pour la patate douce au Mozambique et au Pérou. La transgénèse pourrait être une voie plus rapide et transposable à différentes espèces.

Avec l'aide de la fondation Rockfeller, de la Commission européenne (programme Fair) et du gouvernement suisse, un riz transgénique — dit riz doré (*Golden rice*) à cause de sa couleur — riche en β-carotène (pro-vitamine A) a été mis au point par l'équipe de Potrykus (Ye *et al*., 2000, Potrykus 2001). Dans ce riz transgénique, un précurseur du carotène synthétisé normalement dans l'albumen, le géranylgéranyl diphosphate, est transformé en phytoène par la phytoène synthétase, lui-même transformé en β-carotène par l'action de 3 enzymes : la phytoène désaturase, la β-carotène désaturase et la lycopène β-cyclase. Au total, cette transformation a nécessité l'introduction de 4 gènes qui proviennent soit d'une plante, le narcisse *Narcissus pseudonarcissus* (gènes de la phytoène synthase, de la phytoène désaturase et de la lycopène β-cyclase), soit de la bactérie *Erwinia uredovora* (le gène de la β-carotène désaturase) (Zimmermann et Hurell, 2002).

Ce riz transgénique pourrait aider à résoudre les problèmes de carence en vitamine A. Pour couvrir la totalité des besoins, il faudrait plus d'un kilogramme de riz par jour pour un enfant de huit ans, ce qui est irréaliste. Cependant, la carence n'étant pas totale, 100 g suffirait à assurer chez les enfants au moins 50 % des besoins réels en vitamine A, ce qui réduirait déjà significativement le nombre d'enfants carencés. Mais, il ne faut pas oublier que ces calculs se basent sur les performances d'une variété prototype. On peut espérer qu'avec les progrès dans la transgénèse (y compris la mise au point de nouveaux transgènes) et avec la sélection de matériel adapté, la teneur en pro-vitamine A sera augmentée de façon significative dans les prochaines années. Les inventeurs de ce premier riz doré « *Golden rice 1* » pensaient qu'il devrait être possible de multiplier par 3 à 5 la teneur du prototype actuel. Les travaux plus récents vont bien au-delà de cet espoir. « *Golden rice 2* » obtenu par une équipe de chercheurs de Syngenta (Paine *et al*., 2005) accumule 23 fois plus de provitamine A (soit 37 µg/g) que le prototype développé cinq ans plus tôt (Grusak, 2005). Ces progrès spectaculaires ont été obtenus en remplaçant le gène de la phytoène synthase du narcisse par un gène de la même enzyme mais cloné chez le maïs. Avec un tel progrès, il devient alors possible par ce riz d'envisager de limiter fortement le risque de carence en vitamine A. Pour satisfaire les besoins, il suffirait en effet pour un enfant de deux-trois ans de consommer 72 g de ce nouveau riz par jour, ce qui devient assez réaliste.

Les autres solutions rappelées précédemment (apports directs de vitamine A, autres sources de nourriture avec des légumes riches en β-carotène ou en vitamine A…) sont difficiles à mettre en œuvre et seraient complémentaires. Avec ce riz doré, quelles que ce soient les habitudes alimentaires les besoins en vitamine A seraient réduits de façon significative. Bien sûr à condition que les semences soient gratuites, à la disposition de tous. Or les entreprises qui produisent des variétés transgéniques ne s'intéressent qu'aux marchés solvables, ce qui n'est pas le cas pour de nombreux PVD ; ils ne pourront donc pas acheter ces semences ; de plus, ces mêmes pays ne

peuvent pas développer eux-mêmes les recherches en biotechnologie. Cela ne pourra se faire que par des accords de coopération entre pays, en particulier entre organismes publics de recherches. Dans le cas du riz doré, c'est bien ce qui était prévu, les financeurs du projet ne souhaitant pas tirer profit des recherches, malgré les 72 brevets mis en œuvre et détenus par 30 entreprises. Alors pourquoi une telle réussite technologique n'est-elle pas plus soutenue par les médias ? Certes avec les premières versions de « *Golden rice 1* », les objectifs n'étaient pas atteints, mais la voie était ouverte. Aujourd'hui, la réussite est bien là avec « *Golden rice 2* ». Face aux enjeux, les espoirs permis par un tel projet méritent sans aucun doute d'être soutenus, non seulement financièrement mais aussi « moralement ». L'Irri aux Philippines, sensibilisé à ce que cette transformation génétique peut apporter, a commencé à introduire le caractère « *Golden rice 1* » dans le génome de plusieurs lignées bien adaptées aux conditions locales de culture (Chong, 2003). Cet institut est donc aussi prêt à utiliser « *Golden rice 2* » dans ses programmes d'amélioration. Il faut souhaiter que, comme pour « *Golden rice 1* », les inventeurs ne veuillent pas tirer profit de leur invention.

Cet exemple montre qu'il ne faut pas juger trop rapidement l'intérêt d'une transformation : les premières plantes obtenues sont toujours des prototypes.

Des céréales moins allergéniques

De nombreux aliments traditionnels sont potentiellement allergènes : céréales, oléo-protéagineux, (soja, arachide), fruits, lait, œufs, crustacés, poissons. Alors que la transgénèse est quelquefois accusée de présenter des risques allergéniques (voir chapitre suivant), elle peut au contraire être utilisée pour diminuer l'allergénicité d'un aliment. Exemple : certaines populations humaines sont très sensibles à un allergène majeur du riz, une globuline de 16 kDa. Le blocage de la synthèse de cette globuline par stratégie antisens a permis de diminuer le risque allergénique, bien qu'il puisse rester des allergènes mineurs (Tada *et al*., 1996).

Moins de mycotoxines

Nous avons vu que les grains de maïs *Bt* présentent moins de risque de présence de mycotoxines que les grains de maïs conventionnels (Munkvold *et al*., 1999). Une plus grande sécurité sanitaire est attendue avec les produits dérivés des variétés transgéniques résistantes aux insectes et de façon plus générale avec les variétés autoprotégées qu'avec les produits de l'agriculture biologique. Nous avons déjà souligné la réalité du risque des produits de l'agriculture bio avec le retrait du commerce de lots de maïs doux bio en Angleterre, car ils présentaient un taux de fumonisine anormalement élevé (*Food Standard Agency*, 2003) ; de même en Nouvelle Zélande, en novembre 2002, des courgettes bio ont été identifiées avec une présence anormale de cucurbitacine (*Rural News*).

Les plantes pharmaceutiques (tabl. 4.3)

Les plantes productrices de protéines pharmaceutiques

Actuellement, la production de protéines pharmaceutiques se fait soit par synthèse chimique, soit en fermenteurs à partir de micro-organismes ou de cellules

transgéniques (bactéries, levures ou cellules animales). Ces productions, outre leur coût et leur manque de souplesse, ne sont pas sans danger. Elles peuvent être sources ou vecteurs potentiels de contamination par un agent pathogène transmissible à l'homme. De plus, il n'est pas possible de faire produire aux bactéries des protéines glycosylées (la glycosylation étant une modification post-traductionnelle qui donne à la protéine sa structure proche de la protéine humaine). Les levures installent bien des chaînes glycosidiques, mais différentes de celles rencontrées chez l'homme. L'hormone de croissance ou l'insuline, qui ne sont pas glycosylées peuvent être produites par des bactéries ou des levures. Par contre l'érythropoïétine, protéine glycosylée, doit être produite dans un système cellulaire mammifère. Les plantes pourraient aussi permettre la production d'anticorps monoclonaux de plus en plus utilisés en médecine. En effet, comme les cellules de mammifères, elles sont capables d'associer, par des ponts disulfure, les chaînes lourdes et légères constitutives d'un anticorps (Faye *et al*., 2003).

Les avantages de la plante par rapport aux autres moyens seraient (Twyman *et al*., 2003) :
– une plus grande souplesse car on peut ajuster facilement la surface cultivée à la demande, même pour des quantités importantes ; le temps de production est évidemment plus long que celui avec des fermenteurs ;
– une technicité moindre, alors que pour les grosses unités de fermenteurs, une très grande technicité est nécessaire,
– un moindre coût : ainsi, par exemple, l'obtention d'anticorps monoclonaux reviendrait à environ 0,05 dollar par gramme, alors que la même production dans des cultures de cellules de mammifères coûte 150 dollars par gramme (Dove, 2002) ; par rapport à la fermentation microbienne, la production de protéines recombinantes par les plantes serait d'un coût 10 à 50 fois plus faible (Twyman *et al*., 2003) ; de plus, le coût de stockage est faible ;
– une sécurité sanitaire plus grande, bien plus grande qu'avec des cellules animales, les plantes ne contenant pas de prions ou de virus dangereux pour l'homme ;
– l'absence de risque microbiologique, alors qu'avec les bactéries les risques sont grands ;
– une assez bonne conformité tridimensionnelle des protéines obtenues (glycosylation), meilleure qu'avec les bactéries ou la levure, moins bonne qu'avec des cellules de mammifères ; il faudra donc faire des tests d'efficacité ; cette conformité, résultat de modifications post-traductionnelles, dépend beaucoup de l'organisme récepteur du gène.

Accumulation dans la feuille ou dans la graine ?

Dans cette production, la plante est considérée comme une usine de synthèse de substances particulières, souvent des protéines. Ces protéines sont produites le plus souvent dans les feuilles de tabac (car c'est une espèce facile à transformer), mais avec une teneur relativement faible. La transformation au niveau du chloroplaste est favorisée car elle présente bien des avantages. Elle permet des teneurs plus élevées (7 % des protéines totales solubles pour l'hormone de croissance). En effet il est possible d'avoir un très grand nombre d'insertions au niveau du chloroplaste, ce qui entraîne une surexpression du gène, donc une production de protéines plus élevée. De plus cette production est localisée dans le chloroplaste, ce qui peut

Tableau 4.3. Quelques exemples de production de substances pharmaceutiques par les plantes transgéniques (d'après Ma *et al*., 2003).

Protéines recombinantes	Plante hôte	Observations
Protéines « médicaments »		
hormone de croissance	tabac, tournesol	1re protéine humaine produite dans une plante (1986), (chloroplaste)
sérum albumine	tabac, pomme de terre	chloroplaste
érythropoïétine	tabac	culture en suspension de cellules
interféron	riz, navet	1re protéine humaine produite dans le riz
collagène	tabac	1re production par les plantes d'une protéine « humanisée »
Anticorps		
IgG1 (immunoglobuline)	tabac	depuis 1989
Vaccins		
hépatite B	tabac, pomme de terre	depuis 1989
virus de la rage	tomate	
toxine B du choléra	tabac, pomme de terre	

faciliter son extraction. Enfin on peut ainsi éviter, ou limiter la dissémination du transgène par le pollen en empêchant les plantes de fleurir en utilisant une stérilité mâle ou en castrant manuellement, comme dans le cas du maïs.

Cependant, les feuilles constituent un environnement aqueux et en conséquence présentent l'inconvénient de ne pouvoir être stockées qu'après congélation ou séchage. Pour éviter cela, les protéines doivent être extraites aussitôt après la récolte, ce qui est contraignant. De ce point de vue là, la culture de suspensions cellulaires en fermenteurs est plus souple. Mais un équipement en fermenteurs ne permet pas de répondre aussi facilement que les plantes à une augmentation de la demande. Les feuilles ont un autre inconvénient : il peut y avoir une activité protéasique et surtout la présence de phénols difficiles à éliminer et qui gênent l'extraction. Enfin, si la production dans les feuilles ne présente pas de risques pour la santé humaine (qui consomme des feuilles de tabac ou de maïs ?), ils existent pour la faune sauvage.

Pour répondre à ces inconvénients de l'accumulation des protéines dans les feuilles, il est possible de les accumuler dans un grain de céréales : elles se conserveront alors facilement, sous forme stable, à température ambiante sans perte d'activité (Stöger *et al*., 2000) ; cela a déjà été développé chez le riz et le blé pour produire des anticorps utilisés dans la lutte contre certains cancers. Cependant les graines sont inadaptées pour la synthèse de certaines protéines complexes (Faye *et al*., 2002). Les inconvénients majeurs de passer par les graines sont d'une part, le risque de mélange de graines transgéniques avec des graines normales et d'autre part, le risque de pollinisation de cultures non transgéniques par du pollen porteur du transgène (voir chapitre suivant). Il faudrait donc des filières très nettement séparées, voire ne faire

ce type de production qu'avec des plantes complètement différentes de celles destinées à l'alimentation humaine bien que nous le verrons au chapitre suivant, avec des mesures d'isolement des productions, les risques pour la santé soient très faibles, voire nuls. Cependant, si des plantes de grande culture ont été retenues, c'est à cause de leur potentialités de rendement et de leur culture parfaitement maîtrisée. Le choix d'espèces « exotiques » augmenterait le prix des productions.

Comme autres exemples importants de développements en cours, on peut citer la production d'immunoglobulines A, la production de lipase pancréatique utilisée dans la lutte contre la mucoviscidose (essais détruits en 2003, alors qu'il y a un déficit en production de lipase), la production d'hémoglobine déjà réalisée expérimentalement chez le tabac, la production de collagène pour soigner les arthroses (tabl. 4.3).

Les plantes productrices de vaccins

Comme exemple de vaccins produits ou faisant l'objet de tentative de production par les plantes, on peut citer les vaccins contre l'hépatite B (Richter *et al*., 2000), la gastro-entérite (Yu et Langridge, 2003) avec des possibilités de vaccination par la voie orale. Des travaux sont aussi menés pour la production de vaccins contre certains cancers (des vaisseaux lymphatiques, du sein, du pancréas, des ovaires, de l'intestin).

Le vaccin contre le virus de l'hépatite B (HBV) est jusqu'à aujourd'hui produit par des levures transgéniques à partir d'un gène codant pour les antigènes de surface du virus. La production se fait en fermenteurs ; cependant la protéine produite doit être transformée chimiquement pour être glycosylée (structure tridimensionnelle nécessaire chez les mammifères ; on dit qu'elle doit être « humanisée »). Le vaccin est donc coûteux à produire, et ce procédé ne permet pas d'engendrer les quantités nécessaires au niveau de toute la planète. Il est donc important de rechercher d'autres systèmes de production. Dans ce but, le gène utilisé chez la levure, a été introduit chez la pomme de terre, avec un promoteur permettant l'expression du gène au niveau du tubercule ; les plantes transgéniques obtenues ont bien montré une production directe de la protéine avec la bonne structure 3-D, qui est donc attendue efficace sans transformation supplémentaire. Cette efficacité a même été vérifiée par voie orale, au niveau de souris nourries avec les pommes de terre contenant le vaccin (Richter *et al*., 2000). Il faudrait toutefois augmenter le taux d'expression du gène. Il en résulterait alors une production plus économique et plus sûre sur le plan sanitaire (moins de risque de contamination).

Les alicaments

Le concept est de faire produire les médicaments dans les aliments. On en voit tous les avantages dans les pays ne pouvant pas faire face à leurs besoins de vaccination. On peut ainsi avoir une banane vaccinant contre l'hépatite B, un melon efficace contre l'hypertension, un riz apportant l'insuline nécessaire aux diabétiques. C'est le cas du riz doré déjà présenté qui apporterait la provitamine A. Plus récemment des chercheurs japonais ont créé un riz transgénique produisant une hormone, le GLP-1, qui accroît la sécrétion d'insuline et abaisse le taux de glucose dans le sang : avec une consommation de 150 g/repas, ce riz serait efficace contre le diabète de

type II (diabète gras) (Endo *et al*., 2003). La vie des diabétiques, obligés de s'injecter régulièrement de l'insuline, serait donc complètement changée.

L'avantage de cette accumulation des médicaments dans les aliments est que l'extraction des protéines correspondant à l'expression du transgène n'est pas nécessaire. Cela peut contribuer à diminuer le coût du traitement d'une carence, le coût d'une vaccination et être un outil très efficace de prophylaxie. De ce point de vue, la banane peut être un « support » très intéressant, car elle est largement produite et consommée dans des pays où il y a un grand besoin de vaccination, comme en Afrique tropicale ou équatoriale, et elle peut être consommée crue ou en purée par les adultes et les enfants.

⏩ Variétés transgéniques pour l'alimentation animale

L'amélioration de la qualité protéique pour les animaux monogastriques

Les animaux monogastriques (porcs, volailles, chevaux) ont, comme l'homme, des besoins en acides aminés indispensables pour leur croissance, comme la lysine, le tryptophane, la méthionine, etc. Les programmes de transgénèse chez les céréales et la pomme de terre pour avoir des protéines plus riches en ces acides aminés, déjà mentionnés pour l'amélioration de la nutrition humaine, seront aussi très utiles pour l'alimentation animale. Un maïs riche en méthionine éviterait d'avoir recours à la méthionine de synthèse dans la fabrication d'aliments pour poulet. Des légumineuses sont aussi transformées dans ce but. Ainsi, la teneur en méthionine du lupin (*Lupinus angustifolius*) a pu être multipliée par deux par le transfert d'un gène codant pour une protéine soufrée du tournesol (Molvig *et al*., 1997).

L'amélioration de la digestibilité de la plante entière

La lignine, polymère phénolique complexe, constitue un facteur limitant de la digestibilité des fourrages par les ruminants, et donc aussi du maïs ensilage. De plus, par ses liaisons avec les autres constituants pariétaux, elle joue également un rôle sur la dégradabilité des parois cellulosiques. Dans les conditions naturelles, la teneur et la nature de ce polymère présentent une grande variabilité génétique chez le maïs. Des gènes sont connus depuis longtemps pour affecter à la fois la teneur et la nature de la lignine (gènes *brown midrib*, *bm1, bm2, bm3…*). Les sélectionneurs ont tenté d'utiliser le gène *bm3*. Il est apparu que s'il augmentait bien la digestibilité des ensilages, il entraînait une forte sensibilité à la verse. Les études biochimiques réalisées sur ce mutant ont montré l'importance de deux étapes catalysées par une O-méthyltransférase (OMT) et par l'alcool cinnamylique déshydrogénase (CAD). Les gènes codant pour les enzymes OMT et CAD ont été clonés et introduits chez le tabac. Dans certaines expériences réalisées, il apparaît chez les plantes transgéniques une diminution du contenu en lignine, mais dans d'autres expériences, avec d'autres transformants, il y a diminution de la teneur en unités syringiles (de 40 à 90 %) sans modifier la teneur en lignine, avec une dégradabilité par la cellulase

nettement améliorée. Ces transformants pourraient alors permettre de réaliser le compromis d'une résistance à la verse et d'une bonne digestibilité. Des résultats analogues ont été obtenus avec des transformants à a ctivité CAD réduite. Les constructions génétiques les plus intéressantes sont en cours de transfert chez le maïs (Barrière *et al*., 2003).

La digestibilité du phosphore des graines par les monogastriques

Les phosphates du grain de maïs (et d'une façon plus générale, des grains de céréales) sont indigestibles, car sous une forme liée à l'acide phytique qui représente 90 % du phosphore total de la graine. Il est donc rejeté en grande partie (entre 50 à 80 %) par les animaux consommateurs (monogastriques), au point même qu'il faut ajouter du phosphore libre dans la ration. Ceci entraîne de graves problèmes de pollution (eutrophisation des eaux dans les régions d'élevages intensifs de porcs), ainsi que des carences en phosphore et en certains ions chez les animaux.

Des mutants à bas niveau d'acide phytique ont été identifiés chez le maïs, l'orge, le riz. Les graines de ces mutants présentent une faible teneur en acide phytique, avec une teneur en phosphore égale aux graines non mutantes. Comme attendu, le phosphore de ces mutants est bien utilisé par les animaux qui excrètent donc moins de phosphore (Galili *et al*., 2000). Le problème est que ces mutations ont un effet négatif sur le rendement. Il faudrait donc trouver d'autres mutants pour rompre, si possible cette liaison négative entre faible teneur en acide phytique et rendement en graines. La transgénèse peut être une voie plus rapide et plus sûre (d'un point de vue probabilité de réussite).

L'acide phytique n'est pas dégradé par les monogastriques, par contre il est dégradé par des bactéries et des champignons par l'intermédiaire d'une enzyme, la phytase. On a donc cloné, transféré et surexprimé le gène codant pour cette enzyme chez plusieurs plantes (le plus souvent celui d'*Aspergillus niger*, une moisissure). Chez *Arabidopsis*, au niveau des graines, l'effet a bien été conforme a ce qui était attendu, l'enzyme était bien présente et stable même après un a nd estockage des graines ; des rations avec ces graines ont permis une libération du phosphore entraînant des croissances de poulet comparables à celles obtenues avec des graines non transgéniques complémentées avec du phosphore minéral (Pen *et al*., 1993). Deux constructions avec le gène d'*Aspergillus niger* ont été introduites chez le blé. La phytase était secrétée à un taux quatre fois plus fort que chez les plantes non transgéniques (Brich-Pedersen *et al*., 2000). Il apparaît donc possible de produire par cette voie des grains de céréales riches en phytase. Chez le maïs, une autre voie a aussi été tentée. Cette espèce utilise normalement le phosphate lié à l'acide phytique lors de l'étape de germination grâce à la phytase, qui n'est synthétisée que pendant cette phase (Maugenest *et al*., 1997, 1999). L'idée a donc été de faire exprimer cette enzyme pendant la phase de maturation du grain. Dans ce but, la séquence codant pour la phytase a été placée sous le contrôle d'un promoteur de gènes s'exprimant au cours de la formation de la graine. Les premières plantes transgéniques obtenues sont en cours d'étude. C'est donc encore un cas de transgénèse avec un gène « modifié » issu de la même espèce.

⏩ Variétés transgéniques pour l'industrie

La qualité des amidons pour usage alimentaire ou industriel

L'amidon résulte de la transformation du saccharose par polymérisation de molécules de glucanes. La molécule résultante peut être peu ramifiée, et cela correspond à l'amylose, ou très ramifiée, et cela correspond à l'amylopectine. Ces deux formes d'amidon souvent présentes ensemble chez les plantes n'ont pas les mêmes propriétés et les mêmes usages industriels. L'amylopectine sert à épaissir les gelées de fruits, mais, très résistante, elle est aussi utilisée en industrie textile et papetière ; l'amylose peut être utilisée comme gélifiant et intervient dans la fabrication de films plastiques pour l'emballage des produits alimentaires.

Le maïs et la pomme de terre sont les deux grandes sources d'amidon pour l'industrie. L'amidon du grain de maïs normal contient 25 % d'amylose et 75 % d'amylopectine. On connaît depuis longtemps plusieurs gènes qui affectent les proportions de ces deux formes d'amidon : le gène waxy *(wx)* permet d'avoir 100 % d'amylopectine et le gène amylose extender *(ae)* fait passer à une forte teneur en amylose. Ces gènes existent aussi chez d'autres céréales (riz en particulier). La transgénèse a ici pour but d'avoir des gènes plus efficaces afin de mieux contrôler la qualité des amidons (taille des granules, présence de lipides…). La pomme de terre est aussi une source d'amidon à qualité technologique variée, et intéressante à cause de sa viscosité. Des travaux ont été réalisés pour avoir un amidon de pomme de terre dépourvu d'amylose. Pour cela une stratégie antisens, introduisant la séquence codante de l'amidon synthase (enzyme importante de la biosynthèse de l'amidon) en orientation inverse, a été utilisée (Shewmaker et Stalker, 1992). L'inconvénient de la pomme de terre est qu'elle n'est pas facile à stocker, d'où l'idée de transformer l'amidon de maïs pour en faire un amidon aux qualités technologiques de la pomme de terre. Ces travaux sont en cours.

Des huiles particulières en jouant sur la longueur de la chaîne de synthèse des acides gras

Dans l'industrie, les acides gras peuvent avoir une utilisation très variée suivant la longueur de leur chaîne : ils interviennent par exemple dans la fabrication de savons et de détergents (acide laurique), dans certains lubrifiants en aviation (acide érucique) et en cosmétologie (acide γ-linolénique). Différentes stratégies ont été appliquées avec succès pour les faire produire en grandes quantités à des plantes déjà sélectionnées pour la production d'huile, comme le colza. Le laurier de Californie (*Umbellularia californica*) est connu pour synthétiser des acides gras à chaîne courte, l'acide caprique (10:0) et l'acide laurique (12:0). Cette production d'acide gras à 12 carbones est due la présence d'une enzyme (l'acyl-ACP thioestérase) qui empêche l'élongation de la chaîne. Le gène codant pour cette enzyme a été cloné, placé sous contrôle d'un promoteur « protéine de réserve des graines » et transféré chez *Arabidopsis,* plante très proche du colza, qui produit normalement des acides gras à longue chaîne (plus de 16 carbones) : les plantes transformées produisaient alors surtout de l'acide laurique. Par cette même démarche, la

teneur de l'huile de colza en acide laurique est passée de 1-2 % à plus de 40 % (Voelker *et al*., 1996). Des plantes transgéniques de colza produisant 10 fois plus d'acide érucique que par les gènes « naturels » actuellement connus ont aussi été développées. De même, l'acide γ-linolénique, très utilisé dans les produits cosmétiques, est très coûteux à produire à partir de la bourrache ou des œnothères. Le transfert dans le colza du gène codant pour la Δ6-désaturase, issu de la Bourrache (Reddy et Thomas, 1996), permettrait une production plus économique de cet acide gras.

Industrie du papier à partir du bois

L'industrie à papier est très polluante du fait de l'élimination de la lignine. Pour produire la pâte à papier Kraft, il faut 800 kg de soude et 300 kg de sulfure de sodium par tonne de lignine enlevée, produits qui ne sont qu'en partie recyclés. De plus, l'élimination des lignines résiduelles liées aux celluloses nécessite l'utilisation de puissants oxydants comme le dioxyde de chlore (ClO_2) et l'eau oxygénée (H_2O_2) pouvant avoir un effet sur l'environnement. Sans ce traitement, le papier jaunit lors d'une exposition prolongée à la lumière (cas du papier journal fait à partir de pâtes à forte proportion de lignines résiduelles). L'élimination ou le blocage des enzymes impliquées dans la synthèse de la lignine permettrait de réduire de 45 % le taux de lignine dans le bois ou de modifier sa qualité (plus facile à extraire et pâte plus facile à blanchir). Il en résulterait une plus grande facilité et efficacité dans la production de pâte à papier et surtout une pollution moindre de l'environnement (Pilate *et al*., 2004). Cette diminution de la teneur en lignine peut se faire en diminuant l'activité de la CAD (alcool cinnamylique déshydrogénase) par la stratégie antisens (la CAD catalyse le passage de composés phénoliques aux monolignols), (Baucher *et al*., 1998). La faible activité CAD conduit à des lignines enrichies en groupes phénoliques libres, plus solubles en milieu alcalin. Une diminution de la teneur en lignine a aussi été obtenue en bloquant, aussi par stratégie antisens, l'activité de l'enzyme COMT (caffeate/5-hydroxyférulate O-méthyltransférase). Les travaux sont assez avancés chez le peuplier, l'eucalyptus et l'épicéa (Boudet, 1996). Sur le peuplier, les premiers tests « agronomiques » ne montrent aucun effet de la modification sur la croissance en hauteur et le diamètre du tronc. De même, dans la première expérience, les variétés transgéniques ne sont pas apparues plus sensibles aux insectes. Cependant, d'autres expériences ont montré un effet défavorable très fort sur la croissance suite à une trop forte diminution de l'activité CAD ; il ne faudrait pas trop la réduire. Du point de vue de la composition chimique et de l'aptitude au traitement industriel, les premiers résultats vont bien dans le sens attendu, le meilleur clone obtenu demanderait moins d'éléments chimiques pour atteindre le même niveau de délignification que le témoin, avec à la fin des qualités de pâtes supérieures. Il en résulterait aussi un moindre relargage d'eaux usées (Lapierre *et al*., 1999). L'évaluation de peupliers âgés de quatre ans avec les deux types de transformation (CAD et COMT) a confirmé l'intérêt des transformants CAD, avec une délignification plus facile, demandant moins de produits chimiques (6 % de moins), tout en donnant une pâte de meilleure qualité et sans que la croissance des arbres ou leur adaptation au milieu soit affectée (Pilate *et al*., 2002).

Les biocarburants

Deux types de biocarburants sont actuellement utilisés : l'éthanol, incorporé dans l'essence, et le diester incorporé dans le gasoil. L'éthanol produit par fermentation à partir du sucre ou de l'amidon contenu dans les plantes pourrait être obtenu de façon moins coûteuse grâce à la transgénèse. Par modification des ligno-celluloses pour les rendre plus fermentescibles, il serait possible d'envisager une production d'éthanol à un prix concurrentiel de celui du gazole. De même l'utilisation du diester à partir du colza deviendrait plus rentable en améliorant la quantité et la qualité de l'huile produite. Cela permettrait le développement des biocarburants dont les qualités écologiques sont largement reconnues : forte biodégradabilité, faible toxicité, moindre émission de gaz carbonique. De plus, on remplacerait une ressource en énergie fossile par une ressource renouvelable.

La fabrication de biomatériaux

La transgénèse permettrait la production de matériaux plastiques biodégradables (Bongcam *et al*., 1998). On pourrait ainsi produire des matières plastiques présentant des propriétés physiques similaires à celles du polypropylène ou du polyéthylène d'origine fossile, mais ne contribuant pas à polluer l'environnement et permettant de s'affranchir de l'utilisation d'une ressource non renouvelable. De tels polymères s'accumulent sous forme d'inclusions chez certaines bactéries, comme certaines souches de *Ralstonia eutropha* qui synthétisent des polyhydroxybutyrates (PHB) comme composés carbonés de réserve. Ces matières plastiques ont l'avantage d'être complètement dégradées en quelques mois, en eau et gaz carbonique par les bactéries présentes dans l'environnement. La production de PHB est déjà réalisée par culture de la bactérie en fermenteurs. Cependant, cette production est coûteuse, d'où l'idée de faire accumuler le PHB chez les plantes en leur transférant les gènes qui codent pour la synthèse du PHB chez la bactérie *Ralstonia eutropha*. Le PHB est synthétisé à partir de l'acétyl-coenzyme A (CoA), qui est produite par toute plante. À partir de CoA, trois gènes codant pour les enzymes impliquées dans la synthèse du PHB ont été identifiés chez la bactérie : *phbA*, *phbB* et *phbC*. L'enzyme codée par *phbA*, la 3-cétothiolase, est déjà présente chez les plantes ; il a suffi d'introduire le gène *phbB* qui code pour l'acéto-acétyl-CoA réductase et le gène *phbC* qui code pour la PHB synthase. Leur transfert chez *Arabidopsis* a effectivement permis d'observer des inclusions de PHB dans le cytoplasme, la vacuole et même le noyau des plantes transformées. Mais, cette accumulation avait un effet toxique. En faisant s'exprimer les transgènes dans les plastes, on a obtenu des plantes aussi vigoureuses que les témoins et avec une accumulation de PHB pouvant atteindre 14 % du poids de matière sèche.

⏩ Variétés transgéniques pour le type de variétés et pour éviter les flux de pollen : la stérilité mâle

Chez les plantes allogames, voire chez certaines plantes autogames (voir chap. 2) les variétés hybrides (résultant du croisement d'un parent femelle et d'un parent mâle)

ont de nombreux avantages pour l'agriculteur : vigueur, stabilité de rendement, homogénéité, meilleure résistance à différents stress. Pour l'obtenteur de variétés, elles permettent de réunir facilement dans un même génotype un grand nombre de gènes dominants favorables, accélérant ainsi la mise à la disposition de l'agriculteur de variétés performantes ; de plus, le renouvellement des semences, quasi-obligatoire, assure le financement de la recherche et favorise donc le progrès génétique. Leur production nécessite un système de castration à grande échelle du parent femelle qui soit facile à utiliser. La castration manuelle ou mécanique n'est pas toujours possible et dans le cas le plus favorable, comme chez le maïs, plante qui a une inflorescence mâle terminale, elle est coûteuse (de l'ordre de 1 300 euros/ha). La castration chimique, utilisée chez quelques espèces (blé) est délicate car il faut tuer le pollen sans toucher à la qualité des ovules, ce qui implique de trouver les bonnes molécules et le bon stade de traitement. Les résultats sont aussi très dépendants des conditions climatiques. La castration génétique est une solution assez élégante lorsqu'elle peut être trouvée dans l'espèce sélectionnée et si elle n'a pas d'effets défavorables. Elle fait intervenir à la fois des gènes cytoplasmiques et des gènes nucléaires (voir encadré 4.2). De ce fait, elle est assez lourde à utiliser car pour produire le parent femelle à grande échelle, il faut développer un parent isogénique fertile, mainteneur de stérilité, et si l'objectif est de produire des grains, il faut des gènes de restauration (allèles des gènes de stérilité) chez le parent mâle. De plus, elle n'est pas sans risque car la diffusion à grande échelle d'un cytoplasme peut entraîner la sélection de certains parasites, comme en 1970 aux États-Unis, avec l'helminthosporiose.

Encadré 4.2. La stérilité mâle nucléo-cytoplasmique

La stérilité mâle nucléo-cytoplasmique est le résultat de la présence d'un cytoplasme particulier (S) et d'un allèle de stérilité (*ms*) à un locus (quelquefois deux) contrôlant la fertilité. Si le cytoplasme est normal (N) ou si, au niveau du noyau, l'allèle de restauration de la fertilité (*Ms*) est présent, alors la plante est fertile. Nous supposons pour simplifier que les gènes nucléaires sont à l'état homozygote.

	noyau *MsMs*	noyau *msms*
cytoplasme [N]	[N] *MsMs* fertile, restaurateur de fertilité	[N] *msms* fertile, mainteneur de stérilité
cytoplasme [S]	[S] *MsMs* fertile, restaurateur de fertilité	[S] *msms* stérile

Les plantes [S] *msms* sont mâles-stériles, c'est-à-dire qu'elles ne fonctionnent que comme femelles. Pour les reproduire, elles doivent être croisées avec des plantes fertiles de génotype [N] *msms*. Le cytoplasme se transmettant par la voie maternelle, et le noyau étant *msms* la descendance de ce croisement est stérile à 100 %. C'est pourquoi les plantes [N] *msms* sont appelées « mainteneuses de stérilité ». Pour avoir une descendance qui produise des grains (cas d'une plante cultivée pour sa production de grains) la lignée mâle stérile doit être croisée par une lignée [N] *MsMs*. Dans ce cas, la descendance est fertile à 100 % ; la lignée [N] *MsMs* est dite restauratrice de fertilité.

Les stérilités-mâles géniques artificielles peuvent être une solution pour avoir une castration facile à grande échelle, lorsque la stérilité mâle nucléo-cytoplasmique n'a pas été trouvée dans l'espèce sélectionnée ou si elle est associée à des caractères défavorables. Des gènes chimériques, codant pour une enzyme (une ribonucléase) entraînant la destruction du tapetum des anthères par hydrolyse des ARN messagers de ce tissu, ont été développés (fig. 4.4., Mariani *et al*., 1990) et introduits dans le génome de différentes plantes. Les constructions utilisées comprenaient essentiellement un promoteur spécifique du tapetum, isolé chez le tabac, ne s'exprimant que dans ce tissu, et un gène de ribonucléase isolé chez la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens*. Le tapetum, assise nourricière des grains de pollen, ne se développant pas, les plantes sont alors mâles-stériles, mais femelles fertiles. Cette stérilité est maintenue à l'état hémizygote par croisement avec une forme fertile ; elle donne une ségrégation avec 50 % de plantes fertiles et 50 % de plantes stériles. Pour avoir une lignée totalement femelle, il faut donc pouvoir détruire les plantes fertiles, d'où l'idée d'ajouter un transgène de résistance à un herbicide, la phosphinothricine (Basta®). En traitant à l'herbicide au stade jeune, la lignée femelle en ségrégation, il ne reste que les plantes stériles.

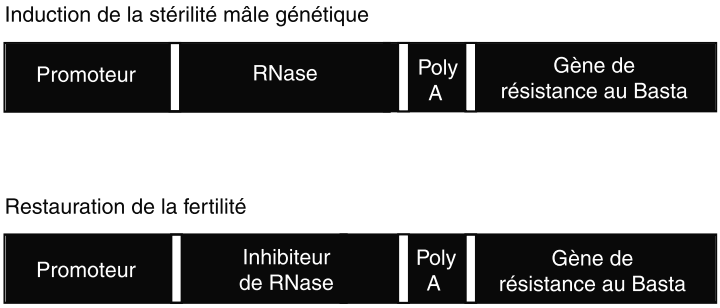


Figure 4.4. Constructions génétiques pour induire la stérilité mâle et pour la restaurer.
En haut, les plantes porteuses de la construction sont stériles car les cellules du tapetum sont détruites par une enzyme, une RNase. Pour la reproduire, il faut la croiser avec une plante normale fertile : la descendance d'une plante hemizygote pour le transgène donnera 50 % de plantes fertiles et 50 % de plantes stériles. Pour n'avoir que des plantes femelles, il faut détruire les plantes mâles-fertiles. Par traitement à l'herbicide (Basta®) de toutes les plantes, seules les plantes stériles avec le gène de résistance à l'herbicide (très lié au gène de stérilisation) survivront. Pour que les semences hybrides produisent des graines, il faut restaurer la fertilité, d'où la deuxième construction (en bas). C'est la même construction, mais à la place du gène codant pour la RNase il y a un gène codant pour un inhibiteur de RNase. La plante qui a les deux transgènes sera donc fertile et résistante au Basta®, ce qui permettra le désherbage de la culture.

Pour pouvoir produire des grains, un autre gène chimérique a été mis au point et introduit chez le mâle pour restaurer la fertilité. La partie codante de ce gène chimérique a été encore trouvée chez la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens* qui synthétise la ribonucléase (barnase) ; cette bactérie est en effet naturellement protégée contre les effets de la barnase par un inhibiteur protéique, le barstar. Le gène qui code pour cette protéine a été cloné, placé sous contrôle du promoteur spécifique du tapetum et introduit dans différentes plantes (fig. 4.5, Mariani *et al*., 1992). Lorsque ces plantes sont croisées avec les plantes rendues stériles par l'introduction de la construction précédente, la descendance a une fertilité mâle restaurée.

En effet, les deux protéines barnase et barstar forment un complexe qui perd son activité ribonuléasique, ce qui permet au tapetum et donc aux grains de pollen de se développer normalement.

L'avantage de ce système de stérilité mâle, mis d'abord au point chez les crucifères, est qu'il peut en principe être développé chez n'importe quelle espèce. Il était d'ailleurs en plein développement sur différentes espèces, lorsque le blocage des plantes transgéniques est arrivé en 1998. Ce blocage a empêché le développement de variétés hybrides chez certaines espèces où elles seraient justifiées et a donc ralenti le progrès génétique.

Outre son intérêt pour le développement de variétés hybrides, la stérilité mâle peut être utilisée pour limiter ou empêcher le flux de transgènes (voir chapitre 5), et aussi pour stimuler la croissance. En effet, la production de pollen est coûteuse en énergie, ce qui peut être aux dépens de la croissance d'une plante qui ne serait utilisée que pour ces parties végétatives. Ainsi, chez le pin et l'épicéa on a pu observer des gains de croissance non négligeables. De même, chez le maïs (et sans doute d'autres espèces), Weingartner *et al*. (2002) ont montré que les formes mâles-stériles non restaurées, lorsqu'elles sont pollinisées, avaient un rendement en grains supérieur à leur forme isogénique restaurée de l'ordre de 10-15 %. Pour exploiter cet avantage, la quantité de pollen n'étant que rarement limitante, si la production de graines est recherchée, il suffit donc de commercialiser un mélange de forme non restaurée (85 %) et de forme restaurée (15 %) ou d'un autre pollinisateur. De plus, cela permettrait de récolter des grains issus de croisement, donc manifestant le maximum d'hétérosis, alors que par culture d'un hybride simple (croisement de deux lignées) le grain récolté est le résultat d'une autofécondation (Bulant, 1997 ; Bulant et Gallais, 1999 ; Weingartner *et al*., 2002). Enfin, un autre avantage des

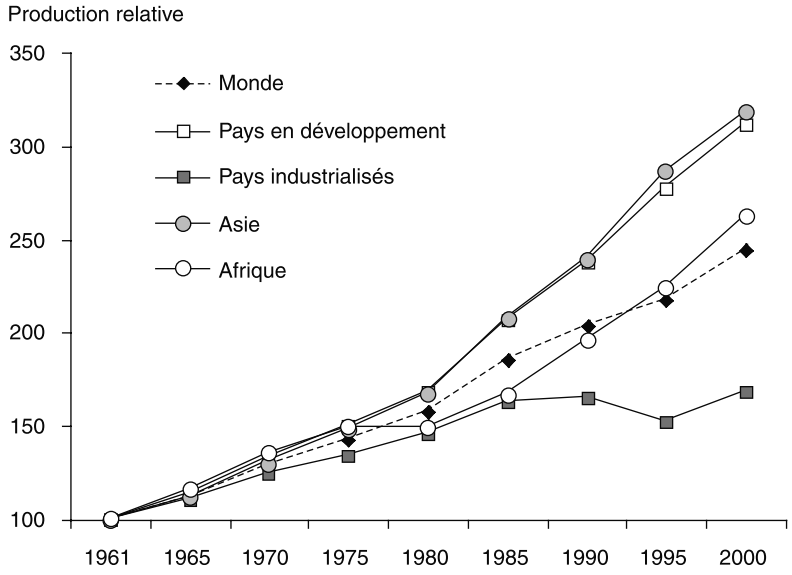


Figure 4.5. Évolution de la production végétale relative dans les différentes parties du monde (100 en 1961) (FAO, d'après P. Brabant, communication personnelle).

plantes mâles-stériles serait la prévention des allergies à certains pollens. Cela n'est toutefois envisageable que pour les plantes pour lesquelles la production de pollen n'est pas nécessaire (cas de plantes utiles par leur partie végétative comme des arbres forestiers ou certains arbres ou arbustes décoratifs).

⏩ L'apport possible des variétés transgéniques pour les PVD

Évolution de la population mondiale

La population mondiale en 2000 était chiffrée à 6 milliards. Des projections réalisées par la FAO conduisent à prévoir en 2030 une population de 8,27 milliards, soit une augmentation de 36 %. Mais cette présentation globale cache des différences importantes. Pour les pays développés, la population qui est déjà pratiquement stabilisée n'augmenterait que de 3 % en trente ans. À l'extrême, en Afrique, une augmentation de 89 % est prévue (tabl. 4.4).

Tableau 4.4. Évolution de la population mondiale (en milliards d'habitants)

	2000	Coefficient multiplicateur	2030
Population mondiale	6,06	1,36	8,27
Pays développés	1,32	1,03	1,36
PVD	4,74	1,46	6,91
Asie	3,67	1,35	4,95
Afrique	0,79	1,89	1,49

Source : FAO.

Évolution de la production

Sur une base de 100 en 1961, la production agricole a été multipliée par plus de 3 en quarante ans en Asie et dans les PVD. En Afrique, elle a été multipliée par un facteur 2,5 alors que dans les pays développés le coefficient multiplicateur n'a été que de 1,6 à 1,7, avec une stabilité depuis 1985 (fig. 4.5).

Cependant au niveau mondial la production *per capita* (fig. 4.6) a été seulement multipliée par 1,2 et stagne depuis 1980. Cette stagnation cache plusieurs faits :
– le cas des pays développés pour lesquels la population augmente légèrement alors que la production est stabilisée depuis quinze-vingt ans, d'où une diminution de la production *per capita* mais qui est à haut niveau ;
– le cas de l'Afrique où depuis les années 1970 la population a augmenté plus vite que la production agricole (avec un bas niveau de celle-ci) d'où une diminution très nette de la production *per capita* ;
– le cas de l'Asie, où la production augmente plus vite que la population, d'où une augmentation de 50 % de la production *per capita* sur une période quarante ans.

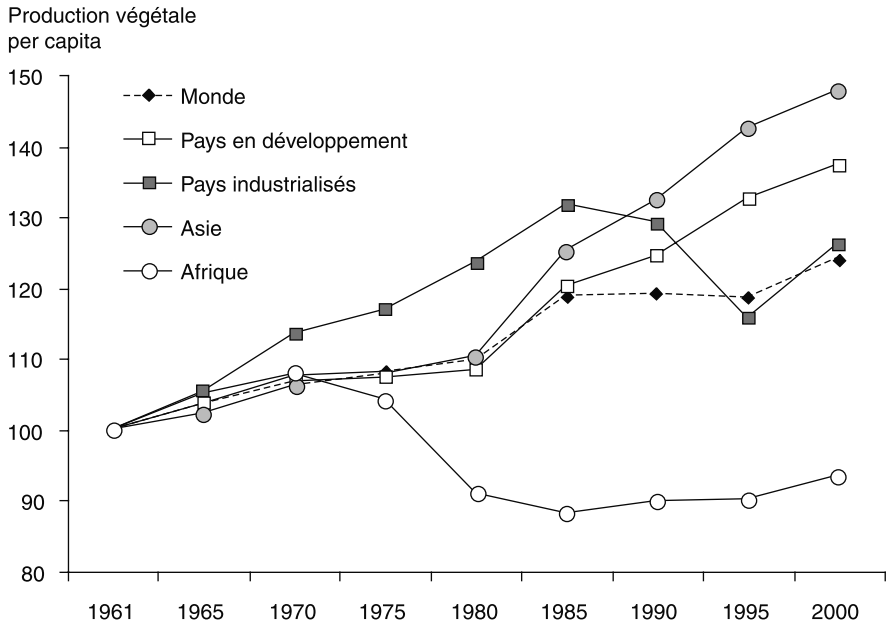


Figure 4.6. Évolution de la production végétale relative disponible par habitant dans les différentes parties du monde (100 en 1961) (FAO, d'après P. Brabant, communication personnelle).

La production agricole mondiale actuelle permet d'assurer un apport moyen journalier de 2 780 calories par habitant. Le minimum vital est de l'ordre de 2 300 calories : il n'y a donc pas globalement de déficit de la production agricole (d'après le *World Ressources Institute*), mais cette production n'est pas régulièrement répartie. Avec 90 % de la population supplémentaire localisée dans le sud, et avec 800 millions de personnes sous-alimentées, c'est dans ces régions qu'il faut rechercher à augmenter les productions. Or, c'est précisément là qu'aujourd'hui une diminution de la production par habitant est enregistrée, car l'agriculture ne s'y est pas suffisamment développée, essentiellement pour des raisons à la fois sociales et politiques. Dans ces pays la surface par habitant ne peut plus être augmentée (à l'exception peut-être de certaines terres « salées » qui pourraient être récupérées), elle va même décroître du fait de l'accroissement démographique. En Chine, les surfaces agricoles diminuent de 1 % par an du fait de l'industrialisation. En 2025-2030, d'après la FAO, les importations de céréales de ce pays seront multipliées par plus de 20 par rapport à ce qu'elles étaient en 1995. La seule solution pour les PVD est donc l'accroissement de la production par unité de surface cultivée. Cela signifie donc une certaine intensification (Oerke et Dehne, 1997 ; Weil, 1998 ; Cirad, 2004), mais une intensification raisonnée, combinant toutes les sources possibles de progrès au niveau des performances agronomiques (itinéraires techniques, protection des cultures, variétés résistantes à différentes adversités), tout en respectant au mieux l'environnement. Dans une première étape, la limitation des pertes, très importantes dans ces pays (plus de 50 % chez le riz, Oerke et Dehne, 1997, voir p. 84) est une priorité. L'augmentation de la production par unité de surface peut aussi diminuer la « pression » sur la mise en valeur de terrains peu favorables à la

culture, ce qui ne fera qu'entretenir une situation de famine. Cependant, dans de nombreuses zones en Afrique, la disponibilité de l'eau sera le principal facteur limitant de l'augmentation des productions. La mise au point de variétés tolérantes à la sécheresse ne serait sans doute pas suffisante.

Le rôle de l'amélioration conventionnelle des plantes et des variétés transgéniques

L'amélioration des plantes couplée à un développement agronomique est essentielle pour les PVD. Cependant l'amélioration conventionnelle des plantes et l'amélioration des techniques culturales ne suffiront pas : elles peuvent seulement aider à éviter que la situation ne se détériore et encore au niveau global. Ainsi, avec un accroissement de 36 % de la population en trente ans, il faudrait une augmentation de la production agricole de 1,2 % par an, ce qui correspond au taux d'amélioration réalisé dans les pays développés et PVD sur les principales plantes de grande culture, mais avec une certaine intensification. Au niveau de l'Afrique, avec l'augmentation prévue de la population (3 % par an), il est clair que l'amélioration des plantes et des techniques culturales (pour limiter les pertes de récolte, augmenter les rendements et sécuriser la production) ne suffiront pas. On peut penser à une nouvelle révolution verte. L'intérêt de la première révolution verte (dans les années 1970) est toujours controversé : les opposants n'en soulignent que les aspects négatifs, en omettant d'en souligner les aspects positifs. Comme dans les pays à agriculture intensifiée, dans les pays où elle a été mise en œuvre, les progrès réalisés à partir de 1968 ont été dus à l'amélioration des techniques culturales et à l'utilisation de variétés sélectionnées lancée par la révolution verte. En Inde pour assurer la production actuelle avec les variétés d'avant 1968, il faudrait mettre en culture plus de 60 millions d'ha en plus, ce qui signifierait la destruction des forêts (Le Buanec, 2000). On peut donc dire que le développement des nouvelles variétés, adaptées à une culture plus intensive, a permis de limiter les effets de la famine tout en protégeant l'environnement. En fait, l'apport de l'amélioration des plantes dans les PVD n'est pas perçu ou est sous-estimé par le non spécialiste, car les semences sont plus ou moins à la disposition de l'agriculteur qui peut s'auto-approvisionner. Mais, couplée au développement agronomique, elle a été et sera un outil puissant de développement.

Dans ce cadre, les plantes transgéniques peuvent être très importantes pour limiter les pertes, bien plus importantes dans les PVD que dans les pays en développement. Ainsi que le montrent Qaim et Zilberman (2003), en se plaçant uniquement sur le plan technique, les variétés transgéniques résistantes aux insectes peuvent apporter beaucoup plus aux PVD qu'aux pays industrialisés. Sur quatre ans, en Inde, avec la culture de cotonnier *Bt,* les gains de rendement au niveau d'un grand nombre de fermes ont été en moyenne de 60 % ; alors qu'aux États-Unis, l'effet de l'adoption des variétés *Bt* sur le rendement est discuté, dans la situation de l'Inde il n'y a pas de discussion possible sur les avantages (tabl. 4.5). En fait l'intérêt des variétés transgéniques résistantes aux insectes est d'autant plus grand que les attaques des insectes sont fortes et que la disponibilité des produits de traitement est faible (tabl. 4.6). Il n'y aura pas de solution pour les PVD sans un minimum d'intensification, mais il ne faudrait pas faire les mêmes erreurs que dans les pays développés.

Tableau 4.5. Comparaison de la culture du cotonnier avec des variétés conventionnelles et des variétés transgéniques résistantes aux insectes (*Bt*) dans 157 fermes indiennes en 2001 (d'après Qaim et Zilberman, 2003).

	Variétés *Bt*	Variété isogénique non *Bt*	Variétés locales
Nombre traitements ver capsule	0,62	3,68	3,63
Nombre traitements pucerons	3,57	3,51	3,45
Quantité d'insecticide (kg/ha)	1,74	5,56	5,43
Rendement (kg/ha)	1 501	833	802

D'emblée, il serait sage de penser l'utilisation des variétés transgéniques comme un moyen d'une agriculture durable, raisonnée, respectueuse de l'environnement. Les variétés transgéniques seront utiles pour sécuriser la production (résistances aux insectes, résistance aux maladies, adaptation au milieu, tolérance à la sécheresse, tolérance à la salinité…). Elles peuvent être un moyen de résoudre assez facilement des problèmes de carence alimentaire (exemple du riz doré), voire des problèmes sanitaires (alicaments), mais évidemment, il faut trouver une solution pour que les PVD aient ces semences « gratuitement » et qu'ils puissent s'auto-approvisionner puisqu'ils ne sont pas solvables. Il est aussi évident que les variétés transgéniques couplées à une amélioration des techniques culturales ne seront pas suffisantes : elles aideront toutefois à corriger, mais non supprimer, une situation de famine intolérable. Sans les variétés transgéniques, à court terme, la situation sera pire que celle d'aujourd'hui. En fait des variétés transgéniques adaptées aux besoins des PVD peuvent être vues comme une réponse rapide à court terme, nécessaire mais non suffisante. L'Inde et la Chine (et d'autres pays de l'Amérique du Sud) ont clairement fait le choix des plantes transgéniques pour augmenter leur production agricole face à l'augmentation de leur population (voir chap. 1).

Tableau 4.6. Intérêt des variétés transgéniques résistantes aux insectes selon les régions du monde (d'après Qaim et Zilberman, 2003).

Région	Pression de l'insecte	Disponibilité des produits de traitement	Adoption des produits de traitements	Gain en rendement des VTRI*
Pays développés	faible-moyenne	forte	forte	faible
Amérique du Sud (1)	moyenne	moyenne	forte	faible/moyen
Chine	moyenne	moyenne	forte	faible/moyen
Amérique du Sud (2)	moyenne	faible/moyenne	faible	faible/fort
Asie Sud et Sud-Est	forte	faible/moyenne	faible/moyenne	fort
Afrique	forte	faible	faible	fort

(1) zone commerciale, (2) zone non commerciale.
* VTRI : variétés transgéniques résistantes aux insectes.

Certes, le problème du développement de ces pays n'est pas seulement un problème technique, il est surtout de nature politique et sociale (Andersen et Cohen, 2000). La question à résoudre n'est pas de savoir si les variétés transgéniques apporteront les bienfaits attendus aux PVD, mais bien plutôt de comment les aider à développer des travaux dans ces domaines, comment les faire bénéficier des progrès des connaissances, sachant qu'ils ne sont pas solvables ? La conférence de Rio (juin 1992) sur la biodiversité donnait des pistes : les entreprises des pays industrialisés ayant largement bénéficié des ressources génétiques des PVD, devaient en échange leur donner accès aux techniques… De ce point de vue, les pays développés n'ont pas le droit d'arrêter leurs travaux de recherches sur les variétés transgéniques. Les variétés transgéniques seront sans aucun doute utiles pour les PVD et il est important de les aider à utiliser cet outil de développement. C'est aussi une des conclusions du rapport de l'OPECST (Le Déaut, 2005).

En fait les biotechnologies pour les PVD doivent être intégrées dans tout un système de développement économique et social, sinon, effectivement elles n'apporteront rien. Il faut déjà qu'il se mette en place une véritable agriculture, une nouvelle économie… Pour cela la recherche publique et les entreprises privées sont complémentaires. Les recherches publiques nationales et internationales peuvent contribuer aux études nécessaires sur l'intérêt des variétés transgéniques, voire contribuer au développement des recherches en biotechnologies. Mais cela ne suffira pas. Suivant l'esprit de la Convention sur la biodiversité de Rio, d'une façon ou d'une autre, les entreprises des pays industrialisés doivent participer au développement des PVD en échange de l'exploitation des ressources génétiques.

⏩ Bilan sur les apports des variétés transgéniques

L'intérêt de la transgénèse apparaît à plusieurs niveaux : pour la connaissance du fonctionnement des organismes vivants, pour le créateur de variétés, pour l'agriculteur, pour le consommateur et l'environnement, et pour la production de substances particulières. Nous avons déjà traité des deux premiers points au chapitre précédent.

Intérêt pour l'agriculteur

Les variétés transgéniques actuelles, résistantes aux insectes ou aux herbicides, semblent bien présenter un intérêt économique pour l'agriculteur. Certes, les études économiques ne sont pas encore suffisamment complètes et sur une période assez longue, mais si les variétés transgéniques actuelles ne présentaient aucun intérêt économique, comment expliquer leur développement rapide aux États-Unis, alors que les agriculteurs avaient le choix ? Le cas du développement du soja transgénique aux États-Unis montre bien la motivation des agriculteurs : ils préfèrent perdre en rendement mais simplifier les interventions culturales. Enfin l'adoption est aussi relativement rapide par certains pays en développement comme la Chine, l'Inde, l'Argentine et le Brésil (qui ne veut pas perdre sa compétitivité par rapport à l'Argentine pour le soja). En France 70 % des agriculteurs seraient preneurs (Enquête Arcane, 1999) : c'est le cas des maïsiculteurs situés en zones de pyrale, et

qui traitent systématiquement ; c'est le cas des producteurs de colza qui voudraient bien pouvoir utiliser la résistance aux herbicides et la résistance aux insectes, c'est aussi le cas des betteraviers qui ont de problèmes de désherbage.

L'utilisation de variétés transgéniques moins exigeantes en intrants, en pesticides en particulier, serait un progrès pour l'agriculture (par la diminution des charges) mais aussi pour l'environnement (diminution de la pollution). En particulier, les variétés transgéniques résistantes aux insectes éviteraient des pertes de rendement, feraient faire des économies importantes d'insecticides et avec un meilleur respect de la faune non cible que par la culture conventionnelle utilisant les insecticides. Les variétés transgéniques « agronomiques » apparaissent comme un moyen pour développer une agriculture durable, qui peut rester compétitive, tout en étant respectueuse de l'environnement. Elles sont sans doute une chance de survie de l'agriculture européenne face à une agriculture américaine qui diminue toujours ses coûts de production, et avec des prix agricoles qui ne cessent de diminuer. Combinées aux méthodes conventionnelles de culture, elles peuvent être un moyen d'économiser des intrants et de permettre une certaine compétitivité de notre agriculture, condition essentielle à son maintien. Ainsi il ne s'agit pas de ne cultiver que des variétés résistantes aux herbicides, car sinon, cela peut devenir très difficile, voire impossible, à gérer par l'agriculteur. De même avec la résistance aux insectes ou la résistance aux maladies, pour éviter le contournement des résistances, il est préférable de considérer les variétés transgéniques comme un outil pour une protection intégrée.

La transgénèse permettrait aussi de diversifier le type de produits, ouvrant ainsi de nouveaux débouchés (exemples : des colzas spéciaux avec des qualités d'huile pour différents usages, des maïs spéciaux avec une grande variété d'amidons, des plantes pour la production de substances pour la pharmacie). Cette diversification des productions par les variétés transgéniques, en même temps qu'une amélioration de la qualité des produits, serait aussi un atout majeur pour l'avenir de l'agriculture Ouest européenne face à l'agriculture de l'Est de l'Europe qui est en train de monter en puissance, grâce en particulier à des conditions agroclimatiques favorables.

Pour l'agriculteur des PVD, les variétés transgéniques peuvent être un moyen à utiliser avec d'autres, pour augmenter leur production et la sécurité de leur production (avec surtout la résistance aux insectes), tout en respectant l'environnement. Mais il faut résoudre le problème de leur approvisionnement en semences (voir chapitre suivant).

Intérêt pour le consommateur et pour l'environnement

Pour le consommateur les plantes transgéniques lui permettraient d'avoir :
– des produits de meilleure qualité, de bon état sanitaire (moins de mycotoxines pour les céréales) sans trop de traitements chimiques (exemples : melons, tomates, pommes) ;
– des nouveaux produits sur le plan des qualités organoleptiques et nutritionnelles : (composition des huiles meilleure pour la santé, composition en acides aminés des protéines…), avec la suppression des allergies connues.

Les exemples sont nombreux où les variétés transgéniques pourraient avoir un impact positif sur l'environnement : moins de pollutions dues à l'agriculture, à l'élevage et à l'industrie, meilleur respect de la faune. Reprenons juste quelques exemples :
– variétés transgéniques résistantes aux insectes, variétés transgéniques résistantes aux herbicides : elles conduisent à utiliser moins de pesticides et surtout des molécules qui se dégradent plus facilement. De plus les variétés transgéniques résistantes aux insectes respectent mieux la faune que les traitements avec des insecticides chimiques ;
– plantes extractrices de métaux lourds : pollution au mercure (*Arabidopsis*), cadmium (tabac) ;
– variétés transgéniques de céréales avec une forte activité phytase qui diminueraient le risque d'eutrophisation des eaux par le phosphore non digéré par les animaux ;
– des végétaux ligneux à plus faible quantité de lignine et lignine de meilleure qualité en papeterie qui diminueraient la pollution par la soude et le SH_2 aux abords des papeteries ;
– des plantes produisant des plastiques biodégradables, des biocarburants.

Intérêt pour la production de substances particulières

Pour l'industrie et les transformations non agro-alimentaires, les plantes transgéniques permettraient l'élaboration de différents produits par une chimie propre, ce qui est très intéressant d'un point de vue environnemental. De même, pour notre santé, les variétés transgéniques permettraient la production de molécules pharmaceutiques particulières d'une grande pureté (ex. hormones de croissance) de façon plus économique et plus souple que les procédés actuels (en fermenteurs). Des vaccins préparés à partir de plantes seraient plus faciles à obtenir en grande quantité que par les méthodes actuelles et seraient moins coûteux. En fait, les variétés transgéniques peuvent être la source de nombreuses substances, la plante étant alors utilisée comme une usine, mais une usine non polluante. Les cas les plus intéressants n'ont sans doute pas encore été explorés, puisque nous ne sommes qu'au début d'une telle utilisation des plantes.

Conclusion

Les possibilités ouvertes par la transgénèse sont très grandes : elle peut apporter des caractères nouveaux, inimaginables auparavant. De ce point de vue, il est sans doute dommage que les grandes firmes n'aient pas commencé par développer des variétés transgéniques qui auraient apporté des avantages visibles pour le consommateur, et très positifs pour l'environnement. Ainsi que le souligne la FAO : « Les biotechnologies fournissent des outils importants pour le développement durable de l'agriculture. Lorsqu'elles sont intégrées de façon appropriée à d'autres technologies, les biotechnologies peuvent aider de façon significative à faire face aux besoins d'une population en augmentation et de plus en plus urbanisée du prochain millénaire » (FAO/Codex, OMS, mars 2000).

Chapitre 5

Quels sont les risques associés aux plantes transgéniques ?

La notion de risque comprend deux composantes :
– la probabilité qu'un événement se produise, par exemple l'intégration d'un transgène de résistance à un herbicide dans le génome d'une plante sauvage ;
– les conséquences de cet événement, c'est-à-dire, pour continuer avec le même exemple, les dommages occasionnés à l'agriculteur par le développement des mauvaises herbes devenues résistantes à l'herbicide.

Le risque est alors le produit de ces deux composantes. D'un point de vue économique, le risque peut se mesurer par l'impact économique moyen de la réalisation de l'événement dans l'ensemble de toutes les situations ; c'est le coût au niveau global de la société ou de l'environnement. Le risque peut aussi se mesurer par le coût de l'assurance contre ce risque, ce qui suppose les deux composantes du risque soient connues. À noter toutefois une limite à cette définition : le cas d'un événement de probabilité très faible (proche de zéro) mais provoquant des dégâts très grands (cela peut être le cas du risque nucléaire). Que peut-on dire alors du produit ? Le montant des dégâts est tel que dans ce cas il est difficilement supportable par la société, même avec une faible probabilité de réalisation de l'événement.

Cependant, malgré ces deux composantes, indispensables pour bien comprendre la notion de risque, dans la présentation des éventuels risques des plantes transgéniques, les opposants aux plantes transgéniques soulignent surtout les dommages qui pourraient être occasionnés si l'événement se produisait (De Cheveigné *et al.*, 2002) ; la probabilité de réalisation de l'événement est souvent oubliée. Il est vrai qu'elle est mal connue et on ne peut jamais affirmer qu'elle est nulle, même si elle est faible, voire très faible, selon l'aspect considéré. C'est pourquoi dans le cas des plantes transgéniques, il est préférable de parler de *risques potentiels* ou *non avérés* par opposition aux *risques avérés* pour lesquels les deux composantes du risque sont assez bien connues. Nous verrons au chapitre suivant que la gestion des risques avérés relève du *principe de prévention*, alors que la gestion des risques potentiels relève du *principe de précaution*.

Trois grands types de risques peuvent être distingués :
– les risques environnementaux ;
– les risques sanitaires ;
– les risques économiques (relations entre les acteurs, concentration des entreprises, monopole sur le vivant…).

Les risques pour l'environnement

Les principaux risques pour l'environnement, liés à la culture de plantes transgéniques, peuvent être :
– le flux du transgène par le pollen vers des cultures non-transgéniques et vers des plantes sauvages, ainsi que le flux par les graines ;
– la prolifération d'une plante transgénique ou d'une plante sauvage ayant reçu un transgène ;
– la modification de l'équilibre des populations d'insectes ou de parasites (virus, bactéries, champignons) par le développement de plantes résistantes (résistance aux insectes, résistance aux maladies) ;
– le transfert dit « horizontal » d'ADN de plantes transgéniques aux bactéries du sol ou de l'intestin de l'homme ou des animaux consommateurs de ces plantes, avec le risque de transfert de la résistance à un antibiotique (si cette résistance est utilisée comme marqueur) ;
– la pollution de l'environnement possible par des substances issues des variétés transgéniques.

Le flux de pollen d'une plante transgénique vers les plantes cultivées non transgéniques (en culture conventionnelle ou bio) peut avoir un effet immédiat sur la composition du produit récolté (voir p. 161). Concernant le flux vers les plantes sauvages, les conséquences dépendront de l'intégration ou non du transgène dans le génome. Un transgène ne présente un risque pour la diversité de la flore que s'il est intégré dans le génome et si les plantes porteuses du transgène se développent mieux que les plantes sans le transgène. Pour cela, plusieurs conditions doivent être remplies successivement (fig. 5.1). Il faut d'abord la présence de plantes sauvages qui puissent se croiser avec les plantes cultivées transgéniques, ce qui impose qu'elles soient à la fois proches « parentes » et proches géographiquement, et qu'elles fleurissent en même temps. Il faut ensuite que la plante transgénique produise du pollen, qu'il y ait fécondation croisée avec la plante sauvage et que la descendance résultant du croisement soit fertile. Le produit des probabilités des événements correspondants à ces premiers points donne la probabilité que le transgène soit présent dans les descendants d'un croisement sauvage × cultivé. Deux événements sont cruciaux : l'existence d'espèces proches et la fertilité du croisement, sachant que de nombreux croisements entre espèces différentes sont stériles (la stérilité du croisement est même le critère pour la définition génétique de l'espèce). Le troisième événement crucial est l'intégration de façon stable du transgène dans le génome, conduisant à des descendants fertiles porteurs du transgène. Enfin, pour qu'il y ait un risque pour la diversité végétale, le transgène doit conférer un avantage sélectif aux plantes qui le portent, de telle sorte qu'elles puissent se développer préférentiellement par rapport aux plantes non porteuses, et envahir la population.

Nous allons donc voir successivement :
– la dispersion du pollen et des graines jusqu'à l'intégration du transgène dans le génome des espèces sauvages ;
– les conséquences de cette intégration selon les transgènes et les espèces au niveau de la flore et de la faune sauvage ;
– les problèmes éventuels pour les productions avec des variétés non transgéniques ;
– le transfert horizontal.

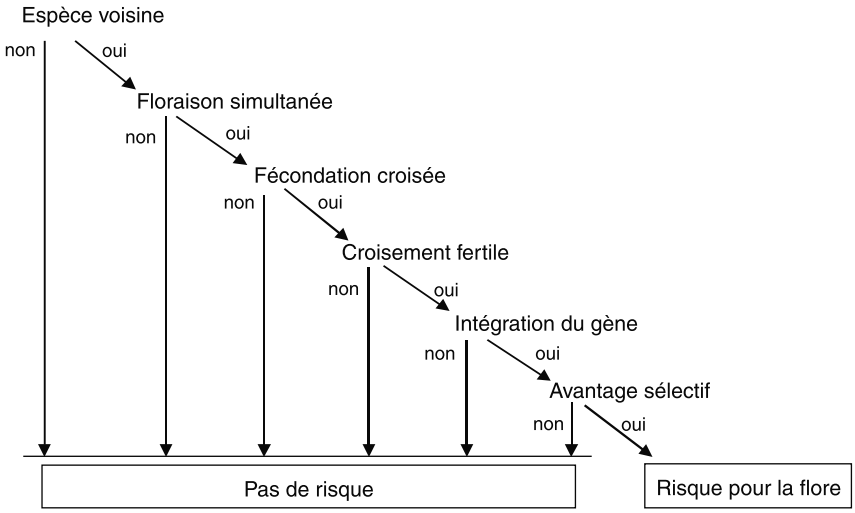


Figure 5.1. Les différentes conditions qui doivent être remplies pour que le passage d'un transgène à la flore sauvage présente un risque.

La dispersion des transgènes et la probabilité de leur intégration dans le génome des plantes sauvages

La dispersion du pollen et des graines

Aspects généraux

– Les différents types de pollinisation

Nous avons vu dans le chapitre 2 qu'il existe deux types de plantes (voir tabl. 2.1) : les plantes qui s'autoféconden t naturellement, dites autogames (céréales à paille, soja, tomate, aubergine, etc.) et celles qui sont à fécondation croisée, dites allogames (maïs, tournesol, luzerne, graminées fourragères, etc.). Les plantes allogames ont souvent mis en place des mécanismes qui favorisent la fécondation croisée (sexes séparés sur des plantes différentes ou sur la même plante, dispositifs empêchant l'autofécondation, etc.). Il existe des espèces intermédiaires, comme le colza qui peuvent s'autoféconder sans problème mais qui ont aussi un assez fort taux de fécondation croisée (30 % environ). Chez les plantes autogames, le flux de pollen est en général faible, car les étamines ne sortent qu'une fois la fécondation faite (on parle aussi de cléistogamie) ; de plus l'évolution a réduit leur production de pollen, évitant ainsi un gaspillage d'énergie par la plante. Au contraire le flux de

pollen est très important chez les plantes allogames, l'évolution ayant favorisé la production de pollen.

Chez les espèces à fécondation croisée, la dispersion du pollen dépend encore de la biologie florale. Pour les espèces à pollinisation par le vent (anémophiles), les études montrent une décroissance très rapide (exponentielle négative), à partir de la source (voir fig. 5.2 et 5.3 pour le maïs et le colza) ; 6-8 m de bordure avec une variété non-transgénique suffisent souvent déjà à faire chuter de plus de 90 % la quantité de pollen. Les haies peuvent être aussi efficaces. Cependant même à une distance assez grande (quelques centaines de mètres), on n'atteint pas 0 %. La direction du vent affecte aussi la dispersion du pollen. Dans le cas d'espèces pollinisées par les insectes (entomophiles), la dispersion du pollen peut être plus grande (plusieurs kilomètres).

– La difficulté de mesure des risques de fécondation par du pollen d'une source donnée

De nombreuses études de dispersion du pollen ont été réalisées sur différentes espèces. Elles ne sont pas toujours faciles à comparer. Pour une espèce anémophile, on peut s'intéresser au flux de pollen (c'est-à-dire la quantité trouvée à une certaine distance par rapport à la quantité émise) ou au résultat de ce flux de pollen (le croisement avec une plante de la même espèce, ayant fleuri en même temps). Cela conduit à deux expressions, le pourcentage de la quantité de pollen qui se retrouve à telle distance ou le pourcentage de fécondation « illégitime » en fonction de la distance. Si le flux pollinique est intéressant à considérer, il est clair que le pourcentage de croisement informe plus directement sur le risque de pollution d'une culture de même espèce. De nombreux facteurs peuvent affecter les résultats. Il apparaît une forte influence du dispositif expérimental : taille, forme, orientation du champ émetteur, nature de l'espace entre le champ émetteur et le dispositif de piégeage du pollen. Le rapport surface de la source/surface du récepteur est très important à considérer. Évidemment, plus il est élevé, plus les risques de fécondation d'ovules des plantes réceptrices par du pollen de la source est forte. Des plantes mâles-stériles sont quelquefois utilisées pour mesurer le taux de croisement à partir d'une source ; un tel dispositif conduit toujours à surestimer beaucoup les risques de fécondation par le pollen issu de la source considérée. Ainsi les études de Squire et Ramsay (Defra, 2003 ; CGB, 2003) montrent un facteur 12 entre le risque mesuré au niveau de plantes fertiles et le risque mesuré avec des plantes mâles-stériles. Pour les plantes pollinisées par les abeilles, il faudrait sans doute aussi tenir compte de la position et de la densité des ruches. Quelle que soit la biologie florale de l'espèce, un point important est celui de la période de floraison de la source et du récepteur : selon qu'il y a simultanéité de floraison, recouvrement partiel des dates de floraison ou floraisons séparées, les risques ne seront pas les mêmes. Compte tenu de tous ces facteurs et des méthodes différentes de mesure, il faut donc être très prudent et critique dans l'interprétation des résultats sur le flux de pollen en fonction de la distance.

Un autre paramètre important à considérer pour les risques de flux de gènes par le pollen est sa durée de vie. Ces risques sont évidemment plus grands avec un pollen de longue durée de vie qu'avec un pollen de courte durée. En conditions naturelles, cette durée est très variable selon les espèces : de quelques heures (2-4 h) chez le maïs, à plusieurs jours chez le colza (Mesquida et Renard, 1982 ; Ranito-Lehtimäki, 1995).

– La dispersion des graines

Une autre cause de flux de gènes est *la dispersion des graines*. Les risques sont plus ou moins grands selon les espèces. Un grain de maïs perdu dans la nature, dans le champ où il a été produit, ou hors de ce champ, au bord des routes par exemple, a peu de chance de donner des descendants. Il en va tout autrement avec le colza. Après la récolte du colza il reste 1 000 à 6 000 graines/m^2. Ces graines sont à l'origine de repousses et si elles fleurissent dans une autre culture, elles vont contribuer à accroître la dispersion du transgène et donner des graines à leur tour. Leur longue conservation dans le sol (plus de dix ans) assure la dispersion des transgènes dans le temps. De plus, comme il s'agit de petites graines, elles se dispersent facilement au cours de leur transport, d'où les repousses le long des routes, ce qui est encore une autre source de dissémination. Pour une telle espèce, une attention particulière doit être portée au transport et à la limitation des resemis.

Quelques résultats

Chez le blé, comme pour beaucoup d'espèces autogames, la dispersion du pollen est très faible : à 1 m on ne trouve déjà guère plus de 10 % du pollen émis et à 20 m c'est une proportion très faible, souvent non détectable (moins de 0,1 %) (de Vries, 1974).

Chez le maïs, plante allogame anémophile, dans une étude de dispersion réalisée par Pleasants *et al.* (1990), 90 % du pollen est perdu dans les 5 premiers mètres et 99 % à 50 m. Dans une autre étude, à 100 m on ne trouve que 0,4 % dans une direction, mais 18 % dans une autre (Klein *et al*., 2001). De nombreuses études montrent moins de 1 % du pollen à 200 m. Les expériences sur le taux d'hybridation intervariétés révèlent souvent un taux inférieur ou égal à 1 % à une distance de 20-40 m (Bateman, 1947 ; Simpson, *in* Eastham et Sweet, 2002, EEA, fig. 5.2). Elles tendent à confirmer une très faible probabilité de fécondation (bien inférieure à 1 %) au-delà de 200 m.

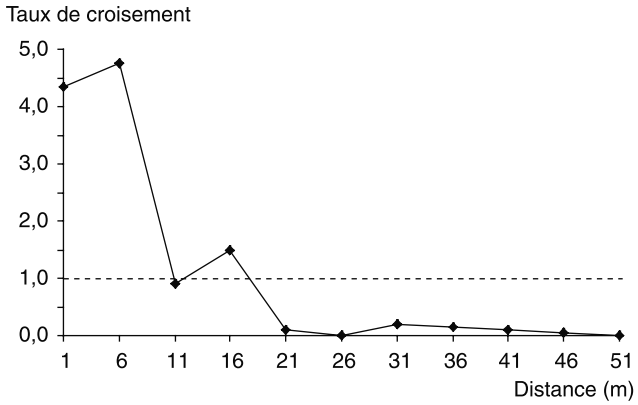


Figure 5.2. Pourcentage de croisement entre deux génotypes de maïs dans des parcelles contiguës en fonction de la distance entre la plante fécondée et le bord de la source de pollen (Simpson, in Eastham et Sweet, 2002, EEA).

Dans le cas de la betterave, plante cultivée pour sa racine, le problème de flux pollinique se pose surtout dans les zones de production de semences mais aussi pour les betteraves qui montent à graines l'année du semis. Avec des pièges à pollen placés à 1,5 m de hauteur, Scoot (1970) trouve à 230 m de la source 0,85 % du flux existant au centre du champ émetteur. Reheul (1987) trouve du pollen de la source à plus de 1 000 m. Jensen et Bogh (1941) rapportent des taux de croisements de 0,42 % à 400 m et 0,11 % à 600 m.

Dans le cas du colza, Timmons *et al*. (1995) trouvent à 360 m environ 10 % du pollen piégé juste à côté du champ émetteur. Norris *et al*. (2002), au-delà de 20 m de la source de pollen, trouvent moins de 1 % de croisements entre plantes de deux parcelles contiguës (fig. 5.3). De même une étude des fécondations par du pollen d'une source donnée de 1/3 ha montre que, en moyenne, 50 % du pollen produit par une plante est perdu dans un rayon de 3 m. Il n'en reste plus que 2,5 % à 1 m, à 0,18 % à 22,5 m, et à 0,01 % à 65 m. À 127 m rien n'était observé (on attendait 2 graines hybrides pour 10 000) (CGB, 2002). Mais dans une autre expérience des repousses de colza à 150 m de la source ont donné 3 graines hybrides pour 1 300, soit un taux de 0,23 %. Des taux faibles de contamination peuvent encore exister même à de grandes distances (4 km dans l'étude de Thompson *et al.,* 1999), par suite du transport du pollen par les insectes.

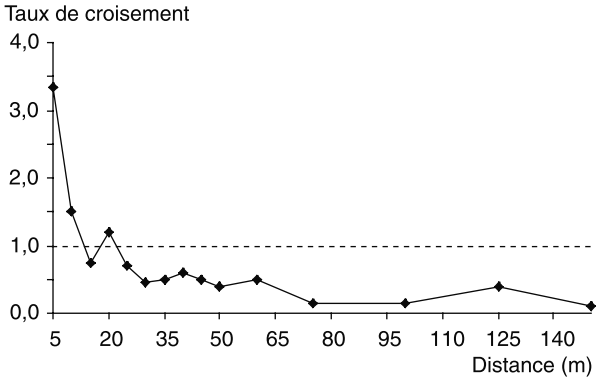


Figure 5.3. Taux de croisement entre plantes de deux parcelles contiguës de colza en fonction de la distance entre la plante fécondée et le bord de la source de pollen (Norris *et al*., 2002, *in* Eastham et Sweet, 2002, EEA).

Ces résultats sont à la base des règlements techniques (distances) pour la production de semences qui établissent des seuils très rigoureux pour la pureté variétale, fonction de chaque espèce et de la génération de multiplication. Ainsi, pour les variétés lignées, chez les céréales à paille, la pureté variétale est au minimum de 999 ‰ pour les semences de base et de 997 ‰ pour les semences certifiées. Pour les hybrides, les taux maximum d'impuretés dans les champs de production de semences certifiées sont de 2 ‰ pour les parents d'un hybride simple de maïs ; 1 ‰ pour le parent mâle et 3 ‰ pour le parent femelle chez le sorgho, 5 ‰ pour le parent mâle et 1 % le parent femelle chez le tournesol, etc. Pour atteindre ces objectifs, les distances d'isolement sont par exemple les suivantes : 30 m chez le blé, 400 m chez le maïs, 1 000 m chez la betterave.

Les solutions pour limiter les risques de dispersion du pollen et des graines

– Solutions agronomiques

Les solutions agronomiques pour limiter le flux de pollen des plantes transgéniques vers les espèces sauvages apparentées et aussi vers les cultures de plantes non transgéniques de la même espèce peuvent consister en :
– un isolement géographique des cultures transgéniques sachant qu'une contamination strictement nulle entre une culture transgénique et une culture non-transgénique ne sera pas possible, sauf en mettant des distances très grandes entre ces deux types de culture. En vue de permettre une coexistence d'une filière OGM et d'une filière non OGM, au niveau d'une région, des îlots de production spécialisés, pourraient être mis en place sur le modèle de ce qui est fait en production de semences de maïs (voir chapitre suivant),
– des rotations pour éviter ou limiter la présence de resemis ;
– la destruction des plantes relais, des resemis dans les bordures, le long des routes, des haies…

Toutes ces mesures visent à limiter le flux des transgènes pour l'amener à des valeurs très faibles, elles ne peuvent pas l'annuler complètement.

– Solutions génétiques

D'abord il n'existe aucun flux pour toutes les plantes qui ne fleurissent pas, soit parce qu'elles sont récoltées avant floraison (comme dans le cas de la carotte, du poireau, voire de la betterave), soit parce que la reproduction sexuée s'est perdue au cours de leur évolution ou domestication (cas de certaines plantes à multiplication végétative, comme l'igname et certaines variétés de pomme de terre). Pour celles qui fleurissent, des solutions génétiques permettent d'annuler complètement le flux de gènes par le pollen, voire par les graines (Daniell, 2002) :

• *la stérilité mâle* : une plante mâle-stérile ne produit pas de pollen, mais elle peut être femelle fertile. Cette solution est possible pour toutes les plantes utilisées pour leurs parties végétatives (racines, feuilles) (voir l'encadré 4.2 pour le fonctionnement du système). La variété mâle-stérile ne serait pas reproductible par l'agriculteur qui devrait donc renouveler ses semences. Cela pourrait être le cas de la betterave à sucre où les variétés actuelles sont développées avec une stérilité mâle cytoplasmique et où l'agriculteur renouvelle déjà ses semences, puisque cela lui permet d'avoir des variétés hybrides de caractéristiques bien définies et avec des semences de qualité ; malheureusement, comme nous le verrons plus loin (voir p. 155) la situation n'est pas si favorable que cela. Parmi les plantes consommées par l'homme, le système de variétés hybrides mâles-stériles pourrait être appliqué à la betterave potagère, à la carotte, au poireau, à l'oignon… De même, chez les plantes à multiplication végétative utilisées pour une partie végétative (la pomme de terre chez nous, l'igname, le manioc, la patate douce) l'utilisation de clones mâles-stériles supprimerait tout risque de flux de pollen.
L'utilisation de la stérilité mâle pour empêcher ou limiter les flux de transgènes n'est pas seulement réservée aux plantes cultivées pour leurs parties végétatives. Comme nous l'avons déjà souligné au chapitre 4, elle est envisageable aussi pour les plantes allogames cultivées pour la production de graines. Dans le cas de variétés hybrides produites par castration génétique (par stérilité mâle cytoplasmique) il suffit de ne pas restaurer la fertilité et de cultiver la variété transgénique stérile en

association avec un pollinisateur non transgénique, qui ne représentera que 10 à 15 % du mélange. Ainsi, la culture ne sera pas à 100 % transgénique, mais cela permettra d'en exploiter les avantages (sauf toutefois pour la résistance aux herbicides) tout en empêchant les flux de transgènes. Ce type de structure variétale a déjà été utilisé pour le colza pour pallier l'absence de bons restaurateurs de fertilité.

• *l'autogamie :* une autogamie stricte serait efficace contre les flux de pollen. Cependant les cas d'autogamie stricte sont rares chez les plantes cultivées. Chez le blé, plante autogame typique, on observe souvent un résidu d'allogamie, variable selon les conditions de 0 à 10 %, plus élevé dans le sud de la France que dans le nord. Cela peut toutefois aider à résoudre des problèmes d'isolement : la masse pollinique étant moindre, les risques de pollution sont bien plus faibles. Ainsi, on recherche chez le colza des gènes de cléistogamie (Pierre *et al.*, 2002) — la cléistogamie est la fécondation sans ouverture de la fleur, ce qui conduit à une autofécondation — ce qui pourrait annuler le flux de pollen chez cette espèce. L'identification des gènes impliqués dans le développement floral chez *Arabidopsis* fera sans doute faire beaucoup de progrès à cette approche.

• *la transformation du chloroplaste* (voir p. 78) : avec un transgène dans le génome chloroplastique, pour de nombreuses angiospermes, il n'y aurait pas de transmission du transgène par le pollen, mais il resterait encore le risque de flux du transgène par la graine ; cependant, même si la non-transmission du choloroplaste par le pollen n'est pas toujours stricte, cela limiterait fortement le flux de transgène par le pollen, comme l'ont montré Scott et Wilkinson (1999) chez le colza.

• *la solution « terminator »* : le brevet de cette technologie, appelée initialement *Technology Protection System,* et baptisée *Terminator* par Pat Mooney et le RAFI*, Rural Advancement Foundation International* (*in* Kempf, 2003), a été déposé en mars 1998 conjointement par le ministère américain de l'Agriculture (USDA) et par la société américaine de semences Delta & Pine Land Co (rachetée par Monsanto en 1999). C'est une solution efficace pour éviter tout flux de graines. Le transgène « stérilisateur », lié à un promoteur spécifique de la germination, code pour une toxine ou un ARN antisens qui bloque la production d'une enzyme essentielle à la survie de la cellule. Lorsque la graine atteint ce stade, le transgène est donc induit, ce qui tue les cellules. Les graines sont donc toujours stériles, mais grâce à un autre transgène « restaurateur », cette stérilité peut être levée. Ce transgène, lié à un promoteur inductible par une substance appliquée à la plante, annule l'action du gène létal soit en bloquant la production de la toxine, soit en permettant à nouveau la production de l'enzyme de survie de la cellule : la graine est donc viable (fig. 5.4). Ce procédé pourrait donc être une solution pour maîtriser les flux de graines. Associé à une stérilité mâle ou à la transgénèse du chloroplaste, il permettrait une maîtrise totale des flux de gènes.

L'utilisation de ce gène a malheureusement été envisagée d'abord, non pour restreindre les flux de gènes, mais pour protéger l'obtenteur d'une variété en empêchant l'agriculteur de s'auto-approvisionner en semences, à partir de semences achetées une première fois à l'obtenteur (en particulier pour les variétés de plantes autogames, là où des lignées pures sont développées ; chez les plantes allogames, la voie hybride est une protection suffisante) (voir p. 183). Le système de stérilisation des graines aurait donc le même effet que l'hybridation : l'agriculteur serait obligé

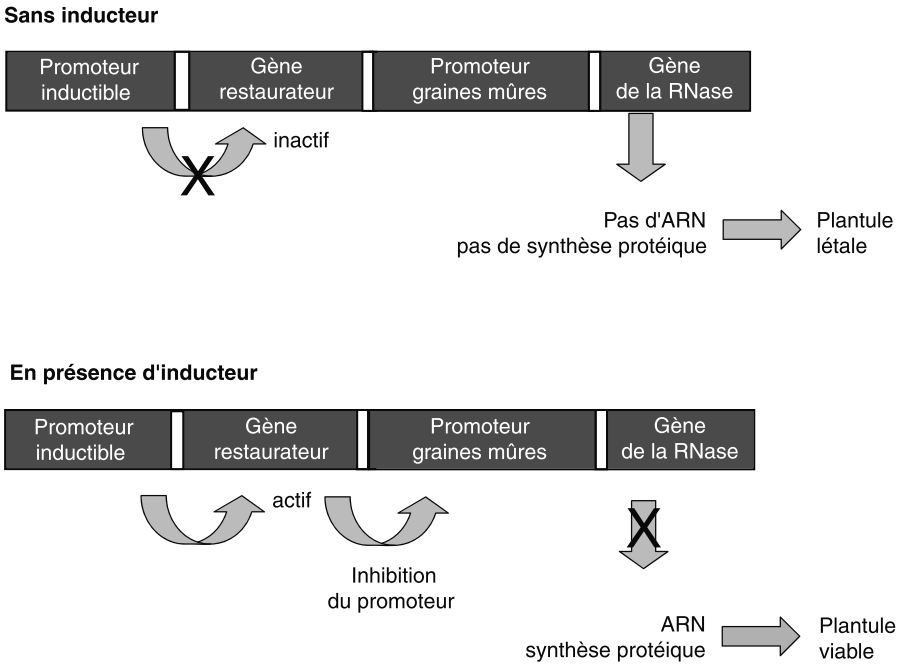


Figure 5.4. Principe de la construction génétique avec le gène Terminator.
C'est en fait le même système que celui utilisé pour la stérilité mâle mise au point par *Plant Genetic System* (PGS). Un gène issu de *Bacillus amyloliquefaciens* code pour une ribonucléase, appelée barnase, avec un promoteur permettant l'expression dans les graines en fin de maturité, à des teneurs en eau très faibles. Ainsi, le développement et la composition de la graine ne sont pas affectés malgré la destruction des ARN. La graine pourra germer, mais la croissance de la plantule s'arrêtera très vite car il manquera des ARN pour la synthèse de nouvelles protéines. Pour produire des graines viables, un deuxième gène issu de la même bactérie que le premier a été introduit : il code pour l'inhibiteur de la barnase, le barstar. Lorsque ce gène est activé, il se forme un complexe barnase-barstar qui inhibe l'activité ribonucléasique, les semences germeront alors normalement. Pour cela, sa séquence codante est placée sous un promoteur inductible par un produit chimique.

de renouveler ses semences ou d'acheter la molécule permettant d'avoir des semences qui germeront (si la molécule était en vente, ce qui est peu probable). Cette obligation a été considérée comme une atteinte au droit de l'agriculteur de produire ses semences. Pourtant l'agriculteur a déjà accepté cette obligation dans le cas des variétés hybrides, même lorsqu'elles sont fertiles (pour la production de graines).

La probabilité d'intégration du transgène dans le génome des espèces voisines

Pour qu'il y ait intégration, par le processus naturel de croisement, du transgène d'une espèce cultivée dans le génome d'une espèce sauvage, il faut que les deux espèces soient phylogénétiquement proches. Il faut d'abord que le croisement entre les deux espèces soit fertile. Prenons l'exemple du colza, *Brassica napus*. Cette espèce diploïde avec $2n = 38$ chromosomes, de génome AACC, est le résultat d'une hybridation naturelle entre deux espèces, le chou *Brassica oleracea,* de génome CC

(2*n* = 18), et la navette *Brassica campestris,* de génome AA (2*n* = 20). En théorie il peut se croiser avec ces deux espèces. En France, la navette n'étant qu'une espèce occasionnelle dans la zone de culture du colza les hybridations sont peu probables bien qu'observées en Angleterre, dans certains pays du Nord de l'Europe et au Canada (Warwick *et al*., 2003). Avec les choux, les hybridations ne sont pas toujours possibles : les formes cultivées sont souvent maintenues au stade végétatif, et les formes spontanées ont des aires de répartition très limitées, ne coïncidant pas avec les zones de culture du colza. En fait, en France, des essais avec des colzas ne produisant pas de pollen ont montré que le colza pourrait se croiser avec la ravenelle (*Raphanus raphanistrum, 2n* = 18, génome RrRr), la roquette bâtarde (*Hirschfeldia incana,* 2*n* = 14*,* génome = AdAd), et la moutarde (*Sinapis arvensis,* 2*n* = 18*,* génome SarSar) (Eber *et al*., 1994 ; Chèvre *et al*., 1996). Dans le sens inverse, le pollen de colza ne peut féconder que très rarement la ravenelle (Darmency *et al*., 1998), plus rarement la roquette (Lefol *et al*., 1996b) et aucune hybridation n'a été observée avec la moutarde des champs (Lefol *et al*., 1996a, Warwick *et al*., 2003). Au champ, la fécondation des fleurs de ravenelle par du pollen de colza donne entre une graine pour 10 millions et 3 graines pour 100 000. Dans le sens inverse, les hybrides ne sont présents que dans les graines de petit diamètre (soit 7,9 % de la récolte dans l'essai conduit) et leur fréquence dans cette fraction de la récolte varie de $2\ 10^{-5}$ à $5\ 10^{-4}$. La fréquence d'hybridation est donc comparable quel que soit le parent femelle (Chèvre *et al*., 2000). Cependant, dans des essais australiens, l'hybridation n'a été observée que lorsque le colza était le parent femelle (Rieger *et al*., 2001).

Quant à l'intégration du transgène venant du colza dans le génome de ravenelle, les expériences réalisées n'ont jamais permis de l'observer (Baranger *et al*., 1995 ; Chèvre *et al*., 1996, 1997, 2000). En effet, si des hybrides colza-ravenelle sont bien observés, d'abord ils sont très peu fertiles (car il n'y a pas une assez forte homologie entre les chromosomes de colza et les chromosomes de ravenelle) ; ensuite, le recroisement de cet hybride avec la ravenelle comme pollinisateur pendant six générations, avec à chaque fois sélection des plantes porteuses du transgène (ce qui ne peut se produire dans la nature qu'en présence de l'herbicide), n'a jamais permis de recombinaison entre le chromosome de ravenelle et le chromosome de colza. Sans la pression de l'herbicide, ce transgène est donc destiné à être perdu, et avec la pression de l'herbicide il ne se fixe pas ; on obtient environ 10 % de plantes contenant le transgène et qui présentent une fertilité deux fois inférieure à celle de la ravenelle (Guéritaine *et al*., 2002). Ce manque d'intégration pourrait être dû au fait que le transgène était porté par un chromosome du génome CC du colza absent chez la ravenelle (Baranger *et al.*, 1997). Avec le transgène porté par le génome AA, les résultats auraient peut être été différents. Des travaux sont en cours pour le vérifier.

D'une façon plus générale, lorsque les espèces transformées sont allopolyploïdes, une solution pour diminuer les risques d'intégration du transgène dans le génome des espèces sauvages serait de placer le transgène dans le génome non représenté chez ces espèces. Ainsi, dans le cas particulier du colza, de génome AACC, pour limiter les risques de passage à la ravenelle, il vaut mieux placer le transgène dans le génome CC, puisqu'il n'existe pas d'espèces sauvages présentes dans les zones cultivées de colza portant seulement le génome CC (génome du chou). De même, dans le cas du blé, il faudrait éviter d'intégrer le transgène dans le génome DD car

ce génome est compatible avec celui d'*Aegilops*, seule espèce a pouvoir se croiser avec le blé.

Il pourrait cependant exister le risque d'apparition d'une nouvelle espèce porteuse du transgène. Ainsi, parmi les hybridations naturelles entre le colza et la ravenelle, différentes structures génomiques ont été observées. Il faut noter en particulier une structure RrRrAC à $2n = 37$ chromosomes issue d ela fusion d'un gamète non réduit de ravenelle RrRr et d'un gamète du colza (AC) (Chèvre *et al*., 2000, Warwick *et al*., 2003), et une structure à 56 chromosomes qui pourrait correspondre à la création d'une nouvelle espèce par addition du génome du colza (AACC, $2n = 38$) et de celui de la ravenelle (RrRr, $2n = 18$) pour donner un hybride interspécifique fertile (AACCRrRr) (Chèvre *et al*., 2000 ; Rieger *et al*., 2001). On sait en effet qu'avec une fréquence de l'ordre de 10^{-5} les plantes donnent des gamètes non réduits reproduisant le génome diploïde des parents (Ramsey et Schmeske, 1998, *in* Gallais, 2003). Si un gamète non réduit de colza fusionnait avec un gamète non réduit de ravenelle, alors l'hybride obtenu serait parfaitement fertile (fig. 5.5) et la résistance à l'herbicide serait intégrée immédiatement et de façon stable dans le génome. Sous la pression de l'herbicide, cette nouvelle espèce porteuse du transgène devrait être favorisée. Cependant, les deux plantes obtenues à 56 chromosomes, avec le colza comme parent femelle, seraient plutôt du type AACCXX (X ne semblant pas être le génome de la ravenelle) ou AACCCC (Chèvre *et al*., 2002). Dans le cas de l'hybridation entre le colza et la ravenelle, l'hypothèse des risques de fixation du transgène par formation d'une nouvelle espèce n'est donc pas encore prouvée.

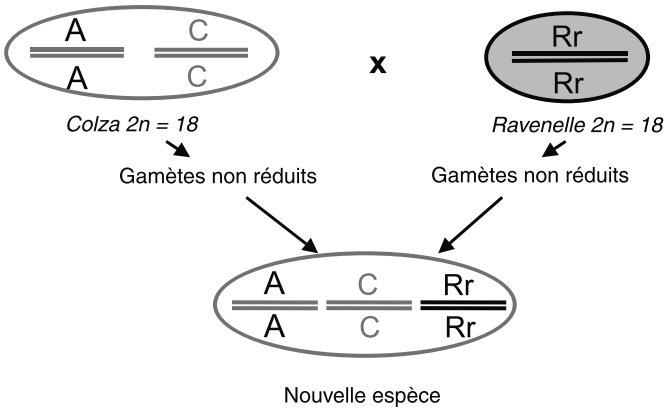


Figure 5.5. La formation d'une nouvelle espèce par juxtaposition des génomes de deux espèces, suite à la formation de gamètes non-réduits.

Bilan selon les espèces et les variétés

Le risque de passage du transgène à la flore sauvage sera évidemment nul avec une plante ne produisant pas de pollen (cas de plantes à multiplication végétative ou la reproduction sexuée a souvent disparu, comme chez l'igname, ou de plantes mâles-stériles non restaurées). Il sera aussi nul quel que soit le système de reproduction s'il n'y a pas de plantes sauvages suffisamment proches génétiquement. Très faible

dans le cas d'une plante autogame (comme le blé ou la tomate), il sera le plus fort pour une plante allogame cultivée dans des zones où des proches parents sauvages existent (cas du colza). *Il faut donc raisonner par espèce, agrosystème et régions du monde*. Prenons quelques exemples de plantes de grande culture, essentiellement en Europe.

Probabilité très faible de transfert : pomme de terre, maïs, blé, tabac, soja

La pomme de terre (*Solanum tuberosum*) est une espèce à multiplication végétative, à faible flux de pollen, et avec une reproduction sexuée (plutôt autogame) rare dans la nature en Europe (plusieurs variétés sont même mâles-stériles, environ une sur trois ; Rousselle, 1989). De plus, dans la nature, si elle se croise avec les espèces sauvages apparentées (morelle noire ou morelle douce-amère), les embryons ne sont pas viables (McPartlan et Dale, 1994). Par contre, le problème se pose bien sûr en des termes différents en Amérique du Sud (Andes) où il existe des ancêtres diploïdes et plus allogames.

Le maïs (*Zea mays*), plante allogame, n'a pas d'espèce apparentée en Europe. Aucun risque de diffusion d'un transgène du maïs vers la flore sauvage ne se pose. En revanche, en Amérique centrale, il peut se croiser avec son ancêtre, la téosinte, encore très courant. Dans ces régions, il faut donc rester vigilant.

Le blé est assez isolé génétiquement par la structure allopolyploïde de son génome (formé par la juxtaposition de trois génomes diploïdes) et son système de reproduction autogame. Les hybrides avec les espèces sauvages apparentées (par exemple *Aegilops*, *Hordeum murinum*, *Elytrigia*…) sont stériles (Ellstrand *et al.,* 1999). Le risque le plus fort pourrait être le croisement avec *Aegilops cylindrica*. Cette graminée sauvage existe surtout aux États-Unis, elle est très rare en Europe, bien qu'observée en Grande Bretagne. De même, l'orge (*Hordeum vulgare*) ne produit pas de descendances fertiles en croisement avec les espèces sauvages apparentées ; le risque d'introgression n'existe donc pas (von Bothmer *et al.,* 1983).

Le soja (*Glycina max*) est une espèce autogame, à flux de pollen limité, et sans espèces apparentées proches en Europe, où les risques d'introgression sont nuls. Aux États-Unis, il existe cependant une espèce très voisine de sa forme sauvage (*Glycina soja*). Des introgressions de l'espèce sauvage dans l'espèce cultivée ont été expérimentalement réalisées ; le problème est de savoir si des introgressions de l'espèce cultivée dans l'espèce sauvage peuvent se produire naturellement.

Pour le riz (*Oryza sativa*) des croisements sont possibles avec des formes sauvages de la même espèce mais aussi avec d'autres espèces (*O. rufipogon, O. glaberrima, O. brevigulata*). Cependant, les descendants des croisements interspécifiques sont stériles ; ces croisements sont sans conséquence. En revanche, la grande facilité de croisement avec les riz sauvages demandera beaucoup de vigilance si le riziculteur veut utiliser des variétés transgéniques résistantes aux herbicides.

Exemples de probabilité assez forte de croisement : colza, betterave, chicorée

Le colza a un taux d'allogamie assez élevé (30 %) et il peut se croiser avec des espèces sauvages assez proches comme la roquette, la ravenelle et plus rarement avec la moutarde, espèces souvent présentes dans la zone de culture du colza.

Cependant, les résultats expérimentaux montrent qu'au bout de plusieurs générations, l'intégration du transgène dans le génome de l'espèce sauvage n'a pas eu lieu (voir p. 152) ; il est donc destiné à disparaître.

Pour la betterave, plante très allogame, avec un système d'auto-incompatibilité empêchant l'autofécondation, la situation est différente et on pourrait la croire favorable puisque c'est une plante cultivée pour sa racine et qui normalement ne devrait pas fleurir dans sa zone de culture. Dans la pratique, malgré les efforts du sélectionneur pour éviter la montaison, on observe toujours un certain pourcentage de betteraves qui montent et fleurissent (moins de 0,5 %). Mais, comme les variétés commercialisées sont des hybrides développés avec une stérilité mâle nucléo-cytoplasmique, les betteraves montant à graines l'année du semis devraient être stériles si le parent mâle utilisé maintenait bien la stérilité. Malheureusement, comme cela ne présentait aucun intérêt jusqu'à maintenant, le sélectionneur ne s'est pas préoccupé de croiser la femelle mâle-stérile par un pollinisateur qui maintient la stérilité ; de fait, dans les variétés actuelles, des restaurations partielles à totales de la fertilité peuvent être observées. Il en résulte des risques de flux de transgènes dans les zones de culture de la betterave, entre betteraves transgéniques et non transgéniques de champs différents, et surtout entre betteraves transgéniques et betteraves sauvages. Ce risque pourrait donc être fortement réduit avec un parent mâle qui maintiendrait bien la stérilité. Le plus grand risque est toutefois au niveau de la production de semences : il peut y avoir un flux du transgène vers les betteraves sauvages présentes dans la zone de production de semences (en France, dans la vallée de la Garonne par exemple) et aussi un flux de gènes des populations de betteraves sauvages vers le géniteur femelle utilisé. Le risque est d'autant plus grand que dans ces régions il existe des betteraves « férales »[1] qui se croisent donc très facilement avec la betterave cultivée. Le flux du transgène des plantes cultivées vers les populations sauvages peut être limité en intégrant le transgène dans le génome de la plante femelle, mâle-stérile, si toutefois l'homozygotie du transgène n'est pas nécessaire pour avoir un bon niveau d'expression ; il suffit alors d'avoir le transgène dans le génome du mainteneur de stérilité. Le flux des populations sauvages vers le géniteur femelle utilisé peut entraîner la présence d'hybrides sauvages × cultivés dans les zones de culture, qui en montant à graines l'année du semis, peuvent servir de relais entre l'espèce cultivée et les espèces sauvages présentes dans la zone de culture des racines (il est aussi possible que cette hybridation par des betteraves annuelles dans la zone de production de semences restaure plus ou moins la fertilité, lorsque celle-ci n'est pas restaurée par le parent pollinisateur). Enfin la diffusion du transgène vers les espèces sauvages des zones de culture pourrait être favorisée par une certaine pollution des semences, à un taux très faible (< 0,1 %), par des graines de betteraves sauvages, qui dans la zone de production de semences peuvent avoir reçu le transgène.

La conclusion de la CGB chez la betterave est que « l'introduction de variétés transgéniques ne semble pas susceptible de modifier la biologie et la répartition des populations spontanées » (CGB, 2001). Pour éviter les flux de transgènes, dans un champ de production de racines, il faut éviter les floraisons (par l'arrachage avant

1. Une plante « férale » est une plante qui a été domestiquée et est redevenue sauvage.

floraison des plantes qui montent) et dans les zones de production de semences les précautions prises actuellement sembleraient suffisantes.

Pour la chicorée industrielle, autre plante bisannuelle utilisée pour sa racine, la situation est voisine de celle de la betterave, mais avec une grande différence : il n'y a pas de chicorées « férales » comme il y a des betteraves « férales ». Au niveau des zones de production de racines, du fait des risques de montaison, il peut y avoir des flux de transgènes vers les chicorées sauvages, mais les risques sont faibles. Les risques de flux de gènes existent surtout au niveau de la production de semences (Lavigne *et al*., 1995). Le risque le plus probable est l'installation du transgène dans les populations sauvages voisines des champs de production de semences. D'ailleurs, dans les zones de production de semences, l'arrachage des chicorées sauvages est obligatoire et est suivi jusque sur les talus d'autoroutes. Donc, dans ce cas, comme pour la betterave, le développement de variétés transgéniques ne poserait pas de problèmes nouveaux pour la production de semences ou pour la culture.

Avec des plantes anémophiles (à pollen transporté par le vent) comme le maïs, certaines pratiques pourront réduire très fortement les risques de flux pollinique, en particulier l'isolement de la culture par une bande (de 8-10 m de large) de plantes de la même espèce, de même précocité de floraison, ne produisant pas de pollen. Avec des plantes entomophiles, pollinisées par les insectes, l'isolement de la culture est plus difficile mais tout à fait possible si l'on ne demande pas des taux de croisement avec la variété transgénique inférieurs à 1 %.

Les risques pour la flore sauvage et les cultures non transgéniques

Par rapport à la flore sauvage et aux cultures de variétés non transgéniques, quatre principaux risques peuvent être distingués :
– le risque d'invasivité, c'est-à-dire le risque qu'une plante cultivée transgénique « s'échappe » des champs cultivés et prolifère dans la nature ;
– le passage du transgène de la variété transgénique aux plantes sauvages apparentées ;
– le risque pour l'agriculteur d'observer des mauvaises herbes devenir résistantes, et le problème des repousses de plantes de la variété transgénique résistante aux herbicides dont les semences vont se conserver dans le sol ;
– le passage du transgène de la variété transgénique aux cultures de la même espèce, en particulier au cultures bio.

La notion de valeur sélective

À l'état spontané (sauvage ou non cultivé), le devenir des plantes porteuses d'un transgène dépend de l'avantage sélectif, appelé valeur sélective, qu'il va conférer aux plantes. La valeur sélective d'une plante transgénique peut se mesurer par le rapport du nombre de descendants qu'elle donne au nombre de descendants de la plante non transgénique isogénique placée dans les mêmes conditions de culture. Un gène dit « neutre » a une valeur sélective de 1, un gène favorable conduit à une valeur sélective supérieure à 1 et un gène défavorable conduit à une valeur sélective inférieure à 1. La valeur sélective dépend du milieu où sont les plantes. Ainsi, dans

un milieu où aucun traitement herbicide n'est appliqué, le fait pour une plante de porter un gène de résistance aux herbicides sera neutre (si ce gène ne modifie pas d'autres fonctions), alors qu'il aura un avantage sélectif très fort en cas de traitement herbicide. En l'absence de nouveaux flux de transgènes, si le transgène est neutre, sa fréquence restera stable dans les grandes populations. Dans les petites populations, par le hasard de l'échantillonnage des gamètes dans le passage d'une génération à l'autre, sa fréquence pourra être très variable, il pourra même se fixer ou être perdu. Mais en moyenne sur un grand nombre de petites populations, sa fréquence ne changera pas. S'il a un effet défavorable sur la valeur sélective des plantes qui le portent, celles-ci seront contre-sélectionnées et il disparaîtra. Il faut alors raisonner en fonction de l'effet du transgène sur la valeur sélective.

Un flux permanent du transgène vers les populations sauvages va contribuer à augmenter sa fréquence dans les populations d'espèces sauvages apparentées, voisines physiquement. Dans ce cas, même si le transgène est neutre, sa fréquence pourra être élevée.

Le risque d'invasivité d'une variété transgénique

Les plantes cultivées avec un transgène peuvent-elles devenir une mauvaise herbe, c'est-à-dire être invasives, proliférantes à l'état sauvage ? Ce risque peut être considéré comme nul pour certaines espèces et réel pour d'autres. Depuis longtemps certaines plantes domestiquées par l'homme, comme le maïs ou les céréales, ont perdu leur capacité à survivre à l'état spontané sans intervention de l'homme (voir chap. 2). De plus, certaines comme la tomate, le haricot, le maïs sont d'origines exotiques et complètement inadaptées hors de leurs conditions de culture. La transgénèse, avec des gènes d'intérêt pour l'homme, ne change rien à cet aspect. Cela a bien été montré par une étude réalisée en Angleterre (Crawley *et al.,* 2001) au niveau du colza, du maïs, de la betterave et de la pomme de terre. Au bout de trois ans, dans un habitat naturel, les différentes plantes introduites avaient disparu. Cependant d'autres espèces, comme les plantes fourragères (luzerne, graminées fourragères) sont restées très proches de l'état sauvage, et donc dans ce cas là, une plante transgénique pourrait s'installer dans un habitat non cultivé. Mais pour qu'elle devienne invasive, elle devrait avoir un avantage sélectif. De tels cas ne sont pas observés. En fait, les risques de prolifération d'une espèce sont infiniment plus grands suite aux importations de plantes, de façon consciente ou inconsciente, d'un écosystème dans un autre écosystème. Ainsi on peut citer l'invasion de la mer Méditerranée par l'algue *Caulerpa taxifolia,* « échappée » d'un aquarium.

D'autres exemples peuvent être donnés :
– l'ambroisie (*Ambrosia artemisiifolia*), composée originaire d'Amérique du Nord, apparue en France en 1863, sans doute dans des lots de semences fourragères, et dont le pollen est très allergénique,
– le *Senecio inaequidens* (sorte de séneçon pérenne) — qui s'est beaucoup développé dans toutes nos prairies à partir de 1970, dont les graines ont été importées accidentellement d'Afrique du Sud avec les toisons de laine de moutons —, certaines lentilles d'eau (*Lemna minuscula*, *Lemna turionifera*), etc. (Maillet, 2004 ; Muller, 2004a,b).

Les risques pour la flore sauvage

Le problème est de savoir si le transgène, une fois intégré dans le génome de l'espèce sauvage, confère un avantage sélectif complètement différent de celui qui pourrait être obtenu par un gène provenant de variétés non transgéniques. En effet, les échanges de gènes entre plantes sauvages et plantes cultivées existent indépendamment de la transgénèse. Dans le cas de variétés transgéniques résistantes aux virus, aux bactéries ou aux champignons, il est évident que le transfert du transgène aux plantes sauvages donnera un avantage sélectif aux plantes qui le porteront, mais ce risque existe déjà avec les variétés non transgéniques résistantes aux maladies. De même si un gène de résistance aux insectes est transmis aux espèces sauvages, il est évident qu'il n'est pas neutre (alors qu'en l'absence d'herbicide le gène de résistance à l'herbicide est neutre, voire défavorable). Cela pourrait donc contribuer à modifier l'équilibre des populations de plantes sauvages dans une zone donnée, mais ni plus ni moins qu'avec les variétés actuelles avec des résistances non transgéniques. Les transgènes entraînant la tolérance à la sécheresse, au froid et au sel pourront aussi donner un avantage aux plantes sauvages les portant (mais leur diffusion, dans les zones où ces stress abiotiques existent, serait plutôt un avantage qu'un inconvénient d'un point de vue écologique). Pour les transgènes modifiant la qualité nutritionnelle ou organoleptique de la plante il est difficile de prévoir l'existence d'un avantage ou d'un désavantage sélectif.

D'une façon générale, la difficulté sera de montrer l'existence d'un avantage sélectif. Un avantage sélectif faible sera très difficile à mettre en évidence ; pourtant, il peut quand même produire un effet très significatif à long terme. De plus, l'avantage sélectif est d'autant plus difficile à étudier qu'il peut dépendre du site d'intégration du transgène. Autant dire qu'il est impossible de faire toutes les études *a priori*. Heureusement, cela ne concerne que les espèces cultivées pour lesquelles des croisements avec des espèces sauvages sont possibles (voir p. 154). En particulier, en Europe cela ne concerne pas le maïs et les risques d'échange sont très faibles avec le blé et la pomme de terre. En revanche, les risques existeraient avec le colza. Enfin, cela ne concerne pas non plus tous les gènes. Le risque doit donc être étudié au cas par cas, événement de transformation par événement de transformation et selon les agrosystèmes.

Dans de telles situations la mise en place de dispositifs de biovigilance (voir chap. 6) sera indispensable, afin de suivre des évolutions possibles de la flore.

Le cas de la téosinte au Mexique est intéressant. En effet, la téosinte est l'ancêtre du maïs et dans les zones où cet ancêtre est présent (Mexique) il existe un flux de gènes permanent de la plante cultivée vers la plante sauvage et réciproquement de la plante sauvage vers les populations de maïs encore cultivées. Les échanges de maïs vers la téosinte ont forcément existé et ils existeront toujours si le maïs est cultivé dans les zones où la téosinte est présente à l'état spontané. L'alarme a été tirée suite à la découverte dans les champs de maïs mexicains de maïs transgéniques, alors que le maïs transgénique n'est pas autorisé et n'est pas cultivé au Mexique (Quist et Chapela, 2001). La réalité et surtout l'importance de cette dissémination font toujours l'objet de discussions, les méthodes employées pour l'étude étant critiquables (Christou, 2002). Enfin, une étude plus exhaustive réalisée en 2003 et 2004 (125 champs, 18 localités, 153 746 échantillons) a permis de conclure à

l'absence de transgènes dans les populations locales incriminées (Ortiz-Garcia *et al*., 2005).

Le passage d'un transgène du maïs à la téosinte ne peut éventuellement poser un problème pour la diversité des populations de téosinte que si ce transgène entraîne un avantage sélectif nouveau par rapport à ce qui résulte du passage des gènes du maïs non transgénique. Autrement il aura le même statut que n'importe quel autre gène du maïs qui peut ou non s'incorporer dans le génome de la téosinte.

Les risques avec les variétés transgéniques résistantes aux herbicides

Les risques sont à considérer d'une part pour la flore sauvage apparentée, en dehors du champ de l'agriculteur, et d'autre part dans le champ de l'agriculteur.

Le transfert de la résistance aux herbicides aux plantes sauvages apparentées, en l'absence d'herbicide, n'aura aucun impact sur leur évolution sauf si ce caractère augmente la fertilité des plantes. Chez le colza, espèce pour laquelle les échanges ont été les plus étudiés, aucune recherche ne permet encore de conclure, mais les hybrides interspécifiques obtenus avec la flore sauvage montrent des dysfonctionnements de leur reproduction et apparaissent moins vigoureux que leurs parents (Guéritaine *et al*., 2002 ; 2003). Les risques pour la flore sauvage sont donc très faibles dans ce cas. Cependant, s'il existe une espèce sauvage proche parent et fertile avec l'espèce cultivée (cas de la betterave), le problème est de savoir si les hybrides interspécifiques qui peuvent se former ont un avantage sélectif ou non.

Pour l'agriculteur, les resemis de la variété transgénique, la conservation de ses graines dans le sol et l'apparition dans la culture d'hybrides interspécifiques sauvage × cultivé transgéniques (voire de générations plus avancées d'introgression du transgène dans l'espèce sauvage), vont poser un gros problème de désherbage. Ce problème sera d'autant plus aigu qu'à terme, il risque d'apparaître des plantes résistantes à plusieurs herbicides. De plus, même sans échange de gènes entre plantes sauvages et plantes cultivées, des résistances aux molécules utilisées pourraient apparaître chez la plante sauvage. Toutefois, cette question n'est pas nouvelle : avec des plantes conventionnelles, l'utilisation d'herbicides a déjà entraîné le développement de plantes résistantes (ex. : la résistance aux triazines).

Le problème pour l'agriculteur

Avec des variétés conventionnelles (non résistantes aux herbicides), si l'on cultive dans la même parcelle un soja une année et un maïs l'année suivante, chaque culture étant désherbée avec son herbicide classique, spécifique, il n'y aura pas de problème de désherbage. Les mauvaises herbes résistantes qui apparaîtraient dans la culture de soja, seront détruites à la génération suivante par le désherbage du maïs, et celles apparaissant dans la culture de maïs seront détruites par le désherbage du soja. Il en sera de même des resemis, les resemis d'une espèce seront détruits avec la culture de l'autre espèce et réciproquement (en France, l'exemple est plus crédible avec une succession blé-colza). Mais avec les variétés transgéniques, les deux espèces (soja et maïs, ou blé et colza) pourraient présenter le même transgène, donc c'est le même herbicide qui serait utilisé : les plantes non désirées

(plantes sauvages, hybrides plante sauvage × plante cultivée, resemis) porteuses d'un gène de résistance (mutation ou non) persisteront alors et ne pourront que se développer si le même herbicide continue d'être utilisé. Une solution est d'alterner les sources de résistances, mais alors se pose le risque d'apparition des résistances multiples par échange de gènes entre une plante résistante à un herbicide (une mauvaise herbe ou un resemis de la culture) et une autre plante résistante à un autre herbicide. Ces risques sont plus forts si des échanges sont possibles entre les plantes sauvages apparentées et la plante cultivée, avec des descendances fertiles. Pour les limiter et garder les avantages d'un désherbant total (le nombre de molécules possibles d'herbicides totaux, utilisables en faible quantité, biodégradables, étant limité, ou d'un coût de mise au point très élevé) la solution est de continuer à alterner avec les cultures classiques, utilisant des désherbants « classiques », non totaux. Ainsi des repousses de colza et des hybrides colza × navette dans des cultures de céréales seront facilement détruits par des désherbants antidicotylédones « classiques ».

La généralisation des variétés transgéniques résistantes aux herbicides, par suite de l'avantage de la « simplification de la culture » qu'elles procurent, risque donc à terme de compliquer un peu la vie des agriculteurs puisqu'ils devront gérer la rotation des espèces, des variétés et des molécules herbicides. Mais, cet effort de gestion est sans doute justifié compte tenu des avantages escomptés.

Effets sur la population de mauvaises herbes

Depuis la première apparition d'une résistance à la triazine en 1968, le nombre de plantes résistantes à un herbicide a régulièrement augmenté : on en dénombrerait plus de 200 aujourd'hui (216 d'après Warwick 1998, 291 selon Heap 2004, dont une soixantaine pour la résistance aux triazines). Pour que de telles plantes apparaissent, des gènes de résistance doivent exister dans la population de mauvaises herbes. Il est probable que si ces résistances ne se sont développées que par une utilisation intensive des herbicides, c'est que, en l'absence d'herbicide, leur présence doit être défavorable à la survie des plantes qui les portent (cas de désavantage sélectif) (Roux *et al.,* 2003). En revanche l'utilisation des herbicides leur donne un avantage sélectif leur permettant de se développer si les surfaces traitées sont importantes et si le traitement herbicide dure assez longtemps. On peut donc se demander si ce risque existe avec un herbicide total et le fait que le gène de résistance n'ait pas été trouvé chez les plantes. Il pourrait être plus difficile pour les populations de plantes sauvages de voir apparaître des mécanismes de résistance. Cependant la découverte d'une résistance naturelle au glyphosate chez des érigérons (van Gessel, 2001), des ray-grass (Lorraine Colwill *et al.*, 1999), chez *Cirsium arvense* et obtenue aussi par culture *in vitro* chez le maïs, enlève du poids à cet argument (voir Owen, Zelaya, 2002 ; Hager, 2003 ; Heap, 2003 ; Sloltenberg et Jeschke, 2003, *in* Bonny, 2004). On peut alors penser que c equi est vrai pour le glyphosate sera aussi vrai pour le glufosinate.

Si des résistances au glyphosate ou au glufosinate peuvent se développer aussi rapidement, alors les variétés résistantes aux herbicides ne présenteront plus d'intérêt. Ce n'est pas seulement un risque économique pour les sociétés qui produisent les variétés transgéniques résistantes aux herbicides, mais aussi un risque important pour les agriculteurs qui perdront les possibilités d'utilisation de

molécules très intéressantes dans certaines situations. Ils devront alors avoir recours à des molécules herbicides bien plus polluantes (Nelson et Bullock, 2003). Il ne semble en effet pas du tout évident de mettre au point de nouvelles molécules de désherbant total, avec un profil écotoxicologique aussi favorable que celui du glyphosate ou du glufosinate. Ce ne serait pas qu'un problème de coût, bien qu'il y ait sans doute encore des pistes à explorer. Ainsi, l'intérêt de l'agriculteur et l'intérêt de la firme produisant les variétés transgéniques pourraient aller de pair. Pour éviter une pression de sélection trop forte sur les mauvaises herbes, il faudrait donc s'abstenir de généraliser l'utilisation des variétés transgéniques résistantes aux herbicides.

Les risques pour les cultures non transgéniques de la même espèce

Un premier risque du flux pollinique des variétés transgéniques vers les cultures de variétés non transgéniques est celui d'affecter la pureté des productions, ce qui peut être ennuyeux pour des productions garanties sans OGM (cas de l'agriculture bio ou d'une filière sans OGM, voir chap. 5). Mais il y aussi un deuxième risque, celui d'affecter la composition chimique des productions grainières lorsqu'il y a un effet de xénie. La xénie peut être définie comme la manifestation de l'effet de gènes du pollen sur les caractéristiques du fruit ou de la graine (Bulant et Gallais, 1999). Certains cas sont déjà bien connus : par exemple si une plante de maïs doux reçoit du pollen de maïs standard, alors le grain de maïs résultant de la fécondation est tout à fait normal, non ridé à maturité : l'effet du gène entraînant le caractère doux est masqué. De même les pommes de la variété « Golden » selon le pollinisateur (nécessaire pour le pommier qui est autostérile) peuvent présenter des couleurs légèrement différentes (Kovacs, 1976). Il faut toutefois que l'allèle porté par le pollen soit dominant sur celui porté par l'ovule. Avec les variétés transgéniques, le risque de xénie existe puisque le transgène, se comportant comme un gène dominant, peut changer les caractéristiques du grain ou du fruit auquel il donnera naissance par fécondation avec un ovule non porteur du transgène. Par exemple, si un colza à faible teneur en acide érucique est fécondé par une variété transgénique de colza à forte teneur en acide érucique, le grain récolté sera riche en acide érucique ; si un maïs non transgénique est fécondé par un maïs produisant de la lipase gastrique dans le grain, le grain récolté aura accumulé de la lipase gastrique. Ce problème n'est pas nouveau, il est déjà bien connu avec les variétés de maïs produisant des amidons spéciaux, mais dans ce cas, les risques seraient plus grands. La solution est apportée par l'isolement des parcelles. De plus, même sans effet du transgène sur le grain récolté, certains agriculteurs, par exemple les agriculteurs bio, désirant des produits sans OGM, peuvent exiger un isolement de toute culture transgénique. Le problème est qu'il faut un isolement pour les productions garanties non-OGM, mais aussi un isolement pour toute production particulière affectant la qualité du grain ; cela risque donc de générer un grand nombre d'isolements (voir chap. 6). La diversification des productions pour les plantes cultivées pour leurs graines risque donc de buter sur ce problème d'isolement.

Les risques par rapport aux populations de parasites

Les risques avec les variétés transgéniques résistantes aux maladies

Variétés transgéniques résistantes aux virus

L'avantage des variétés transgéniques résistantes aux virus est que l'on crée des résistances là où la diversité génétique de l'espèce améliorée ou des espèces apparentées ne permet pas d'en trouver. Le bilan est positif : protection de la culture, stabilité des résistances, respect de l'environnement. Mais, à terme, il se pose la question du risque d'apparition de souches de virus plus virulents, peut être plus difficiles à contrôler. Le problème peut exister avec certaines stratégies (dites sens et antisens) quand une recombinaison a lieu entre le transcrit transgénique et le génome viral. Il faut toutefois une très grande similitude entre les deux séquences d'ARN ce qui en rend la probabilité très faible (Tepfer et Balazs, 1997). Il n'est pas certain que ce risque soit plus fort qu'avec les résistances actuellement utilisées.

Avec l'hétéroencapsidation (encapsidation du virus dans une capside non homologue au génome viral), plusieurs propriétés du virus peuvent être modifiées, en particulier : l'aptitude à être transmis par un vecteur (souvent les pucerons, les cicadelles) qui est déterminée en partie par la capside (Lecoq *et al.*, 1993), l'aptitude à la migration systémique dans la plante et l'aptitude à être transmis par la graine. Toutefois, ce phénomène ne modifie que le phénotype des virus (leur patrimoine génétique n'est pas touché) après l'infection sur les plantes transgéniques : les modifications disparaissent dès que le virus se retrouve et se réplique dans une plante non transgénique. Un autre inconvénient possible de la stratégie encapsidation était apparu dans le cas de la résistance à la rhizomanie de la betterave : elle a un coût métabolique susceptible d'entraîner un effet défavorable sur le rendement, du fait de la production constitutive de la protéine de capside. Dans une telle situation, une réponse peut être apportée par une production de protéine induite par la pénétration du virus (piqûre d'insectes par exemple). La stratégie « encapsidation » reste cependant l'une des plus simples et peut être l'une des plus sûres. Elle avait donc été envisagée pour la résistance à la rhizomanie chez la betterave, mais elle a été abandonnée dès la découverte de résistances naturelles et surtout à cause du blocage des variétés transgéniques en Europe.

Plus imprévisible est le risque de recombinaison génétique entre un virus infectant une plante transgénique et l'information génétique d'origine virale qu'exprime la plante transgénique. Dans ce cas il peut y avoir une modification durable du génome viral avec des propriétés nouvelles entraînant des viroses aggravées (Greene et Allison, 1994). On sait que ces phénomènes se produisent déjà dans la nature, à de faibles fréquences, lors d'infections mixtes. Le problème est de savoir si avec la transgénèse ces événements seraient plus fréquents. Y a-t-il un risque de modification du spectre d'hôtes, avec l'apparition de nouveaux virus pour certaines espèces ? Des recherches fondamentales doivent être poursuivies avant d'exploiter certaines stratégies à grande échelle. De plus, il serait possible de construire des transgènes diminuant le risque de recombinaison (Allison *et al.*, 1997).

Variétés transgéniques résistantes aux champignons

Le risque serait que les résistances d'origine transgénique soient contournées, comme les résistances monogéniques naturelles. On peut supposer qu'elles seraient plus stables, mais aujourd'hui cela reste une hypothèse, car les observations sur cette stabilité des résistances transgéniques aux champignons sont insuffisantes, tout simplement parce que de telles variétés transgéniques ne se sont pas encore développées à grande échelle. Une façon de limiter les risques de contournement serait de diminuer la pression de sélection sur le parasite en utilisant des gènes qui seraient seulement induits lors de l'infection.

Les risques avec les variétés transgéniques résistantes aux insectes

Risque de contournement des résistances

Comme pour la résistance à certains virus, la transgénèse permet d'obtenir des résistances aux insectes là où la diversité génétique de l'espèce améliorée ou des espèces apparentées ne permet pas d'en trouver. Il est donc important de se préoccuper de leur stabilité. En effet, si les insectes devenaient résistants à la toxine fabriquée par les plantes, non seulement les transgènes actuels ne pourraient plus être utilisés, mais la toxine *Bt* elle-même ne pourrait plus être utilisée comme insecticide (comme cela est fait par exemple en agriculture biologique). La recherche devrait rapidement identifier et développer d'autres transgènes ayant les mêmes qualités, ce qui n'est pas évident, ou alors les agriculteurs devraient revenir à l'utilisation d'insecticides plus dangereux pour la santé et l'environnement.

Le problème est donc de savoir si les insectes nuisibles (cible du transgène) peuvent devenir résistants comme cela a déjà été observé, par exemple avec les moustiques, dans le sud de la France, suite à une utilisation assez massive du DDT pendant une assez longue période. Ce problème n'est pas nouveau et se pose avec tout insecticide. Ce qui est nouveau ici est que la pression est ou sera bien plus forte sur l'insecte ravageur, si les variétés transgéniques résistantes aux insectes sont largement utilisées, puisque toutes les surfaces en variétés transgéniques produiront la toxine de façon continue. Le risque peut dépendre de l'insecte et des toxines utilisées, mais il existe pour toute résistance utilisée. L'acquisition de la résistance par mutation pourrait avoir un coût physiologique (par exemple se traduire par une plus faible fertilité de l'insecte) et cela ralentirait l'apparition et le développement de souches résistantes. D'un point de vue génétique, le risque de contournement pourrait être aussi réduit en mettant plusieurs gènes de résistance dans une même variété transgénique (Zhao *et al*., 2003), mais à terme, cela ne supprimerait pas le risque potentiel de voir l'insecte contourner ces gènes par une série de mutations. Les travaux de Zhao *et al*. (2005) montrent en particulier que la coexistence de variétés transgéniques avec un et deux transgènes de résistance aux insectes permettrait même une adaptation plus rapide de l'insecte.

Le risque potentiel d'apparition d'insectes résistants a fait l'objet de nombreux travaux (Chauffaux *et al*., 2001). Ainsi, des pyrales résistantes à l'action du transgène ne sont pas encore apparues en conditions artificielles, même après 35 générations de pression de sélection obtenue en forçant les larves à se développer sur un milieu

enrichi en toxine (dans l'expérience Inra, Bourguet et Chauffaux, 2002, le plus fort rapport de résistance entre lignée sélectionnée et lignée sensible a été de 32, ce qui, d'après les auteurs, est insuffisant pour permettre aux larves de se développer sur le maïs *Bt*). Depuis le suivi des populations naturelles de pyrale par l'EPA aux États-Unis, aucune sélection de pyrales résistantes n'a pu être mise en évidence et la fréquence des allèles de résistance est inférieure à 10^{-3} (comme en France). Cependant le risque existe, comme le montre les résistances déjà observées en laboratoire aux États-Unis et en Chine chez un lépidoptère ravageur du cotonnier : *Helicoverpa armigera*. Chez un autre lépidoptère, ravageur du maïs dans le sud des États-Unis et en zone tropicale, *Heliothis virescens*, des expériences de laboratoires ont montré qu'il pouvait devenir résistant aux toxines *Cry1* (Gould *et al*., 1995). La prudence s'impose donc.

Au niveau agronomique deux actions sont possibles : 1) ne pas cultiver toujours la même plante avec le même transgène, ce qui tendra à diminuer la pression de sélection sur l'insecte, et 2) avoir recours à l'aménagement de *zones refuges* (Bourguet *et al*., 2003, 2005 ; fig. 5.6). Cette solution consiste à avoir au milieu de la parcelle avec une variété transgénique résistante aux insectes une surface assez

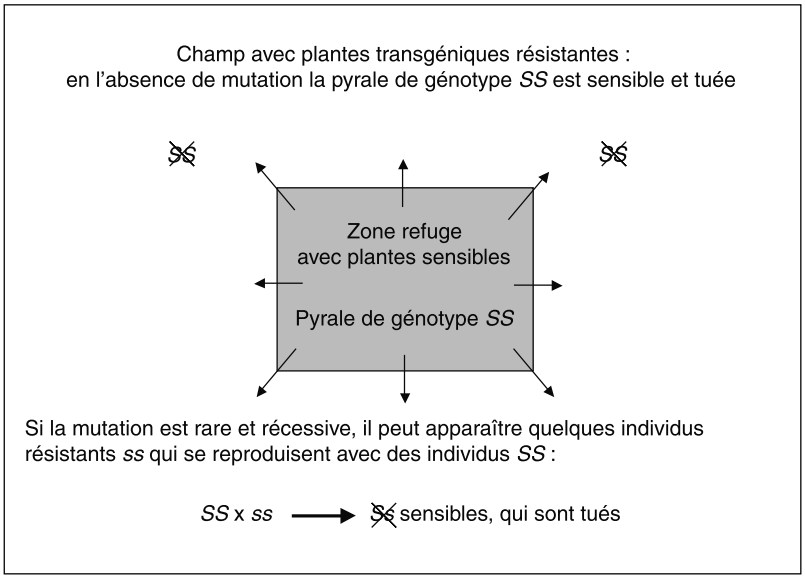


Figure 5.6. Illustration de l'effet des zones refuges dans le cas de la pyrale.
La zone refuge (20 % de la surface) permet le maintien de pyrales sensibles à la toxine *Bt*, de génotype *SS.* Au niveau de la culture transgénique, les larves de génotype *SS* sont tuées. Si une mutation récessive apparaît (probabilité de l'ordre de 10^{-5}), elle est d'abord masquée à l'état homozygote. Elle ne peut apparaître à l'état homozygote *ss* que s'il se produit une mutation chez un hétérozygote *Ss* ou si deux hétérozygotes se reproduisent entre eux. Ces deux événements seront très rares. Si dans la population de pyrale, la fréquence initiale du gène de résistance est très faible, il risque de n'y avoir dans le champ de maïs que quelques rares papillons résistants (*ss*) qui ne pourront pratiquement se reproduire qu'avec les individus sensibles (*SS*) entretenus par la zone refuge. Les descendants de cette reproduction, de génotypes *Ss*, seront sensibles et les larves seront donc tuées. Le système fonctionne comme un piège pour la mutation de résistance. Même si le piégeage n'est pas à 100 %, ce dispositif ralentira très fortement le développement de la résistance.

grande avec une variété non résistante aux insectes (20 % dans le *Corn Belt* des États-Unis, 50 % dans le sud où il y a des cultures de coton). La pression de sélection sur l'insecte est ainsi diminuée, et surtout cela peut constituer un véritable piège des insectes mutants résistants qui pourraient apparaître. Pour cela, la séparation des cultures résistantes aux insectes et non résistantes est nécessaire ; un mélange des deux types de plantes n'aurait pas d'effet (Shelton *et al*., 2000). Les zones refuges sont devenues obligatoires aux États-Unis à partir de 2000 et placées sous contrôle de l'EPA. Depuis 2003, si les agriculteurs ne respectent pas les zones refuges deux années de suite, ils ne peuvent plus acheter de semences de variétés transgéniques résistantes aux insectes. Cependant, l'efficacité de cette stratégie dépend du sens de la dominance de la résistance : il faut une résistance récessive (Bourguet *et al*., 2000), ce qu'elle est bien chez certains insectes où elle a été observée (Tabashnik, 1997). Si la résistance était dominante, la stratégie refuge ne jouerait plus son rôle et si elle était additive, son efficacité serait réduite. De plus la fréquence initiale des gènes de résistance doit être très faible (moins de 10^{-4}). À noter qu'il est possible de traiter les zones refuges avec les insecticides classiques (hors *Bt*).

Pour être efficace, la stratégie des « zones refuges » doit être appliquée au niveau d'une grande région : elle n'a pas de sens chez un agriculteur isolé. Cela explique qu'elle soit contrôlée et imposée par une organisation d'état (l'EPA aux États-Unis). Elle peut d'ailleurs être vue globalement au niveau de l'ensemble d'une zone de culture de plusieurs espèces, lorsque les insectes ravageurs de ces espèces sont les mêmes, comme c'est le cas dans les états du sud des États-Unis, avec *Helicoverpa zea*, un lépidoptère polyphage qui s'attaque au maïs et au cotonnier (et aussi à la tomate !). De plus, il migre en fin de saison des maïs du Midwest vers les cotonniers du Sud. Chez ce lépidoptère, les gènes de résistance sont déjà présents (Gould *et al*., 1995) et en conséquence, une grande prudence s'impose. Dans ces zones où la culture du cotonnier est prédominante, les cultures de maïs servent de zones refuges pour la culture du cotonnier ; mais si la culture du maïs *Bt* se développait au-delà d'une certaine proportion, elle augmenterait la pression de sélection sur l'insecte ; c'est pourquoi, dans ces états, l'EPA a limité à 50 % la culture du maïs *Bt*, alors qu'elle est de 80 % dans le *Corn Belt* (Gould *et al*., 2002). Pour la culture du cotonnier elle-même, l'obligation de zone refuge est de 25 % (5 % non traitée au minimum et 20 % traitée au maximum ; EPA, 2001). C'est la stabilité de la résistance du cotonnier et du maïs qui est en jeu. Un bilan sept ans après le développement des premières cultures transgéniques résistantes aux insectes (*Bt*) aux États-Unis conduit à constater, qu'au champ, les résistances ne sont pas apparues, alors que certaines étaient apparues au laboratoire (Fox, 2003). Peut-être est-ce dû à l'efficacité des méthodes utilisées. Bien sûr, il faut voir sur une période beaucoup plus longue. En revanche, du point de vue économique, l'intérêt des refuges n'apparaît pas évident (AIP Inra).

L'effet du passage du transgène aux plantes sauvages

Si la pression de sélection pour la résistance à un herbicide peut être gérée par l'homme qui reste maître des traitements, en revanche celle concernant la résistance à un insecte ou à une maladie lui échappe complètement, puisqu'une fois la résistance transmise aux plantes sauvages, celle-ci continue de s'exercer pleinement

en dehors du champ cultivé, ce qui peut accélérer l'évolution de l'insecte ou du pathogène cible. Ainsi, l'équilibre des populations d'insectes serait affecté, avec en retour un effet possible sur les populations de plantes sauvages. Si le transgène ne contrôle pas la résistance aux insectes, il peut modifier l'attractivité de certaines espèces de plantes pour les insectes et affecter encore les populations d'insectes. Ainsi, dans ce cas encore, le transfert aux espèces sauvages peut être préoccupant à long terme. Pour limiter ces risques, il faudrait introduire le transgène seulement dans les espèces pour lesquelles les risques d'échange avec les plantes sauvages sont nuls, très faibles ou minimisés et alterner la culture de variétés portant des transgènes différents.

Les dangers des résistances transgéniques pour la faune non-cible

Même si les toxines codées par les transgènes utilisés ont une spécificité, il est évident qu'elles ne détruisent pas que l'insecte visé. *Cry1a* tend à avoir un effet, plus ou moins important, sur toutes les larves de lépidoptères. Cependant, la voie *Bt* est plus sélective que les insecticides classiques, donc elle est plus respectueuse de la faune non-cible. Dans le cas du maïs, l'effet est le même que par l'apport des granulés insecticides à base de toxine *Bt*, mais avec une meilleure protection, donc forcément avec un effet induit plus fort sur la faune « apparentée » (les lépidoptères). Quelques exemples particuliers sont considérés dans ce qui suit.

– L'effet du gène Bt *et des inhibiteurs de protéases sur les abeilles*

Le colza héberge de nombreux insectes : charançon du bourgeon terminal, altise, charançon de la tige et des siliques, méligèthes. Leur contrôle demande des traitements insecticides même au moment de la floraison. Or, le colza est une plante mellifère très visitée par les abeilles en période de floraison et il est primordial d'utiliser des insecticides non nocifs pour les abeilles. La création de colzas transgéniques résistants aux insectes est donc une solution, à condition qu'elles ne présentent aucun risque pour les abeilles. La principale stratégie retenue actuellement consiste à introduire un transgène *Bt*. Comme la toxine n'a pas été détectée dans le nectar, les abeilles ne devraient pas être directement affectées, et cela est vérifié expérimentalement. De plus, différentes études montrent l'absence d'effets toxiques au niveau des larves (Groot et Dicke, 2002).

Une autre voie d'approche chez le colza consiste à utiliser les inhibiteurs de protéases (inhibiteur à cystéine *OCI* de riz) qui perturbent la protéolyse digestive des insectes. L'inhibiteur *OCI* n'a pas été détecté dans le pollen des variétés transgéniques, donc les risques d'effets directs sur les abeilles sont nuls (Jouanin et Pham-Delègue, 1998). D'ailleurs, un inhibiteur de protéase à sérine (présente chez l'abeille), ingéré à des doses similaires à celles pouvant être produites par des variétés transgéniques n'a eu aucun effet sur les abeilles ; cependant, à fortes doses, irréalistes, des effets délétères ont été observés.

– L'effet du gène Bt *sur le papillon Monarque*

La communication de Losey *et al*. dans la revue *Nature* (20/05/1999) a sans doute eu un impact très fort en Europe. Elle montrait un effet toxique très fort du pollen de maïs *Bt* sur les larves du papillon Monarque (*Danaus plexippus*), papillon « mythique » aux États-Unis, symbole de la nature. Cependant, il s'agit d'un bel exemple d'expérience mal interprétée et avec une mauvaise communication.

D'abord, il faut bien préciser que le papillon Monarque ne s'arrête pas beaucoup sur le maïs. En effet, le maïs est une plante sans nectaire et donc peu attractive pour les papillons. Le risque qui a été signalé est au niveau des larves qui se développent de façon préférentielle sur le laiteron (*Asclepias syriaca*). Si le pollen de maïs tombe sur les feuilles de laiteron, en abondance, alors ces larves peuvent consommer du pollen de maïs dans lequel le gène *Bt* s'exprime. Dans l'expérience, d'ailleurs d'abord réalisée avec un autre laiteron, *Asclepias curassavica*, les larves recevaient beaucoup de pollen, alors que dans la nature à 30 m d'un champ de maïs, il ne reste que des traces de pollen sur les feuilles. De plus la pollinisation du maïs ne correspond pas au moment où les larves prolifèrent : elle a lieu quand plus de 90 % des larves sont écloses. Enfin, des expériences complémentaires (Standley-Horn *et al*., 2001) ont montré un effet fort du type d'événement utilisé. Alors que dans les conditions de l'expérience, l'événement *Bt176* avait un effet négatif fort sur la croissance des larves, les événements *Bt11* et *Mon810* n'avaient pas d'effet significatif pendant les 22 jours de l'expérience. Cela est la conséquence du promoteur utilisé dans ces différents événements de transformation : celui de *Bt176* permet plus d'expression dans le pollen que ceux utilisés par *Bt11* et *Mon810*. En fait l'événement *Bt176* comprend deux promoteurs dont l'un est spécifique du pollen.

La CGB (1999) a chiffré les risques de toxicité pour des larves de lépidoptères qui consommeraient du pollen de maïs *Bt11*. Sachant que la concentration de toxine dans le pollen de ce type de maïs est d'environ 0,1 ppm, que la dose létale pour une espèce très sensible comme la pyrale est de 1 ppm, qu'elle consomme 1,37 cm^2 pendant 5 jours, il faudrait $1{,}2.10^5$ grains de pollen par cm^2. Or, au cœur d'une parcelle 8.10^3 grains par cm^2 sont émis en 10 jours, ce qui représente un facteur de sécurité de 15. Mais à 1 m, même dans le sens du vent, la quantité de pollen est réduite de 85 %, ce qui fait un facteur de sécurité de 100 ; à 60 m il y a moins de 0,1 % soit un facteur de sécurité de 15 000 ! Donc, même si un événement de transformation entraîne 10 fois plus de toxine, le facteur de sécurité en dehors du champ est très grand. Le risque de toxicité par ingestion de pollen de variétés transgéniques par des larves d'insectes hors du champ est négligeable. Ce risque pour le papillon Monarque, comme pour d'autres insectes non cibles est beaucoup plus faible que celui de la destruction directe par l'utilisation des insecticides classiques sur toutes les cultures.

Dans les faits, la population de Monarque aux États-Unis n'a pas diminué. Au Texas, il a même été observé à l'automne 2001 une prolifération inexpliquée. Il apparaît que l'avenir de cette espèce dépend davantage de la disparition des forêts au Mexique, puisque le papillon Monarque hiverne dans ces forêts, et que la déforestation progresse toujours.

Une solution pour limiter encore le risque sur les insectes pollinisateurs ou consommateurs de pollen : changer de promoteur et prendre un promoteur spécifique des parties végétatives, ne s'exprimant pas dans le pollen (intéressant aussi pour les abeilles). C'est pratiquement déjà le cas avec les événements *Bt11* et *Mon810*.

– L'effet sur la faune d'une chaîne alimentaire

Un risque a été souligné pour les chrysopes qui se nourrissent de larves de pyrale. En effet, dans une expérience (Hilbeck *et al*., 1998) des chrysopes alimentés avec des larves d'un lépidoptère (*Spodoptera littoralis*) élevées sur un maïs *Bt* sont morts.

Cependant, les résultats ne semblent pas faciles à interpréter, car les chrysopes dans la nature se nourrissent plutôt de pucerons. Or, une expérience réalisée avec des pucerons n'a pas montré d'effet défavorable (Lozzia *et al.*, 1998). L'effet négatif sur les populations d'insectes se nourrissant de larves de pyrale n'est donc pas clairement démontré. Mais dans tous les cas, si effets négatifs il y a, ils seront bien plus faibles qu'avec les insecticides classiques. De même des effets négatifs du gène de lectine (GNA) utilisé pour protéger la pomme de terre contre les pucerons ont été observés sur des coccinelles (*Adalia bipunctata*) se nourrissant de pucerons élevés sur des pommes de terre transgéniques. La fécondité et la viabilité des œufs étaient réduites (Birch *et al*., 1999). Cependant, Down *et al*. (2000) ont montré que ce résultat n'était pas une conséquence de la toxine, mais plutôt un effet de la réduction du poids des pucerons élevés sur la pomme de terre transgénique. En effet, avec des pucerons de poids égal à ceux élevés sur une pomme de terre non transgénique, aucun effet significatif n'a été observé. Cette expérience, pourtant assez simple, montre la difficulté de prouver qu'un effet est bien attribuable au transgène étudié.

– L'effet sur la faune du sol

La toxine *Bt* présente dans le sol peut avoir deux origines principales : la décomposition des résidus de plantes transgéniques et les exsudats racinaires de ces plantes (Saxena *et al*., 1999). Il y a aussi une présence naturelle, puisque *Bacillus turingiensis* fait normalement partie de la flore bactérienne du sol. Les tiges de maïs restant après la récolte du maïs, on peut s'interroger sur le devenir de cette toxine. Il s'agit d'une protéine qui se dégrade facilement sous l'effet des rayonnements ultra-violets (durée de demi-vie, environ 48 h à l'air libre), donc à maturité, dans les feuilles, voire les tiges, desséchées, elle est en grande partie dégradée. Les quantités issues des parties aériennes dans le sol seront ainsi très faibles. De plus elles seront plus ou moins dégradées par la flore microbienne. Les quantités exsudées par les racines pendant la végétation ne sont pas connues, mais il s'agit encore de faibles quantités. Dans le sol, comme pour beaucoup de protéines, il se forme des complexes particuliers avec les colloïdes qui peuvent prolonger la durée de demi-vie de la toxine, de quelques jours à 40 jours, voire plus, selon les types de sols (voir p. 171). C'est dans les sols argileux qu'elle se conserve le plus longtemps. Ce sont les complexes argile-toxine formés qui ont un effet insecticide, la toxine étant sans doute libérée dans l'intestin des larves qui absorbent ces complexes. Ils restent dans le sol, où ils finissent par perdre leur effet ; ils ne sont pas absorbés par les plantes (Koskella et Stotzky, 1997 ; Saxena et Stotzky, 1998, 2001). De la toxine *Bt* a bien été retrouvée dans l'intestin des vers de terre, mais sans effet toxique : là où a été cultivé du maïs *Bt*, on n'observe pas moins de vers de terre, de nématodes et autres éléments de la faune du sol (références *in* Conner *et al*., 2003). Ainsi, avec des cultures de maïs transgénique *Cry3Bb*, résistant à la chrysomèle, Devare *et al*. (2004) n'ont observé aucun effet sur l'activité microbienne et sur la composition de la population de bactéries du sol. La toxine *Bt* présente dans le sol a bien potentiellement un effet toxique sur les larves d'insectes sensibles, comme les larves de lépidoptères ; son accumulation dans le sol pourrait contribuer à augmenter la pression de sélection sur les populations d'insectes cibles, mais son importance pratique n'a pas encore été bien démontrée. Les effets toxiques sur la faune du sol sont toutefois attendus bien plus faibles que ceux provoqués par l'utilisation massive d'insecticides non

sélectifs comme par exemple dans la culture du cotonnier pour laquelle de nombreux traitements insecticides sont utilisés (Xia *et al*., 1999). Le bilan global au niveau de la faune est ainsi en faveur des plantes résistantes aux insectes.

Les risques d'échanges d'ADN entre variétés transgéniques et bactéries (transfert horizontal)

Le problème des risques d'échange d'ADN entre plantes transgéniques et bactéries s'est posé avec l'utilisation d'un marqueur bactérien de clonage entraînant la résistance à l'ampicilline (marqueur *bla* de Novartis). Ce marqueur aurait pu s'intégrer dans le génome des bactéries, en particulier chez les bactéries de l'intestin et ainsi augmenter la fréquence des bactéries résistantes à cet antibiotique, compromettant alors son utilisation (Courvalin, 1998). Avec les techniques de transformation aujourd'hui utilisées (voir chap. 3), le risque de transfert du marqueur de clonage n'existe plus puisque ce marqueur n'est pas intégré dans le génome. La résistance aux antibiotiques peut aussi être utilisée comme marqueur de sélection, avec un promoteur eucaryote. C'est pour cette situation que peut se poser le risque de la transmission du transgène de la plante aux bactéries. On peut aussi envisager la probabilité de transmission de n'importe quel gène ou transgène de la plante.

La transgression de la barrière entre plantes et bactéries a été observée, en conditions naturelles, seulement dans le sens bactérie-plante, dans le cas particulier d'*Agrobacterium*. Plusieurs éléments permettent de supposer que le transfert en sens inverse est en théorie possible. En effet, il aurait participé à l'évolution des bactéries : des comparaisons de séquences de gènes de végétaux, de gènes de bactéries montrent que certains gènes bactériens sont vraisemblablement d'origine végétale tel que le gène de la glucose-6-phosphate isomérase qui serait passé de *Clarkia ungulata* (Onagracées) à la bactérie *Escherichia coli* (Smith *et al*., 1992). En outre, la transformation de bactéries compétentes par de l'ADN libre a été mise en évidence, dans des conditions très particulières. Ce transfert pourrait se réaliser au niveau du sol, mais aussi au niveau de la panse des ruminants qui consommeraient des plantes transgéniques et bien sûr au niveau de l'intestin chez l'homme. Pour qu'il y ait risque, cinq conditions doivent être remplies :
– conservation du fragment transgénique ;
– homologie de sa séquence avec celle de l'ADN bactérien ;
– présence de bactéries transformables ;
– expression du gène ;
– avantage sélectif du gène transféré.

L'ADN est plus ou moins dégradé dans le sol ; au cours de la digestion, il est dégradé en fragments de l'ordre de 100 à 600 bp, plus petits qu'un gène bactérien comprenant au moins 1 000 bp. La probabilité de conservation du gène intact est donc faible et la probabilité de reconstitution du gène est extrêmement faible ; avec un promoteur eucaryote, et des introns, la probabilité est encore plus faible (Nesme et Simonet, 1997). De plus, ces milieux (sol, tube digestif) ne constituent pas des milieux favorables à la transformation. Même dans des conditions optimales et avec des bactéries naturellement compétentes (qui sont rares parmi toutes les espèces de bactéries), la probabilité de transfert est très faible. L'ADN végétal pourrait pénétrer dans la bactérie avec une probabilité d e10^{-5} et l'intégration dans son génome d'une

séquence d'ADN hétérologue pourrait se produire avec une probabilité d e10^{-8}. Dans une expérience (Potrykus *et al*., 1995) la probabilité du transfert a été estimée égale à 10^{-17}, dans des conditions artificielles (100 t de pomme de terre transgénique avec de l'ADN fragmenté, mais avec un gène marqueur intact). Une fois transféré, si le gène est sous contrôle d'un promoteur bactérien, il pourra alors s'exprimer ; si le gène est sous le contrôle d'un promoteur eucaryote, la probabilité d'expression devient faible (il existe toutefois des promoteurs qui fonctionnent à la fois chez les bactéries et chez les plantes).

Pour que la bactérie transformée (avec un gène qui peut s'exprimer) se répande il faut qu'elle ait un avantage sélectif, ce qui n'est pas le cas dans le sol pour un marqueur de résistance aux antibiotiques. En revanche, avec ce type de marqueurs, si celui-ci s'intègre dans le génome des bactéries de l'intestin de l'homme, même avec une probabilité très faible, il peut conférer un avantage aux bactéries qui le porteront ; la conséquence en serait une diminution de l'efficacité de cet antibiotique dans le traitement de maladies. Quels étaient les risques de ce transfert très hypothétique ? Dans le cas de la résistance aux antibiotiques utilisés (résistance à l'ampicilline et à la kanamycine, deux antibiotiques faibles qui n'étaient plus beaucoup utilisés), de nombreuses souches de bactéries ont acquis la résistance, bien avant l'arrivée des plantes transgéniques, simplement par l'utilisation des antibiotiques comme médicament, tant pour l'homme que pour l'animal (50 % des bactéries de l'intestin sont résistantes à l'ampicilline, antibiotique faible, Berche, 2000). On peut ainsi s'interroger sur le risque réel qui était pris avec l'utilisation des marqueurs « résistance aux antibiotiques ». En cas de transfert, événement de probabilité très faible, l'incidence pratique aurait été quasiment nulle. Aujourd'hui, le problème ne se pose plus par l'utilisation de constructions génétiques qui permettent non seulement d'éviter l'intégration du marqueur de clonage mais aussi d'éliminer le marqueur de sélection (voir chapitre 3). Le risque posé par la présence de marqueurs résistance aux antibiotiques peut donc être évité. La CGB n'accepte d'ailleurs plus les constructions avec ce type de marqueurs, et la CE les a interdites en 2005. À souligner que dès le début des études des variétés transgéniques en vue de leur commercialisation en France, la CGB, pour ne prendre aucun risque, avait refusé une variété transgénique contenant un gène de résistance à l'amikacine, un antibiotique encore utilisé en médecine.

Avec la transgénèse au niveau du génome nucléaire, dans les conditions naturelles, il n'a jamais été montré un passage dans le sens plantes vers bactéries, au niveau du sol, comme à l'intérieur des plantes. Avec la transplastomique (transformation au niveau du génome chloroplastique), le risque d'échange de gènes entre la plante et une bactérie présente dans la plante serait plus grand, compte tenu de l'origine procaryotique du chloroplaste. Ainsi, Kay *et al*. (2002) ont montré un transfert horizontal, *in planta*, d'un marqueur de résistance aux antibiotiques d'un tabac transplastomique à une bactérie « opportuniste » du sol, *Acinetobacter*, qui pénètre dans la plante avec une autre bactérie infectieuse pour la plante, *Ralstonia solanacearum*. Cependant ce transfert, observé avec la probabilité de $1{,}7.10^{-5}$, n'a eu lieu que dans des conditions particulières, « optimales » et artificielles, dans lesquelles le génome de la bactérie était modifié par l'introduction de deux séquences géniques se retrouvant aussi chez la plante. Sans ces séquences homologues chez la bactérie, aucune recombinaison entre les deux génomes n'a eu lieu. Il semble qu'il existe une véritable barrière entre les deux génomes.

Encadré 5.1. Quantité de toxine produite par une variété transgénique de maïs *Bt*

Les travaux de Fearing *et al*. (1997) avec l'événement *Bt176* montrent que la quantité de toxine présente dans la plante passe par un maximum à la floraison. Elle est alors de 5 à 10 g/ha (avec 62 500 plantes/ha). À maturité, les quantités présentes sont 10 à 20 fois plus faibles qu'à la floraison soit environ 0,5 g/ha. Cela tient au fait qu'avec la sénescence la toxine, comme toutes les autres protéines des parties végétatives, est de moins en moins synthétisée et se dégrade naturellement au cours du temps sous l'action de protéases. Cependant, ces chiffres peuvent varier fortement d'un événement de transformation à un autre (études EPA, Felsot, 2000). Les résultats publiés montrent à la floraison, une quantité de toxine allant d e5 à 50 g/ha voire 100 g/ha (*Bt176* serait donc l'un des événements à p lus faible teneur en toxine).

Il est intéressant de comparer ces quantités à celles apportées par un traitement avec des granulés *Bt*. Un traitement avec des granulés *Bt* correspond à environ 20 à 100 g de toxine par ha (Fearing *et al*., 1997 ; Felsot, 2000). Les plantes *Bt*, au moment où elles contiennent le plus de toxines, peuvent donc représenter de l'ordre de ce qui est apporté avec les granulés (avec des variations assez importantes selon les années, les variétés, l'événement). Pour calculer les quantités totales synthétisées par la plante, il faudrait connaître la vitesse de renouvellement de cette protéine, donc la durée de vie de cette protéine *in planta*.

À la récolte il peut rester de 0,5 à 2,5 g/ha de toxine, soit plus d e10 à 40 fois moins que ce qui est apporté par un traitement insecticide *Bt*. Cependant, sans être enfouie, cette protéine est très vite dégradée (à l'air libre, la durée de vie active est d'environ 48 h). En sols sableux la durée de demi-vie de la protéine est de quelques jours (2,4 jours pour la toxine *Cry3Bb* selon l'EPA) (Felsot, 2000).

Une façon de limiter la quantité de toxine produite serait que le gène ne s'exprime qu'en cas d'attaque : ainsi les plantes et les cultures non attaquées ne produiraient pas de toxine. Cela apparaît aujourd'hui possible par le choix d'un promoteur adapté.

Toxicité pour l'environnement

Risque de pollution du sol

Les variétés transgéniques résistantes aux insectes produisent une toxine qui reste en partie sur le sol dans les résidus de plantes après la récolte. Ainsi est-il souvent souligné qu'avec le maïs *Bt* on répand dans la nature une grande quantité de toxine (voir encadré 5.1) ; en fait même si la plante en produit beaucoup au cours de sa vie, la partie qui retourne au sol via les résidus végétaux est faible. Il s'y ajoute toutefois les quantités de toxine exsudées par les racines (quantités faibles, mais non encore chiffrées). Cette toxine, comme nous l'avons déjà vu (p. 168), pourrait avoir des effets négatifs sur une partie de la faune du sol spécifiquement sensible. Il s'agit d'une protéine facilement détruite hors de la plante, à l'air libre, sous l'action des UV. Dans le sol, en sols sableux, la durée de demi-vie (DT50) de la toxine *Bt* est courte : 2,37 jours pour la toxine codée par le gène *Cry3Bb* utilisé pour la résistance à la chrysomèle du maïs. Dans les sols argileux, il peut se former des *bound toxins* avec l'argile qui conservent un effet insecticide assez longtemps — de 140 à plus de 200 jours (Palm *et al*., 1996 ; Tapp et Stotzky, 1998, *in* Groot et Dicke, 2002) ;

demi-vie de 30-40 jours (Conner *et al*., 2003). Ces *bound toxins* ne sont pas absorbées par les plantes (Saxena et Stotzky, 1998). Aucun effet toxique sur la faune non cible et la flore du sol (bactéries, champignons, protozoaires, nématodes, vers de terre) n'a pu être montré (voir p. 168).

L'exsudation de la toxine *Bt* par les plantes illustre sans doute un phénomène assez général (Saxena *et al*., 1999). Le problème est de savoir si toute protéine synthétisée par la plante peut être exsudée au niveau de ses racines et en quelle quantité. En effet, il faut sans doute éviter de rejeter dans le sol des protéines recombinantes comme des anticorps ou des vaccins qui seraient produits par des plantes transformées. Pour limiter cela, l'enfouissement des parties aériennes ne devrait pas avoir lieu avant que la protéine soit dégradée (si elle est présente dans les parties qui restent sur le terrain). Mais, il sera difficile d'éviter une certaine pollution par les exsudats racinaires et d'autant plus que la protéine en cause pourra être conservée plus ou moins longtemps selon le mécanisme mis en évidence pour la toxine *Bt* (formation de complexe argile-protéine).

Sur le plan de la biologie des sols, des études (Kremer, 2003) semblent montrer une augmentation de la population d'un champignon du sol, un *Fusarium*, après une application de glyphosate. La généralisation de l'utilisation du glyphosate comme désherbant pourrait donc augmenter les risques associés au développement du *Fusarium*, un champignon qui peut s'attaquer aux racines. Un syndrome de mort subite des plantes de soja RR a effectivement été observé. Cependant, une étude sur plusieurs génotypes n'a pas montré d'effet général du traitement au glyphosate sur l'expression de la maladie (Njiti *et al*., 2003). En fait, il apparaît que la résistance au glyphosate, aurait été introduite dans des génotypes plus sensibles à la mort subite, mais il est tout à fait possible d'avoir des génotypes RR résistants à cette maladie.

Risque de pollution des nappes phréatiques, cas des variétés résistantes aux herbicides

Les molécules d'herbicides totaux associées avec les variétés transgéniques résistantes aux herbicides sont employées à bien plus faible dose que les herbicides classiques. Comme elles sont de faible mobilité et bio-dégradables, elles présentent en principe moins de risques pour l'environnement. Cependant, la plus grande solubilité du glyphosate et sa stabilité en milieu aqueux doivent conduire à prendre des précautions, même si la probabilité de pollution est bien plus faible qu'avec l'atrazine. La généralisation de l'utilisation d'une molécule comme unique désherbant pourrait entraîner une augmentation de la teneur des eaux en cette molécule. L'interdiction de l'usage de la molécule au voisinage des milieux aquatiques serait une précaution (recommandation déjà faite au ministère de l'Agriculture par la CGB).

Risques pour la biodiversité

Du point de vue de la biodiversité, nous avons déjà vu trois types de risques (voir p. 156) :
– la création d'une plante transgénique invasive ;
– la modification de la composition de la flore sauvage par incorporation du transgène dans le génome de certaines espèces apparentées aux variétés transgéniques ;

– la modification de la composition de la faune, comme conséquence de la culture de variétés transgéniques résistantes aux insectes et aussi comme conséquence de la modification de la flore.

Les risques de prolifération d'une plante cultivée transgénique (type céréales à paille et maïs) sont sans doute très faibles, car ils nécessitent des modifications importantes des caractères de la plante pour qu'elle vive à l'état sauvage et soit très compétitive à l'égard des autres plantes sauvages. Le risque de voir la composition floristique évoluer, suite à l'intégration du transgène dans le génome de plantes sauvages est sans aucun doute plus sérieux ; encore faut-il que le transgène ait un avantage sélectif et qu'il apporte un caractère qui n'existait pas avant : en effet, les échanges entre plantes sauvages et plantes cultivées existent depuis longtemps sans qu'aucun problème n'ait été posé.

Les équilibres des populations d'insectes pourraient être affectés par le développement des variétés transgéniques résistantes aux insectes de deux façons, soit directement par la sélection d'insectes résistants, soit par transfert de la résistance aux insectes chez les plantes sauvages. Mais, là encore, il n'est pas évident que ces risques d'effets sur la faune soient plus importants qu'avec le transfert de gènes des variétés non transgéniques. De plus, il faut comparer ces risques à la situation avec l'utilisation d'insecticides qui détruisent toute la faune ; le bilan pour la faune est alors sans aucun doute en faveur des variétés transgéniques résistantes aux insectes.

L'effet des variétés transgéniques sur les populations bactériennes de la rhizosphère

Une expérience réalisée sur le lotier corniculé (Oger *et al*., 1997) a montré que la population de bactéries dans la rhizosphère d'une plante transgénique synthétisant des opines (substance aminocarbonée utilisée par certaines bactéries, comme *Agrobacterium*) était différente de celle observée pour des plantes non transgéniques : les bactéries utilisatrices d'opines étaient plus nombreuses. Ce résultat s'explique bien par les phénomènes d'exsudation de sucs au niveau des racines. Toute plante exsude certaines substances, en très faible quantité, selon son génotype. Ainsi une plante *Bt* exsude des traces de toxine *Bt*. Cependant, des résultats contradictoires ont été obtenus quant à l'effet des exsudats d'une plante *Bt* sur la flore microbienne (Conner *et al.*, 2003). La conséquence de ces études est que l'impact d'une plante transgénique devrait être évalué au niveau des populations bactériennes. Toutefois, si l'on étudie la composition des populations bactériennes de la rhizosphère en fonction du génotype de variétés non transgéniques, il est prévisible que selon les caractères de ces variétés, un effet sera trouvé. Des études sont donc à réaliser pour savoir quel « poids » donner à l'effet observé avec une plante transgénique en fonction des protéines exsudées. Ces effets, s'ils présentaient des risques, devraient pouvoir être résolus par la rotation des cultures : cela fait partie des arguments très anciens contre la monoculture.

L'effet de la culture de variétés transgéniques résistantes aux herbicides sur la faune du champ cultivé

Un exemple d'effet sur la faune attribué aux variétés transgéniques doit être évoqué, au moins pour montrer les problèmes de diffusion de l'information. À

partir d'une expérience réalisée en Angleterre, l'information reprise par les médias laissait croire qu'il y avait un effet soi-disant défavorable des variétés transgéniques résistantes aux herbicides sur la faune associée à une culture. Il est vrai que, dans cette expérience, la faune était plus importante avec les cultures témoins non transgéniques, mal désherbées, qu'avec les cultures de variétés transgéniques bien désherbées (Firbank et Forcella, 2000). Mais il s'agit d'une confusion d'effets faite par les médias et qui, pourtant, n'a pas été faite par les auteurs (Firbank, 2004). Il est évident que la faune est plus importante en présence de mauvaises herbes qu'en leur absence. Avec une culture non transgénique, un binage mécanique bien réussi aurait donné exactement le même résultat qu'avec la culture de la variété transgénique résistante aux herbicides désherbée avec l'herbicide associé. L'effet sur la faune n'a donc rien à voir avec un effet du transgène. En fait l'étude montre que plus une technique permet une culture propre, plus elle a un effet négatif sur la population d'insectes qui se développent sur les mauvaises herbes et plus le rendement croît. Néanmoins, avec des variétés transgéniques résistantes aux herbicides le désherbage devrait être réussi avec plus de régularité que dans le cas du binage ou d'une autre forme de désherbage : cela aura donc en moyenne un certain effet sur les populations de plantes adventices (mauvaises herbes) dans les champs cultivés et donc sans doute un effet sur la faune. Mais, quel en est l'impact ? Remarquons que sans les plantes transgéniques ce point n'aurait pas été soulevé alors qu'il aurait pu l'être, puisque le « risque » d'un désherbage réussi existe depuis longtemps, et c'est même ce qui est souhaité par un agriculteur !

Existe-t-il un risque pour la biodiversité ? Oui, dans certains cas, le risque peut exister. Il faut donc être vigilant, mais il faut se garder de généraliser. La transgénèse en elle-même n'est pas un facteur de diminution de la variabilité génétique, elle crée même une nouvelle variabilité, et contribue à augmenter la biodiversité. En fait, la biodiversité diminue régulièrement depuis que l'homme est devenu agriculteur au Néolithique. Cela a commencé avec la domestication des espèces, avec une forte réduction du nombre d'espèces dans le champ de l'agriculteur, réduction qui s'est poursuivie jusqu'aux débuts de la sélection. Ainsi 50 % des ressources alimentaires mondiales sont données par quatre espèces seulement (blé, maïs, riz, pomme de terre) et 66 % par quinze espèces. Les plantes transgéniques ne sont pour rien dans cette situation. La cause principale de perte de biodiversité a été et est encore la mise en culture, c'est-à-dire la destruction des habitats naturels. La deuxième cause est le développement d'espèces exotiques dites « invasives », suite aux échanges entre pays (Muller, 2004a,b). L'impact de la transgénèse sur cette diminution de la diversité des espèces végétales est actuellement nul. Il est clair qu'avec ou sans transgénèse, l'homme doit se préoccuper de cette diminution et mettre en place des systèmes permettant de conserver la diversité le plus longtemps possible. De ce point de vue, certaines variétés transgéniques, comme les variétés transgéniques résistantes aux insectes, seraient même favorables à la biodiversité en limitant l'utilisation d'insecticides détruisant de nombreux insectes non cibles et affectant aussi les populations d'oiseaux (Paoletti et Pimentel, 2000). En revanche, il pourrait y avoir un impact de la transgénèse sur la diversité des variétés cultivées, par un effet indirect sur la concentration des entreprises qui produiraient un nombre réduit de variétés transgéniques (voir p. 185). Par ce

mécanisme, le nombre d'espèces cultivées pourrait même encore diminuer (Ricroch, 1998).

Conclusion

Vus de façon globale, les risques pour l'environnement avec l'utilisation de plantes transgéniques peuvent exister, mais ils dépendent :
– de l'espèce cultivée,
– du transgène utilisé,
– de l'agrosystème.

Un paramètre important à considérer est l'avantage sélectif du transgène, qui devrait être connu pour chaque cas, chaque espèce, chaque transgène et événement de transformation, et chaque agrosystème. *Il faut donc raisonner au cas par cas*. Pour cela il faut avoir le maximum d'informations sur le transgène, sa nature et son mode d'action.

Les transferts horizontaux des plantes vers les bactéries sont peu probables. De plus comme ils se posent surtout au sujet du risque de transmission des résistances aux antibiotiques utilisés comme marqueurs des transgènes, ce problème devrait disparaître avec de nouvelles constructions génétiques sans ce gène marqueur.

Le risque le plus réel est celui du transfert du transgène aux espèces apparentées ainsi qu'aux cultures avec des variétés conventionnelles de la même espèce. La probabilité du transfert dépend de l'espèce ou de la variété et de la région de culture. L'événement est loin de concerner toutes les espèces cultivées. Quant à la dangerosité, elle dépend du transgène. Les exemples, qui font le plus parler d'eux aujourd'hui, ne sont sans doute pas ceux qui se développeront demain.

⏩ Les risques pour la santé

Les risques sanitaires identifiés par la consommation d'aliments issus de plantes transgéniques sont le risque d'allergie, le risque de toxicité et le risque de développement d'une résistance à certains antibiotiques.

Le risque allergénique

De façon complètement indépendante du développement des plantes transgéniques, les allergies d'origine alimentaire sont en progression ; elles affectent aujourd'hui 3 à 5 % de la population française. Elles existent dans tous les pays développés, avec une moyenne générale de 3 à 4 % pour la population adulte et de 8 % chez les enfants de moins de 6 ans. La majorité des allergies identifiées est provoquée par des aliments : céleri, fraises, kiwi, cacahuète, gluten, soja, noix du Brésil, fruits à coques, lait, œuf, poisson, crustacé et blé. Le caractère allergène dépend de certaines protéines et des personnes, et il est encore difficile à prédire. Une partie des réponses allergiques peuvent être prévues d'après les propriétés des protéines : les protéines allergènes sont de masse moléculaire comprise entre 10 et

70 kDa, elles sont stables à la chaleur, aux pH acides et aux protéases, elles sont souvent glycosylées, avec des séquences particulières d'acides aminés. Une difficulté de plus, l'allergie ne peut pas être testée seulement sur animaux (rats), car il n'y a pas de relation simple entre leurs réactions et celles de l'homme.

Le risque allergénique peut être accru, en cas de transgénèse, par deux facteurs :
– les transgènes peuvent coder pour des allergènes non présents dans la plante initiale ;
– les transgènes peuvent produire des protéines activant des allergènes contenus dans les plantes.

L'identification de ces types de risques ne porte que sur des transgénèses simples avec le transfert d'un seul gène ou, au plus, deux à l'heure actuelle. Dans ce cadre, les risques peuvent probablement être maîtrisés même si le risque allergénique est d'une grande complexité d'analyse. Cependant si, dans les années à venir, se développent des variétés transgéniques impliquant un nombre plus grand de transgènes, ce contrôle deviendrait beaucoup plus difficile.

Un seul exemple d'allergie d'une plante transgénique peut être cité : il s'agit celui du soja transformé avec un gène de la noix du Brésil. Il y a aussi le cas du maïs StarLink®, mais son caractère allergène, comme nous le verrons n'a pas été clairement démontré.

Le soja transformé avec un gène de la noix du Brésil

Le gène de l'albumine 2S (riche en méthionine et lysine) de la noix du Brésil a été introduit dans le soja dans le but d'augmenter la teneur en lysine et méthionine des tourteaux entrant dans la fabrication d'aliments pour animaux monogastriques (porcins, volailles) (Nordlee *et al*., 1996). L'albumine 2S était déjà connue comme un allergène majeur de la noix du Brésil. Le résultat a été l'obtention d'un soja très allergène. Il n'a d'ailleurs pas été commercialisé, il s'agissait seulement d'une expérience de laboratoire. Ce résultat tend à montrer qu'une protéine allergène produite par une espèce, conserve ses propriétés d'allergénicité lorsqu'elle est produite par une autre espèce. Cependant, l'étud ea aussi révélé qu'une modification du métabolisme de la protéine précurseur de l'albumine 2S codé par le transgène conduisait à l'accumulation d'un allergène mineur, quasi inexistant dans la noix du Brésil. Cela montre que l'allergénicité des plantes transgéniques doit être évaluée non seulement pour les allergènes majeurs mais aussi pour les allergènes mineurs si la source d'origine du gène est elle-même allergénique.

Le maïs StarLink®

StarLink® est la marque commerciale d'une variété transgénique résistante aux insectes de maïs mise au point par Aventis, avec le gène *Bt* produisant la protéine *Cry9c*. Suite à un doute sur l'allergénicité possible émis par l'EPA (la protéine *Cry9c* n'étant pas dégradée par la chaleur, ni par les enzymes digestives), la variété transgénique StarLink® était autorisée en 1998 seulement pour des usages non alimentaires, en industrie ou en alimentation animale. Cependant en septembre 2000, de l'ADN du transgène utilisé dans StarLink® a été trouvé d'abord dans des tortillas (taco shells de *Kraft Foods*) puis dans d'autres produits alimentaires, corn flakes… Ces produits ont alors été retirés du commerce ainsi que le maïs StarLink®.

Cependant, il n'est toujours pas connu avec clarté si la protéine *Cry9* est allergénique ; elle en a certaines caractéristiques : résistance à la chaleur, digestion lente (que n'ont pas les autres protéines *Cry*) et serait en fait faiblement allergénique. D'ailleurs, aucun cas avéré d'allergie n'a été reporté. Cette affaire de la variété transgénique StarLink® pose donc surtout le problème de l'efficacité des mesures réglementaires et de contrôle, et la difficulté de faire coexister deux filières, l'une OGM, l'autre non-OGM. Il montre l'inefficacité du système américain de l'époque et n'a pas contribué à renforcer la confiance du consommateur dans les produits dits non-OGM. Une leçon tirée par l'EPA est que l'utilisation pour l'alimentation animale de plantes comme le maïs (aussi consommées par l'homme) ne sera approuvée que si elle est également approuvée pour l'homme (Taylor et Tick, 2001).

Ces deux exemples sont intéressants, car dans les deux cas les risques d'allergie pour l'homme étaient connus ou supposés. La question qui se pose est de savoir si les variétés transgéniques peuvent entraîner plus de risques d'allergie que les plantes conventionnelles. En fait, rien ne permet de le penser. Il faut bien évidemment ne pas développer des variétés transgéniques avec des gènes codant pour des séquences allergènes. De plus, les tests d'allergie exigés par la CGB et conduits par l'Afssa devraient limiter les risques (voir chap. 6).

À noter que la transgénèse peut être utilisée pour supprimer les propriétés allergéniques de certains aliments (comme l'allergie au gluten, voir chap. 4).

Le risque de toxicité

Les dangers objectifs concernant la sécurité alimentaire des aliments dérivant de plantes génétiquement modifiées pourraient avoir trois origines (Afssa) :
– un effet direct du transgène, qui peut synthétiser une protéine induisant des effets toxiques ou allergéniques ;
– des interactions métaboliques qui peuvent faire apparaître, et éventuellement accumuler des métabolites pouvant être toxiques (effets indirects du transgène) ;
– l'extinction de gènes ou l'expression de séquences qui ne s'exprimaient pas avant la transformation, ce qui peut engendrer des effets inattendus, avec des productions de substances toxiques. Il faudra ainsi être très vigilant chez les plantes qui sont connues pour produire des substances toxiques, comme chez les solanacées : la tomate et la pomme de terre produisent des alcaloïdes toxiques (solanine, chaconine…) qui, en conditions normales, ne s'accumulent pas en quantités importantes dans le fruit ou le tubercule. Toutefois, même avec les variétés non transgéniques, il faut être prudent. Ainsi pour la pomme de terre, les teneurs en glycoalcaloïdes doivent être inférieures à 200 mg/kg de poids de matière fraîche.

Nous allons analyser trois exemples souvent cités comme des exemples de risques pour la santé liés à la consommation d'aliments issus de plantes transgéniques.

Les métabolites secondaires de la résistance aux herbicides

Tout herbicide pénètre dans la plante sur lequel il est répandu. Une plante résistante est une plante, qui par l'intervention de divers systèmes enzymatiques, absents chez les plantes sensibles, métabolisera la molécule herbicide. Le problème posé

par les variétés transgéniques résistantes aux herbicides n'est donc pas nouveau et se pose pour tous les herbicides sélectifs jusque là très utilisés. Dans le cas du soja RR la dégradation du glyphosate produit l'acide aminométhylphosphinique qui, étant très peu dégradé (à cause d'une liaison carbone-phosphore que les plantes sont incapables de rompre), peut s'accumuler dans les lipides de la plante (dans les phospholipides). Les acides aminophosphoniques ne semblent toutefois pas toxiques pour le rat et l'homme chez lesquels ils s'incorporent dans des lipides du foie. Ainsi, selon Hammond *et al*. (1996) la résistance au glyphosate n'affecte pas la valeur alimentaire du soja mesurée avec des rats, des poulets, des poissons-chats et des vaches laitières. De plus, chez le cotonnier, il a été montré que les graines de variétés résistantes aux herbicides ont exactement la même composition en acides aminés, acides gras et métabolites divers que les graines de variétés non résistantes aux herbicides. Cependant des études complémentaires sont encore nécessaires et ceci est d'autant plus justifié que le glyphosate s'accumule davantage dans certains organes consommés par l'homme, comme les tubercules, les racines et les fruits.

Pour le glufosinate, la dégradation produit un métabolite non dégradable par les plantes, qu'elles sont incapables d'éliminer.

Avec les deux types de molécules, il faut alors s'assurer que l'herbicide et ses dérivés ne se sont pas accumulés dans les organes destinés à la consommation ou, s'ils le sont, ils ne doivent pas être toxiques. Ce problème n'est pas nouveau, il se pose pour tout herbicide sélectif. Cependant, aujourd'hui, la situation est telle que les résistances « intraspécifiques » au glyphosate, si elles sont utilisées dans la création variétale conventionnelle, ne feront pas l'objet d'études particulières, alors que s'il existe un risque, il est forcément le même avec les deux types de plantes, transgéniques ou non.

L'affaire Pusztai et l'effet toxique des plantes transgéniques

Un transgène a été incorporé dans le génome de la pomme de terre pour lui apporter la résistance aux insectes et aux nématodes. Ce transgène, issu du perce-neige, code pour une protéine, une lectine à effet insecticide, la *Galanthus nivalis* agglutinine ou GNA. Il avait été choisi car des tests préliminaires sur des rats avaient montré des effets très faibles de cette lectine sur leur croissance (les lectines étant déjà connues pour leurs effets défavorables sur les mammifères). En 1998, le chercheur écossais Pusztai déclarait à des journalistes avoir montré que des rats alimentés avec des pommes de terre transgéniques souffraient d'un retard de croissance général et avec un système immunitaire déficient. Ses travaux semblaient montrer que l'expression du transgène entraînait une croissance anormale de l'estomac, avec les mêmes symptômes que ceux obtenus par addition de GNA dans la ration. De plus, en dehors de l'effet dû à la production de GNA, un effet spécifique (stimulation de la croissance du jéjunum) associé au transgène était observé. Cet effet pourrait être dû à la construction ou à un effet de position de l'insertion. Les résultats ont été publiés dans une revue scientifique *The Lancet* (Ewen et Pusztai, 1999), mais avec des commentaires de réserve sur l'article, ce qui est inhabituel. Plusieurs expériences supplémentaires avec du matériel végétal bien défini et des nombres suffisants d'animaux auraient dû être réalisées pour valider les résultats annoncés un peu prématurément. De plus, il ne serait pas anormal d'observer des effets défavorables, les lectines étant déjà

connues pour être plus ou moins toxiques chez les mammifères. En fait, Pusztai a été débordé par les réactions anti-OGM, il n'a pas pu être maître de la situation. Finalement, il a été suspendu de ses fonctions. Cela n'a pas empêché que cette expérience soit considérée comme démontrant des risques pour la santé des plantes génétiquement modifiées, alors que son but initial était bien d'étudier l'effet des lectines chez les mammifères et qu'aucune variété transgénique commerciale avec ce type de transgène n'a été développée (*in Geo-Pie Project*, 2004). Il est regrettable que le débat scientifique serein n'ait pas eu lieu.

La valeur alimentaire des plantes *Bt*

En ce qui concerne la toxine *Bt*, des expériences de l'EPA (États-Unis) montrent que des rats nourris à très fortes doses de cette toxine purifiée n'ont présenté aucun trouble (Felsot, 2000). De même, les travaux de Barrière *et al*. (2001) ne révèlent pas d'effet de la présence du transgène *Bt* (événement *Bt176*) sur la valeur alimentaire (en particulier sur la digestibilité) d'ensilages de maïs mesurée chez des moutons et des vaches laitières. Sur le pois, une étude de Pusztai *et al*. (1999) montre que la présence d'un transgène « insecticide » codant pour un inhibiteur d'amylase, et utilisable dans la lutte contre les bruches, n'a aucun effet sur la croissance de rats nourris avec une ration à 30 % de pois transgéniques.

À ce jour, aucune expérience au monde n'a montré d'effets négatifs des transgènes autorisés (résistance aux insectes et aux herbicides) sur la valeur alimentaire et la croissance mesurées sur différents types d'animaux. Si des effets négatifs peuvent exister, hormis certains risques d'allergies assez difficiles à prévoir avec certitude, avec le système d'étude des risques mis en place par la France (sous l'autorité de l'Afssa), ils seraient détectés avant que l'autorisation de commercialisation soit donnée (voir chap. 6).

Le cas des variétés transgéniques pharmaceutiques

Des expériences de plus en plus nombreuses sont réalisées pour faire produire des substances pharmaceutiques aux plantes (voir tabl. 4.3). En effet, nous avons vu que la production en fermenteurs, en milieu confiné, est coûteuse, avec un manque de souplesse et un risque sanitaire non négligeable (chap. 4). Malgré leur utilité pour la médecine, ces productions expérimentales en France n'ont pas échappé aux campagnes de destruction des essais de variétés transgéniques, au nom du risque de flux de gènes (exemple en 2003, à Mollans, destruction de l'essai de maïs produisant la lipase gastrique). Il est vrai que s'il y a flux de gènes (par le pollen ou les graines), cela pourrait se traduire par une absorption involontaire de médicaments (par la consommation de grains) avec des effets défavorables sur la santé si les protéines pharmaceutiques sont accumulées dans le grain. Dans le cas de la lipase gastrique, les calculs montrent toutefois que les risques de toxicité sont nuls (voir encadré 5.2). Pour éviter le flux de pollen les mesures générales présentées peuvent alors être mises en œuvre :

a) si la substance peut être accumulée dans les parties végétatives : dans ce cas si la récolte a lieu avant pollinisation, aucun flux de transgènes n'aura lieu. Sinon,
– le transgène peut être placé sous le contrôle d'un promoteur qui ne s'exprime que dans les parties végétatives ; il n'y aurait donc aucun effet direct sur la qualité des graines d'une culture conventionnelle pollinisée par une variété transgénique. En revanche, si les grains issus de cette pollinisation sont semés, alors le transgène

Encadré 5.2. Calcul de la quantité de lipase gastrique ingérée par consommation de maïs produisant de la lipase gastrique (d'après H. Feyt, communication personnelle)

La teneur en lipase gastrique d'un grain de maïs transformé peut être estimée à 0,02 % (1 kg pour 5 000 kg de grains). Prenons un repas avec 200 g de maïs, ce qui sera très rare pour un européen (un mexicain, le plus gros mangeur de maïs au monde, ne consomme que 360 g/jour). Si donc nous consommons 100 % de maïs « lipase », cela ferait une ingestion de 40 mg de lipase. Cette quantité est à comparer à ce que notre organisme produit, soit environ 20 mg par repas, avec une variation assez importante de cette quantité. Dans le cas d'une pollution accidentelle de 10 % (très peu probable si les maïs transformés sont mâles-stériles), la quantité ingérée serait de 4 mg, c'est-à-dire au moins 5 fois inférieure à la quantité produite par repas, et inférieure aux écarts de production dus à la fluctuation naturelle. Enfin, des essais cliniques réalisés chez l'homme par Meristem Therapeutics avec une consommation de 3 kg de maïs « lipase », soit 600 mg de lipase par jour pendant 10 jours, n'ont pas entraîné d'effet indésirable sévère. Chez le rat avec 0,5 g de lipase/jour/kg de poids vif pendant 40 jours, aucun effet toxique n'a été constaté, de même que chez le porc, le chien et le singe avec 5 g de lipase/kg de poids vif.

s'exprimera au niveau des parties végétatives ; mais cela ne pourra avoir de conséquences que si les parties végétatives sont consommées ;
– les plantes transgéniques peuvent être génétiquement mâles-stériles puisque l'on sait produire des plantes mâles-stériles à 100 % (voir encadré 4.2) : il n'y aura pas de flux de transgène par le pollen, et si les plantes mâles-stériles ne sont pas fécondées par du pollen extérieur, il n'y aura aucun risque de flux par les semences ;
– la transformation du chloroplaste peut être utilisée, comme pour l'hormone de croissance, ou d'autres protéines pharmaceutiques, sauf les glycoprotéines, à condition qu'il s'agisse bien d'une espèce où la transmission des plastes se fait exclusivement par voie maternelle (voir p. 78).

b) si la substance est accumulée dans les graines :
– la stérilité mâle peut encore être utilisée : le transgène ne sera présent que chez les plantes mâles-stériles ; pour produire à l'échelle commerciale des grains porteurs du transgène, il suffit alors d'utiliser un pollinisateur non transgénique : il n'y aura donc aucun risque de flux de transgènes par le pollen (c'était le cas des maïs produisant la lipase gastrique, pourtant détruits en 2003) ;
– la transformation génétique peut être réalisée chez des espèces non cultivées, n'ayant pas d'espèces sauvages apparentées dans la région de culture. Ainsi, le risque du flux pollinique n'existera pas et les risques de mélange des graines porteuses du transgène avec des graines conventionnelles des espèces traditionnellement cultivées sera très faible.

Cas de la production de L-tryptophane

Le tryptophane, acide aminé indispensable pour la croissance des animaux monogastriques, dont l'homme, est fabriqué industriellement en partie à partir d'une bactérie, *Bacillus amyloliquefaciens*. Une entreprise japonaise a modifié la bactérie pour augmenter le rendement de la production en fermenteurs. Le nouveau produit a été

mis sur le marché aux États-Unis en 1989, mais il a dû être retiré rapidement, car il a été reconnu responsable d'accidents graves, le syndrome de la myalgie éosinophile qui entraîne des désordres neurologiques et auto-immunes chroniques, allant jusqu'à la mort. Il est apparu que cela était probablement dû à une mauvaise filtration, qui avait laissé passer un contaminant responsable de la maladie (Belongia *et al*., 1990). Cet exemple montre que la production en fermenteurs n'est pas sans risque ; il montre aussi un risque qui n'a rien à voir avec le caractère transgénique de la bactérie utilisée.

Risque de développement d'une résistance à certains antibiotiques

En présence d'un marqueur de résistance à un antibiotique, la crainte *a priori* était de voir ce transgène transmis de la variété transgénique aux bactéries de l'intestin de l'homme, ce qui contribuerait à créer des bactéries résistantes aux antibiotiques. Ce point a été traité au niveau des risques de transfert horizontal, des plantes vers les bactéries (voir p. 169). Le risque n'a jamais été clairement démontré, il peut sans doute se produire, mais avec une très faible probabilité ; de toute façon ces marqueurs ne sont plus autorisés par la CGB, et nous avons vu qu'ils peuvent, maintenant, être assez facilement éliminés des plantes transgéniques (p. 75). En France, leur utilisation est maintenant interdite pour des cultures commerciales.

Conclusion

Depuis les premières plantes transgéniques commercialisées aux États-Unis et autorisées à des fins alimentaires pour l'homme, soit depuis dix ans, aucun effet sur la santé n'a pu être attribué à leur utilisation. Des corrélations hypothétiques entre la consommation de produits issus des plantes transgéniques et des problèmes de santé n'ont pas été confirmées. Aujourd'hui, plus d e50 % de la population mondiale consomme des produits issus de variétés transgéniques, ce qui représente un test à grande échelle ; il n'apparaît toujours aucun effet sur la santé. Même s'il ne faut pas se réfugier derrière cet état de choses pour dire qu'aucun risque n'existe, cela signifie au moins que ces risques sont faibles à court terme. Il faut aussi souligner que la mise sur le marché aux États-Unis a fait l'objet d'études approfondies par la FDA *(Food and Drug Administration)* et par l'EPA. Si l'on excepte les résultats de l'étude controversée de Pusztai (1998), les expertises scientifiques n'ont toujours pas identifié de risques sanitaires spécifiques aux variétés transgéniques, mais n'ont pas non plus apporté de preuves d'une innocuité totale (il n'est en effet pas possible d'affirmer une innocuité totale : tout ce que l'homme consomme peut être dangereux pour la santé). En France, avec les tests imposés par CGB (chapitre 6), les risques pour la santé sont très faibles.

⏩ Les risques socio-économiques

La dépendance de l'agriculteur

Avec les variétés transgéniques résistantes aux herbicides, l'agriculteur en achetant les semences doit acheter aussi l'herbicide. C'est une augmentation de la

dépendance par rapport à l'industrie semencière. En fait, l'herbicide doit être considéré comme faisant partie de la variété. Quel serait l'intérêt de l'agriculteur d'acheter une variété transgénique résistante aux herbicides sans acheter l'herbicide ? Ce qui est critiquable est l'obligation pour l'agriculteur d'acheter l'ensemble, le « package », à la même entreprise, ce qui est une entrave à sa liberté… Ce problème se pose parce que les deux herbicides utilisés (Roundup® et Basta®) étaient déjà sur le marché. Dans le cas où l'herbicide aurait été mis au point avec le transgène, il apparaîtrait logique qu'il soit vendu avec la variété. Ainsi l'entreprise Monsanto, pour prolonger la vie du Roundup® et le vendre à meilleur prix avec les semences, y a ajouté des adjuvants spécifiques qui faciliterait la pénétration de l'herbicide, donc augmenterait son efficacité.

D'une façon générale, tout progrès technique se traduit par une perte de liberté à certains niveaux, pour gagner en sécurité et en liberté à d'autres niveaux. Les agriculteurs qui travaillent pour des sucreries, des brasseries, des conserveries, n'ont déjà plus le choix des variétés et des techniques culturales qui doivent respecter un cahier des charges très précis, mais le contrat leur garantit un débouché et un prix. La situation est assez comparable avec celle des variétés transgéniques résistantes aux herbicides. Pour que ce type de dépendance soit justifié, il faut seulement qu'il y ait profit pour l'agriculteur par rapport à une culture conventionnelle. Cela pourrait bien alors se développer non seulement pour les variétés transgéniques résistantes aux herbicides, mais pour toute variété transgénique conduisant à un produit intéressant pour l'industrie. Par exemple, la culture d'un colza transgénique produisant une qualité d'huile très particulière pourrait être sous forme de contrat avec une firme qui lui fournirait les semences, les produits de traitements (éventuellement résistances aux herbicides et résistances aux insectes), selon un cahier des charges à respecter, avec en contre-partie l'achat de la totalité de la production. C'est une perte de liberté, et cela n'est acceptable que s'il existe un avantage pour l'agriculteur, voire pour d'autres acteurs de la filière jusqu'au consommateur.

Conséquence pour les PVD

Nous ne voulons considérer ici que les risques, pour les PVD, du développement de certaines variétés transgéniques dans les pays industrialisés. Ces pays importent des PVD différents produits comme l'huile d'arachide, l'huile de palme (de coprah), la vanille ; or il devient possible de faire produire ces composés par une plante cultivée dans ces pays industrialisés, par le colza par exemple. Le développement de telles variétés transgéniques pourrait avoir des conséquences graves pour l'économie des PVD (Galhardi, 1996). Ainsi Unilever ou Henkel qui importent de l'huile de palme de Malaisie pour fabriquer leurs savons et détergents pourraient l'extraire de graines de colza d'une variété transgénique et donc ne plus l'importer. Un autre exemple est celui de la thaumatine (édulcorant extrait des fruits d'un arbre, *Thaumatoccus danielli* présent en Afrique de l'Ouest) qui peut maintenant être produite de façon plus économique, par une levure ou un champignon génétiquement modifié (Moralejo *et al*., 1999). Cela peut conduire à terme à ne plus importer les fruits du Ghana ou de la Côte d'Ivoire (Zoundjihekpon et Mve Beh, 2002). De même la vanilline au lieu d'être extraite du vanillier pourrait être

produite par transgénèse. Elle est d'ailleurs déjà produite par synthèse chimique ce qui a déjà contribué à une chute des importations… On peut multiplier les exemples de cette sorte… Cependant, il n'est pas toujours évident que les variétés transgéniques de colza soient une solution économiquement rentable : un colza produit au maximum 3 tonnes d'huile par hectare alors que le palmier à huile en produit trois fois plus.

La diminution des prix agricoles

La diminution des prix agricoles est un risque si l'Europe refuse les OGM alors qu'ils se développent partout ailleurs. Aux États-Unis, le développement des variétés transgéniques de cotonnier résistantes aux insectes a entraîné une diminution des cours du coton. Il est évident que si les coûts de production diminuent pour l'agriculteur, alors les cours chuteront au niveau mondial. Cela diminuera la compétitivité de l'agriculture européenne à qui l'on refuse les variétés transgéniques. À terme, c'est donc l'avenir de notre agriculture qui serait en cause (voir chap. 7). La France, pays le plus agricole de l'Europe, pourrait souffrir sans doute le plus de cette situation.

Le brevetage des transgènes et la concentration des entreprises

Justification d'une protection

La recherche est à la base des innovations ; elle demande des investissements importants. En amélioration des plantes, comme dans toute industrie, il est logique qu'il y ait une forme de protection des inventions permettant à l'inventeur d'amortir ses investissements dans la recherche et de se protéger de la contrefaçon (Feyt, 2001). Il faut en effet que quelqu'un paie le progrès. Dans le domaine du non-vivant, cette protection se fait par le système du brevet industriel. Le brevet est un droit de propriété qui ne peut être utilisé par d'autres qu'avec l'accord de l'inventeur. Il permet aux entreprises d'amortir leurs investissements par le paiement de droits de licence et les protège de la contrefaçon. Il est accordé pour vingt ans. Pour qu'un brevet puisse être délivré, trois critères doivent être respectés par l'invention :
– la nouveauté ;
– l'inventivité : l'invention ne doit pas être évidente pour l'homme de l'art, mais elle doit être reproductible ;
– l'application industrielle.

En amélioration des plantes, le sélectionneur a aussi cherché des moyens de protéger son travail « d'inventeur ». Mais une variété végétale est une invention bien particulière, car difficile, voire impossible, à reproduire par l'homme de l'art. Elle remplit donc difficilement les critères d'octroi du brevet, d'où la mise en place d'un système de protection de la propriété intellectuelle spécifique, le Certificat d'obtention végétale (COV), institué par la Convention de Paris signée en 1961 puis révisée à plusieurs reprises (1972, 1978 puis 1991). Au 1er janvier 2004, 54 pays à travers le monde ont adopté c esystème de protection pour les variétés végétales. Dans ce système, la variété est un bien privé (pour une durée limitée à vingt-cinq ou trente ans suivant les espèces) qui ne peut pas être multiplié et commercialisé par

d'autres sélectionneurs sans l'autorisation de son inventeur. En revanche, la nouvelle variété reste utilisable comme ressource génétique. Pour reprendre une image classique, la variété est comme un roman, c'est un arrangement de mots, les gènes, mais l'utilisation des mots reste libre. On parle ainsi « d'exemption du sélectionneur ». Dans le cadre d'un brevet, elle serait inutilisable (certaines variétés sont brevetées aux États-Unis). Ce système prévoit aussi une autre exemption, celle du « privilège du fermier » qui permet à l'agriculteur de s'auto-approvisionner, c'est-à-dire de prendre comme semences — dites « semences fermières » — une partie de sa récolte pour réensemencer ses champs, sans payer de redevance à l'obtenteur. Cependant, cette exception est encadrée : elle peut bénéficier pleinement aux petits agriculteurs (dans l'UE, sont considérés comme tels ceux produisant moins de 92 tonnes de céréales par an). Pour les autres, la réglementation européenne (RE 2100/94) fait obligation aux agriculteurs qui s'auto-approvisionnent en semences de verser au titulaire du COV une rémunération équitable : c'est le système de la Contribution volontaire obligatoire ou CVO mis en place pour le blé tendre en France depuis 2001.

– Une autre forme de protection, « terminator »

Le système transgénique Terminator (voir p. 150), conçu par la firme Delta & Pine (en partenariat avec l'USDA), a été repris par Monsanto avec la perspective de se protéger contre la réutilisation des semences par l'agriculteur. Pour que cette technologie soit justifiée, elle doit être associée à des caractères intéressants sur le plan économique. Il serait aussi préférable que l'agriculteur ait la liberté de la choisir ou pas. Pour qu'il n'ait plus le choix, il faudrait que toutes les entreprises de sélection aient adopté ce système. Cette situation n'est sans doute pas prête de se réaliser, sauf si un tel système devenait associé à des caractères extrêmement intéressants pour l'agriculteur. Dans ce cas, s'il veut en bénéficier, n'est-il pas normal qu'il contribue au paiement du progrès génétique en renouvelant ses semences ? Il faut alors tout faire (politiquement) pour qu'il reste suffisamment d'entreprises de sélection et que la compétition entre elles les conduisent bien à associer à un système du type terminator des caractères qui amèneront toujours un progrès.

L'obligation de renouveler les semences existe déjà pour l'agriculteur dans plusieurs situations : c'est le cas avec les variétés hybrides chez le maïs, le tournesol, et chez plusieurs plantes florales qui sont stériles (car le fait de ne pas produire de graines permet une plus grande durée de la floraison). C'est un moyen de payer le progrès génétique : sans droits de licence et renouvellement des semences il ne peut pas y avoir dans notre système économique de progrès génétique, sauf à le confier à la recherche publique ce qui ne va pas dans le sens de « l'histoire » de notre société libérale ou semi-libérale. En dehors de ces deux systèmes contraignants, il existe le système du CVO, évoqué précédemment. Sinon, il faut passer à un autre type d'organisation économique dans laquelle l'État paie tout : la recherche pour la mise au point de variétés, la production et la commercialisation des variétés. Dans ce cas, c'est l'ensemble de la société, c'est-à-dire tout citoyen, qui paierait le progrès génétique.

Encadré 5.3. Le brevetage des inventions biotechnologiques

Les biotechnologies, et la transgénèse en particulier, demandent des investissements importants. Des groupes comme Dupont, Monsanto, Syngenta investissent de l'ordre de 75 millions de dollars par an dans la recherche en biotechnologies végétales, ce qui représente plus de deux fois le budget de Génoplante. Elles ont donc cherché à obtenir le brevetage des inventions biotechnologiques. Le point de départ a été la décision de la Cour Suprême des États-Unis dans l'affaire Diamond/Chakrabarty, en 1980 (brevet sur une bactérie apte à métaboliser les hydrocarbures) qui a conclu qu'il n'y avait aucune raison d'exclure des brevets « la matière vivante en tant que telle ». Ce raisonnement à été repris dans la Directive européenne 98/44/CE sur la protection des inventions biotechnologiques. Cette Directive dit clairement qu'un organisme n'est pas brevetable, mais qu'une matière biologique (donc un gène) isolée de son environnement peut être l'objet d'un brevet, si l'application industrielle est clairement démontrée. Un transgène est donc brevetable ; le risque apparaît alors que la variété qui le porte devienne aussi brevetable, ce qui entraînerait la disparition de l'exemption du sélectionneur et éventuellement celle du COV.

Conséquence du brevet sur les transgènes et les variétés

Le ralentissement du progrès génétique et la concentration des entreprises

Avec l'exemption de la recherche, l'avantage du COV par rapport au brevet est la protection de l'obtenteur contre le risque de contrefaçon tout en laissant le libre accès à la variété protégée. Si la variété est utilisée comme ressource génétique, la nouvelle variété devra seulement être différente d ela variété protégée. Le COV permet alors un progrès continu : le progrès est cumulatif à l'échelle d'un pays, voire de la planète ; tout se passe comme s'il existait une certaine collaboration entre sélectionneurs malgré la concurrence. Cela permet une très bonne utilisation de la diversité génétique (recombinaison de géniteurs d'origines et de caractéristiques différentes) et d'autant mieux qu'il y aura une plus grande diversité des obtenteurs. C'est une forme de sélection récurrente au niveau de la planète (voir chap. 2).

À l'opposé, le brevet entraînera le blocage de la circulation des ressources génétiques. Ce sera donc un frein au progrès génétique. De plus :
– le renouvellement des variétés dans un établissement de sélection utilisant des transgènes sera moins fréquent : il y aura maintien d'une variété transgénique tant qu'elle n'aura pas été amortie ;
– le brevet en garantissant le monopole de l'invention accélérera la concentration des entreprises déjà en marche par l'utilisation d'outils de plus en plus sophistiqués ;
– il est coûteux (protection et défense juridique) et seules peuvent y avoir accès les grosses entreprises ; il peut être remis en cause pour des raisons juridiques, ce qui favorise encore les grosses entreprises ;
– il existe un risque d eprivatisation des ressources génétiques par l'extension du brevet à toute plante portant le transgène breveté.

Le fonctionnement des brevets contribue donc à accentuer la concentration des entreprises de sélection et fait craindre l'émergence d'oligopoles puissants qui pourraient contrôler le marché des semences et s'approprier les ressources génétiques.

Les conséquences pour l'agriculteur sont importantes, avec le risque qu'il ne dispose plus des meilleures variétés possibles adaptées à ses conditions de culture, et un manque de diversité dans les variétés mises à sa disposition. Or, la culture de la même variété ou de variétés très apparentées avec les mêmes transgènes, sur des surfaces très grandes, dans différents pays, pendant un temps trop long, n'est pas sans risques écologiques, pathologiques, ou par rapport au climat (si un défaut ne s'exprime que dans des conditions climatiques extrêmes, ce sont toutes les cultures de variétés porteuses du transgène qui seraient affectées). La diversité des variétés et des transgènes reste une garantie de durabilité des agrosystèmes. Pour cela, la diversité des entreprises de sélection doit être préservée. Mais, il ne suffira pas d'interdire la transgénèse pour limiter la concentration des entreprises semencières. Il faudrait un système socio-économique, avec des règlements anti-trusts au niveau international particulièrement dans le domaine du vivant.

Quel est l'avenir du brevet avec le développement de la transgénèse ? La mise au point d'une variété transgénique demande, ou demandera, des empilements de brevets : ainsi dans le cas du riz *Golden rice* : plus de 70 brevets ont été mis en œuvre (Potrykus, 2001). Même si le nombre applicable de brevets est plus limité, la gestion d'un tel système devient très coûteuse, complexe sur le plan juridique, et risque de conduire à un prix trop élevé des semences, bloquant ainsi l'innovation. Cette difficulté tend aussi à entraîner le regroupement des entreprises (Joly et de Looze, 1996) avec des prises de licences sur des regroupements de brevets. Le brevet ne s'éteindra donc pas. Mais, malgré tous ces inconvénients, ne pas jouer le jeu du brevet serait irréaliste dans le monde actuel. Si la France et l'Europe font des innovations sans les protéger, c'est équivalent à travailler pour les États-Unis. Le recours aux brevets semble donc nécessaire, mais pour l'Europe la solution est peut être, comme le proposent Joly et Hervieu (2003), dans une certaine mutualisation de la recherche entre organismes de recherche publique, voire entre recherche publique et recherche privée. Une autre proposition est celle de Graff et Zilberman (2001) d'un système de gestion collective de la propriété intellectuelle. Il s'agirait de mettre en place une *Clearing House* ou « Chambre de compensation » ayant pour mission d'analyser les brevets et mettre en commun les technologies de base pour éviter le blocage des processus d'innovation (Joly et Hervieu, 2003). Enfin, le COV défendu par l'Europe, et adopté dans 54 pays doit être bien redéfendu contre le brevet : il est en effet une solution bien plus stimulante pour les progrès dans la création variétale et la reconnaissance des efforts de chacun. Il faut un système qui protège l'innovation mais qui ne conduise pas à l'appropriation de la diversité génétique naturelle.

Inquiétudes

Les sources d'inquiétudes pour l'avenir sont multiples.

Quelle sera la force de la position européenne par rapport à la position américaine ? La Directive européenne sur les biotechnologies (1998/44) autorise le dépôt de brevets pour les inventions qui portent « sur un produit composé de matière biologique ou en contenant, ou sur un procédé permettant de produire, de traiter ou d'utiliser de la matière biologique ». Avec la pression américaine, le risque est de voir la protection s'étendre à toute plante contenant le transgène. Quel sera l'avenir ?

L'Europe a un retard considérable dans le domaine des brevets « biotechs », accentué encore par le blocage des variétés transgéniques : il apparaît difficile, voire utopique, de limiter l'emprise américaine dans ce domaine. Pourtant, l'exemple du séquençage du génome humain, auquel la France a participé, prouve que si la recherche publique est compétitive, elle peut empêcher l'octroi de certains brevets.

La diminution de l'impact de la recherche publique en Europe : les moyens des grosses entreprises privées sont bien supérieurs aux moyens du Département de génétique et d'amélioration des plantes de l'Inra (dont les laboratoires perdent leur indépendance avec un budget de plus en plus dépendant de contrats avec des établissements privés). En Grande-Bretagne, aux Pays-Bas, la privatisation partielle de la recherche publique est déjà un fait. Quel est l'avenir de la recherche en génétique et amélioration des plantes en France ? Une recherche publique forte dans le domaine de la transgénèse limiterait sans doute le monopole de certaines entreprises.

Enfin, l'agriculteur risque de ne pas avoir à sa disposition les meilleures variétés, les mieux adaptées à ses besoins, en particulier celles pour une agriculture durable ; de plus, cela ne sera pas sans conséquences au niveau agro-alimentaire.

⏩ Conclusion

Entre les risques pour la santé et les risques pour l'environnement, ceux pour l'environnement apparaissent les plus concrets, les mieux démontrés. Cependant tous ces risques potentiels sont à voir au cas par cas. Ils ne doivent pas faire oublier l'intérêt des plantes transgéniques pour l'agriculture, l'alimentation, la santé et l'industrie. Dans de nombreuses situations (amélioration des qualités organoleptiques, amélioration de la valeur nutritionnelle, production de substances pour la pharmacie ou l'industrie…) les variétés transgéniques ne présenteront pas plus de risques que les variétés non transgéniques. Il est clair que les travaux sur la transgénèse doivent être poursuivis pour parvenir à une transgénèse plus ciblée, bien maîtrisée, sans risques sanitaires ou environnementaux. La deuxième génération de plantes transgéniques, actuellement en cours de préparation, devrait apporter tous ces progrès avec une nouvelle gamme de produits d'intérêt pour l'alimentation et la santé.

Il apparaît qu'il est impossible de juger globalement les plantes transgéniques. Pour chaque type de plantes transgéniques, le bilan bénéfices/risques doit être considéré : certaines plantes transgéniques ne présentent aucun risque et ont un intérêt alors que la prudence s'impose pour d'autres malgré leurs avantages. Il n'existe pas un risque intrinsèque lié aux plantes transgéniques, et l'incertitude n'existe pas dans tous les cas.

Le développement de l'assurance qualité à toutes les étapes de la recherche et du développement d'un produit devrait donner de grandes garanties. Enfin, comme nous allons le voir au chapitre suivant, le filtre de la Commission de génie biomoléculaire et de l'Afssa, fait que les plantes transgéniques sont bien plus étudiées avant leur commercialisation que n'importe quel autre produit destiné à notre alimentation, alors qu'il existe aussi des risques en dehors des plantes transgéniques.

Nous allons voir dans le chapitre suivant comment les risques pour la santé et l'environnement, lorsqu'ils existent ou sont supposés pouvoir exister, peuvent être gérés par la voie réglementaire.

Chapitre 6

Comment le développement des plantes transgéniques est encadré

Le chapitre précédent montre que les risques associés au développement des variétés transgéniques sont à voir au cas par cas. Des variétés transgéniques, dans certaines conditions, ne présentent aucun risque pour la santé humaine ou animale et pour l'environnement, alors que d'autres peuvent en manifester. Des mesures doivent donc être prises pour éviter ou au moins limiter les risques potentiels. Ainsi, au niveau national et européen les États se sont dotés d'un dispositif législatif et réglementaire pour encadrer la mise en œuvre de ces mesures. Le principe de précaution est au cœur de la gestion des risques liés à l'utilisation des variétés transgéniques. Il se traduit essentiellement par :
– des aspects réglementaires relatifs à l'expérimentation et la mise sur le marché des variétés transgéniques ;
– un système de biovigilance pour suivre le développement des variétés transgéniques et pouvoir détecter, voire anticiper, un risque qui n'aurait pas été envisagé lors d'études précédentes.

Deux autres points importants sont à relier à la gestion des risques : l'information du consommateur, avec les mesures encadrant l'étiquetage des produits de variétés transgéniques et l'organisation de la coexistence de deux filières, l'une avec des variétés transgéniques, l'autre sans.

⏩ Le principe de précaution

Du point de vue de la gestion des risques, deux types de risques doivent être distingués : *les risques avérés*, c'est-à-dire certains (par exemple les risques des installations nucléaires) qui relèvent de la prévention, et *les risques potentiels* (comme les risques liés aux OGM) qui relèvent de la précaution (Kourilsky et Viney, 2000). Compte tenu de l'incertitude sur les risques d'une innovation, le principe de précaution correspond à l'encadrement de son développement par des procédures rigoureuses afin d'en limiter et de contrôler les risques potentiels.

Historiquement, c'est une initiative prise par la communauté scientifique elle-même qui préfigure l'approche de précaution dans le domaine des OGM. En 1974, après la première manipulation génétique *in vitro*, les chercheurs estimant que des risques pouvaient exister (risque d'échappement du laboratoire du micro-organisme manipulé et risque de recombinaison avec d'autres micro-organismes) décidaient d'appliquer un moratoire à leurs travaux de recherches. En 1975, lors de la conférence d'Asilomar (Californie), ce moratoire fut levé, car les chercheurs ont considéré qu'il était possible d'expérimenter dans des conditions très contrôlées. En fait, c'est en Allemagne que le principe de précaution a été formulé de façon précise (*Vorsorge prinzip*). Il fut d'abord appliqué aux questions relatives à l'environnement (Godard, 1997) et son champ d'application s'est ensuite étendu aux domaines alimentaire et sanitaire.

Juridiquement, le principe de précaution relève de la responsabilité des États : l'État doit intervenir dès que la sécurité pour l'environnement ou la santé humaine ou animale est menacée. Ainsi, ce principe a été adopté au sommet de la Terre à Rio de Janeiro (juin 1992) dans le cadre du concept de développement durable élaboré par l'ONU. La même année, il a été inscrit dans le traité de Maastricht. Ces textes internationaux imposent aux États de respecter le principe de précaution et ils leur demandent d'en préciser les mesures de son application. Dans le droit français, la loi dite « Barnier » du 2 février 1995 dispose que : « l'absence de certitudes, compte tenu des connaissances scientifiques et techniques du moment, ne doit pas retarder l'adoption de mesures effectives et proportionnées visant à prévenir un risque de dommages graves et irréversibles à l'environnement à un coût économiquement acceptable ». De plus, le Sénat a adopté le 24 juin 2004 la réforme constitutionnelle relative à la Charte de l'environnement, laquelle consacre le droit de chacun à « vivre dans un environnement équilibré et respectueux de la santé » avec l'article 5 qui définit le principe de précaution en matière environnementale et précise ses conditions de mise en œuvre.

En France, pour appliquer le principe de précaution, des agences indépendantes d'évaluation des risques sanitaires ont été créées successivement :
– l'Institut national de veille sanitaire (INVS), créé par la loi du 1er juillet 1998 relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme. Sa mission repose spécifiquement sur des activités de surveillance et d'études épidémiologiques de l'état de santé de la population et son évolution, et d'évaluation de risque ;
– l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa), créée le 1er avril 1999 en application de la même loi du 1er juillet 1998 relative à la veille sanitaire et à la surveillance des produits destinés l'alimentation humaine. Sa mission repose sur l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires des aliments (de la production des matières premières à la distribution au consommateur final) ;
– l'Agence française de sécurité sanitaire environnementale (Afsse), créée par la loi du 9 mai 2001 et en fonctionnement depuis novembre 2002. Sa mission est de contribuer à assurer la sécurité sanitaire et évaluer les risques sanitaires dans le domaine de l'environnement.

Dix « commandements » permettant une application efficace du principe de précaution ont été identifiés par Kourilsky et Viney (2000) dans leur rapport remis au Premier ministre le 15 octobre 1999 :

1 – tout risque doit être défini, évalué et gradué ;
2 – l'analyse des risques doit comparer les différents scénarios d'action et d'inaction ;
3 – toute analyse de risque doit comporter une analyse économique qui doit déboucher sur une étude coût/bénéfice (au sens large) préalable à la prise de décision ;
4 – les structures d'évaluation des risques doivent être indépendantes mais coordonnées ;
5 – sortir de l'incertitude impose une obligation de recherche ;
6 – les décisions doivent, autant qu'il est possible, être révisables et les solutions adoptées réversibles et proportionnées ;
7 – les circuits de décision et les dispositifs sécuritaires doivent être non seulement appropriés mais cohérents et efficaces ;
8 – les circuits de décisions et les dispositifs sécuritaires doivent être fiables ;
9 – les évaluations, les décisions et leur suivi, ainsi que les dispositifs qui y contribuent, doivent être transparents, ce qui impose l'étiquetage et la traçabilité ;
10 – le public doit être informé au mieux et son degré de participation ajusté par le pouvoir politique.

Le principe de précaution ne peut cependant pas être totalement codifié, il s'agit surtout d'une politique de gestion des innovations. Différentes interprétations en sont toujours faites. Sa version modérée autorise certaines concessions au nom du développement économique des innovations, avec l'espoir que le progrès des connaissances permettra de prévoir les risques et d'y remédier. C'est un peu cette interprétation que l'on retrouve dans la déclaration de Rio de Janeiro et dans la loi Barnier. Une interprétation plus dure rejette toute innovation tant que la preuve d'absence de risque n'a pas été apportée. Mais, une interprétation trop sévère conduirait à bloquer toute innovation (voir chap. 7). Il revient aux décideurs politiques de savoir user du principe de précaution pour protéger tout citoyen, tout en stimulant les innovations, qui ne sont pas seulement le moteur du progrès économique, mais aussi du progrès social.

⏩ Aspects réglementaires relatifs à l'expérimentation et à la mise sur le marché de plantes transgéniques

Dans le cadre du principe de précaution, une législation et une réglementation ont été mises au point pour encadrer la dissémination des variétés transgéniques dans l'environnement, et plus généralement de tout OGM. Toute dissémination volontaire d'une variété transgénique dans l'environnement est soumise à une autorisation délivrée par le ministère de l'Agriculture après accord du ministère de l'Environnement. L'autorisation de mise sur le marché est délivrée après accord de tous les États membres de la CE.

L'Europe a fait le choix de n'accorder que des autorisations au cas par cas, en fonction de la caractéristique du transgène introduit. Ces autorisations limitées dans le temps garantissent ainsi que les OGM mis sur le marché sont inoffensifs pour la santé humaine et animale et pour l'environnement. Elles reposent sur la Directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'OGM. Ainsi, la réglementation en bloc de tous les OGM par la Directive de 1990 (90/220/CE) a été remplacée par

une réglementation autorisant une approche au cas par cas des produits issus du génie génétique, selon le principe de précaution. L'article 4.3 de la Directive 2001/18/CE précise ainsi que « les États membres et le cas échéant la Commission, veillent à ce que soit effectuée, cas par cas, une évaluation précise des effets néfastes potentiels sur la santé humaine et l'environnement, susceptibles de découler directement ou indirectement du transfert de gènes d'OGM à d'autres organismes ».

Le cadre européen de la réglementation

Au niveau européen, deux Directives fixent le cadre des mesures obligatoires qui sont prises pour limiter tous risques associés à la diffusion d'OGM. La Directive 90/219/CE du Conseil des Communautés européennes du 23 avril 1990 concerne l'utilisation de micro-organismes génétiquement modifiés en milieu confiné ainsi que les cellules des plantes et les plantes elles-mêmes tant que celles-ci ne sont pas disséminées dans l'environnement (en plein champ). La Directive laisse à chaque État membre la responsabilité de son application et de la délivrance des autorisations. L'autre Directive (90/220/CE) est relative à la dissémination volontaire d'OGM (vivants, à des fins d'expérimentation ou en tant que produits commerciaux) dans l'environnement :
– elle fixe le cadre de la réglementation OGM au niveau européen,
– elle oblige chaque État membre à avoir les bases juridiques pour l'expérimentation et la commercialisation des OGM, avec une distinction entre recherche et mise sur le marché,
– elle demande une évaluation des risques pour la santé et pour l'environnement.

Elle a été traduite dans le droit français par la loi du 13 juillet 1992, suivie par deux décrets : le décret du 27 mars 1993 relatif à l'utilisation d'OGM en milieu confiné et le décret du 18 octobre 1993 qui fixe les conditions pour la dissémination des OGM dans l'environnement. Elle a été abrogée et complétée par la Directive 2001/18/CE, en application depuis le 17 octobre 2002, et le Règlement 178/2002. Basée sur le principe de précaution, la Directive 2001/18/CE prévoit :
– une procédure d'autorisation au cas par cas des OGM avec une évaluation détaillée des risques pour l'environnement et la santé humaine ou animale,
– l'obligation d'assurer une surveillance après la commercialisation, et notamment de surveiller les effets à long terme potentiels sur l'environnement,
– la mise en place de l'étiquetage et de la traçabilité,
– la consultation et l'information du public par la Commission ou les États membres.

Les commissions chargées des études

En France, pour mettre en application les deux directives précédentes, deux commissions ont été créées :
– la Commission de génie génétique (CGG) chargée d'évaluer les risques que présentent les OGM et ceux des procédés utilisés pour leur obtention,
– la Commission de génie biomoléculaire (CGB), chargée d'évaluer les risques liés à la dissémination volontaire et à la mise sur le marché d'OGM.

Aujourd'hui, au côté de la CGG et la CGB, plusieurs instances d'examen existent en France pour l'évaluation et la gestion des risques : le Comité de biovigilance et

la Commission des biotechnologies de l'Afssa. De plus, le Comité technique permanent de la sélection (CTPS) est chargé des études de valeur agronomique des variétés transgéniques, comme pour n'importe quelle autre variété.

Les études en milieu confiné : la Commission de génie génétique (CGG)

La CCG est une instance consultative scientifique placée auprès des ministères en charge de la Recherche et de l'Environnement ; elle est composée de 18 chercheurs compétents dans les domaines du génie génétique et de la protection de l'environnement (vétérinaire, médecin, biologiste moléculaire et biologiste du développement en biologie animale, végétale et des micro-organismes) et d'un membre de l'OPECST. Les membres sont nommés pour 3 ans.

Les missions de la CGG sont définies par la loi du 13 juillet 1992 :
– elle est consultée pour une autorisation de recherche en milieu confiné (isolé du monde extérieur) ;
– elle évalue les risques des OGM quelle que soit leur utilisation ultérieure (soit confinée soit en dissémination volontaire), ainsi que les risques potentiels liés à l'utilisation de techniques du génie génétique ;
– elle propose des mesures de confinement souhaitables pour prévenir les risques liés à l'utilisation de ces OGM.

Après avoir examiné le dossier de demande décrivant les installations (qui doivent être préalablement agréées) et les expériences, et éventuellement auditionné le responsable (pétitionnaire) et visité les installations, la CGG donne un avis au ministre de l'Environnement. La décision est prise au plus tard 90 jours après le dépôt de la demande, 60 jours pour une demande suivante de même niveau de risque.

Dissémination volontaire et mise sur le marché : la Commission de génie biomoléculaire (CGB)

La CGB a été créée en 1986 par le ministère de l'Agriculture, mais c'est la loi du 13 juillet 1992 qui institutionnalise et encadre son travail, elle fonctionne sur la base du règlement intérieur adopté en 1998 et ses membres sont nommés pour trois ans. Elle n'a pas de pouvoir de décision : elle est consultative auprès des ministères de l'Agriculture et de l'Environnement. Elle est composée de 18 membres : 11 experts scientifiques, 1 représentant des industries utilisant des OGM, 1 représentant de la production agricole, 1 représentant d'une association de défense des consommateurs, 1 représentant d'une association de défense de l'environnement, 1 représentant des salariés des industries exploitant les OGM, 1 membre de l'OPECST, 1 personnalité désignée pour ses compétences juridiques. Les membres composant cette Commission sont nommés par arrêté conjoint des ministres de l'Agriculture et de l'Environnement, pour une durée de trois ans.

Ses fonctions sont les suivantes :
– elle est saisie obligatoirement pour toute autorisation de dissémination d'un OGM, en vue de l'expérimentation et de la mise sur le marché ;
– elle examine les problèmes de sécurité pour l'environnement et pour la santé humaine ;
– elle peut proposer des recherches sur les effets de dissémination à grande échelle des OGM.

Les encadrés 6.1 et 6.2 ci-après présentent de manière simplifiée les circuits concernant les dossiers de demande d'autorisation de mise en culture de plantes transgéniques à des fins de recherche et développement (partie B de la Directive 2001/18) ou de mise sur le marché (partie C de la Directive 2001/18).

Cas des demandes d'autorisation d'expérimentation

Les autorisations sont accordées de manière décentralisée par l'instance compétente de chaque pays membre de la CE (encadré 6.1). L'information est transmise aux autres pays membres qui peuvent faire des observations.

L'évaluation des risques s'appuie sur un dossier scientifique et technique, de format défini par une directive européenne, qui doit apporter des informations relatives à l'innocuité pour la santé et pour l'environnement de la « nouvelle construction génétique ». Des éléments sur l'origine, la longueur de la séquence du gène transféré dans l'organisme hôte et le lieu de son insertion dans le génome (nucléaire ou chloroplastique) doivent être connus. Le pétitionnaire doit décrire avec précision le dispositif expérimental et proposer des mesures de suivi et de gestion du site expérimental avant et après la récolte. Des indications relatives aux risques pour la santé et l'environnement doivent aussi être données.

Pour l'ensemble de la CE, les informations sur les essais réalisés sont disponibles sur le site http://biotech.jrc.it/.

Cas des demandes d'autorisation de mise sur le marché

Les autorisations de mise sur le marché suivent un circuit plus complexe (encadré 6.2). Les dossiers sont d'abord examinés par un État membre ; l'autorisation est ensuite accordée par l'ensemble des États membres et valable pour tous les pays de la CE.

Suite à une demande de commercialisation d'une variété transgénique, le ministère de l'Agriculture saisit deux comités : la CGB et le CTPS. La CGB doit évaluer ou faire évaluer les risques sanitaires (toxiques, alimentaires, allergiques) et écologiques. L'évaluation du dossier comprend les étapes suivantes :
– expertise par trois rapporteurs internes et par un rapporteur externe,
– présentation des conclusions du rapporteur externe,
– audition du pétitionnaire,
– délibération.

Le principe est d'évaluer au cas par cas selon la nature du transgène, la construction génétique utilisée, l'espèce hôte du transgène et les conditions de culture ou d'utilisation. L'examen du dossier par la CGB a lieu dans un délai maximum de 90 jours après son dépôt. Si l'avis est favorable, il est transmis par le ministère de l'Agriculture à la CE qui transmet aux autorités des autres États membres. La réponse de la CE est donnée dans un délai de 60 jours :
– si elle est positive (aucune objection des autres États membres), l'autorisation de dissémination dans l'environnement est donnée ;
– s'il y a objections d'un ou plusieurs États, un vote à la majorité qualifiée a lieu,
• si le vote est positif, l'autorisation de dissémination est donnée,
• si le vote est négatif, le Conseil des ministres de l'Environnement réexamine la demande dans les trois mois.

La demande d'autorisation de mise sur le marché impose au pétitionnaire de faire la preuve scientifique de l'innocuité pour la santé et pour l'environnement de la « nouvelle construction génétique ». Ainsi, comme pour les dossiers de demande d'expérimentation, la construction génétique sera décrite avec précision et des éléments sur sa stabilité devront être fournis. Les risques potentiels, notamment toxicologiques et allergiques, associés à chacun des produits des gènes que contient la construction génétique doivent avoir été évalués (ou ils seront évalués à la charge du pétitionnaire). L'impact potentiel des gènes marqueurs utilisés dans les étapes de construction de la variété transgénique doit être apprécié, si ces marqueurs n'ont pas été éliminés. En ce qui concerne l'impact de la variété transgénique sur l'environnement, les études détaillées des effets sur les « organismes cibles » et des « organismes non cibles » de la faune et de la flore doivent être effectuées. Les probabilités de transfert de gènes à d'autres organismes apparentés doivent également être considérées.

Le coût d'un dossier de demande de mise sur le marché d'une variété transgénique est estimé entre 3 et 4 millions d'euros.

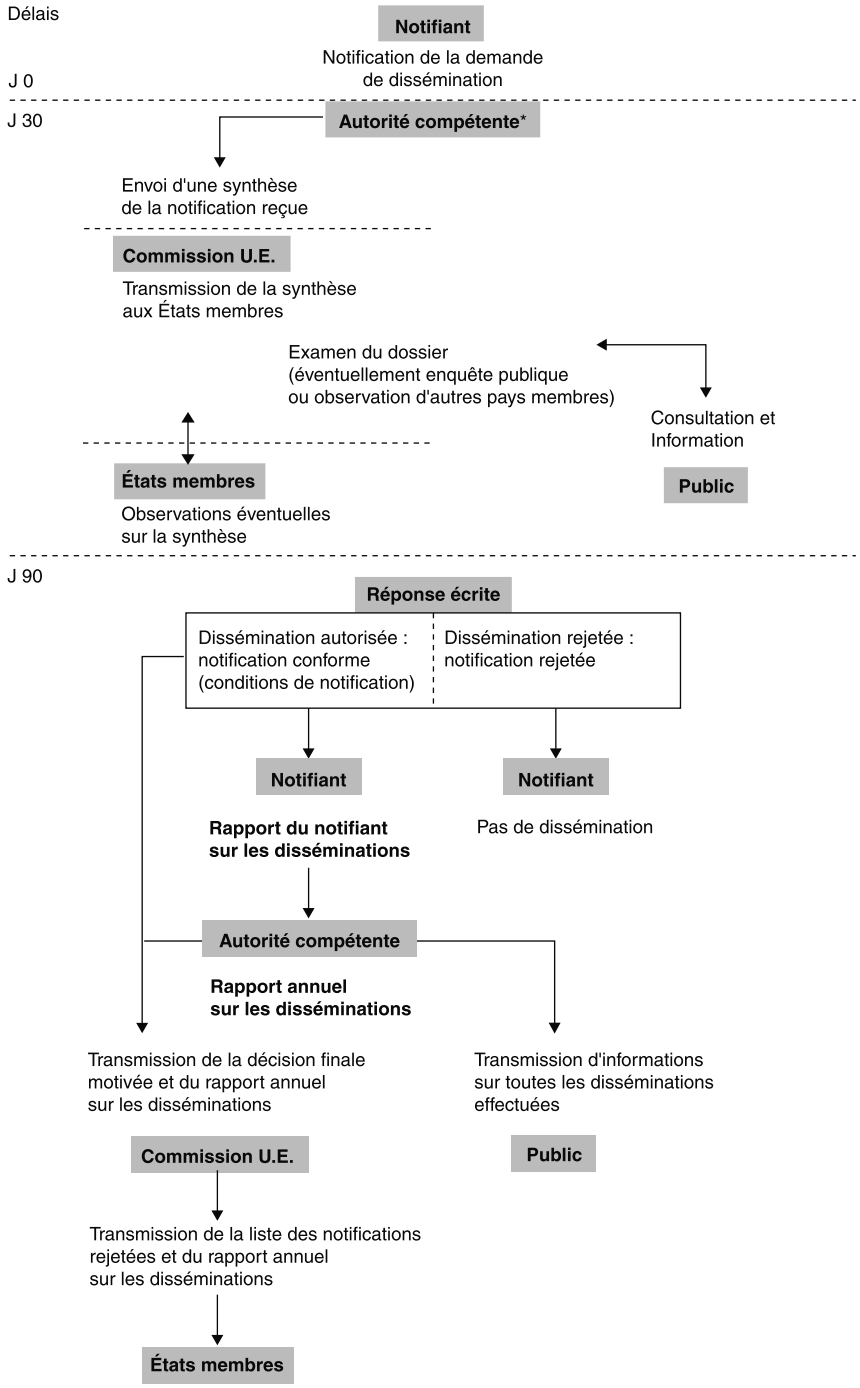
L'inscription au catalogue des variétés transgéniques : le CTPS

Pour être commercialisées et cultivées en France, les obtentions végétales doivent être inscrites au catalogue officiel des variétés des espèces agricoles, qu'elles soient transgéniques ou non. L'inscription au catalogue d'une variété transgénique n'est possible que si le dossier a fait l'objet d'une décision favorable d'un État européen conformément à la Directive 2001/18/CE, et si elle a satisfait aux exigences générales pour l'inscription des variétés au Catalogue des variétés de semences. Tant que l'autorisation de mise sur le marché n'est pas définitive, les essais officiels réalisés en vue de l'inscription sont conduits dans le cadre d'une autorisation de recherche et de développement après avis de la CGB.

En France, c'est le Comité technique permanent de la sélection des plantes cultivées (CTPS), organisme sous la tutelle du ministère de l'Agriculture, qui réalise les études par l'intermédiaire du Groupe d'études des variétés et des semences (GEVES). Ces études qui durent deux ou trois ans, ont pour but d'évaluer les caractéristiques agronomiques de ces variétés (valeur agronomique et technologique ou VAT), et les caractères de distinction, homogénéité, stabilité (DHS). Sur la base des résultats, le CTPS propose au ministère de l'Agriculture l'inscription au catalogue d'une variété transgénique, inscription qui fait alors l'objet d'un arrêté au *Journal Officiel*.

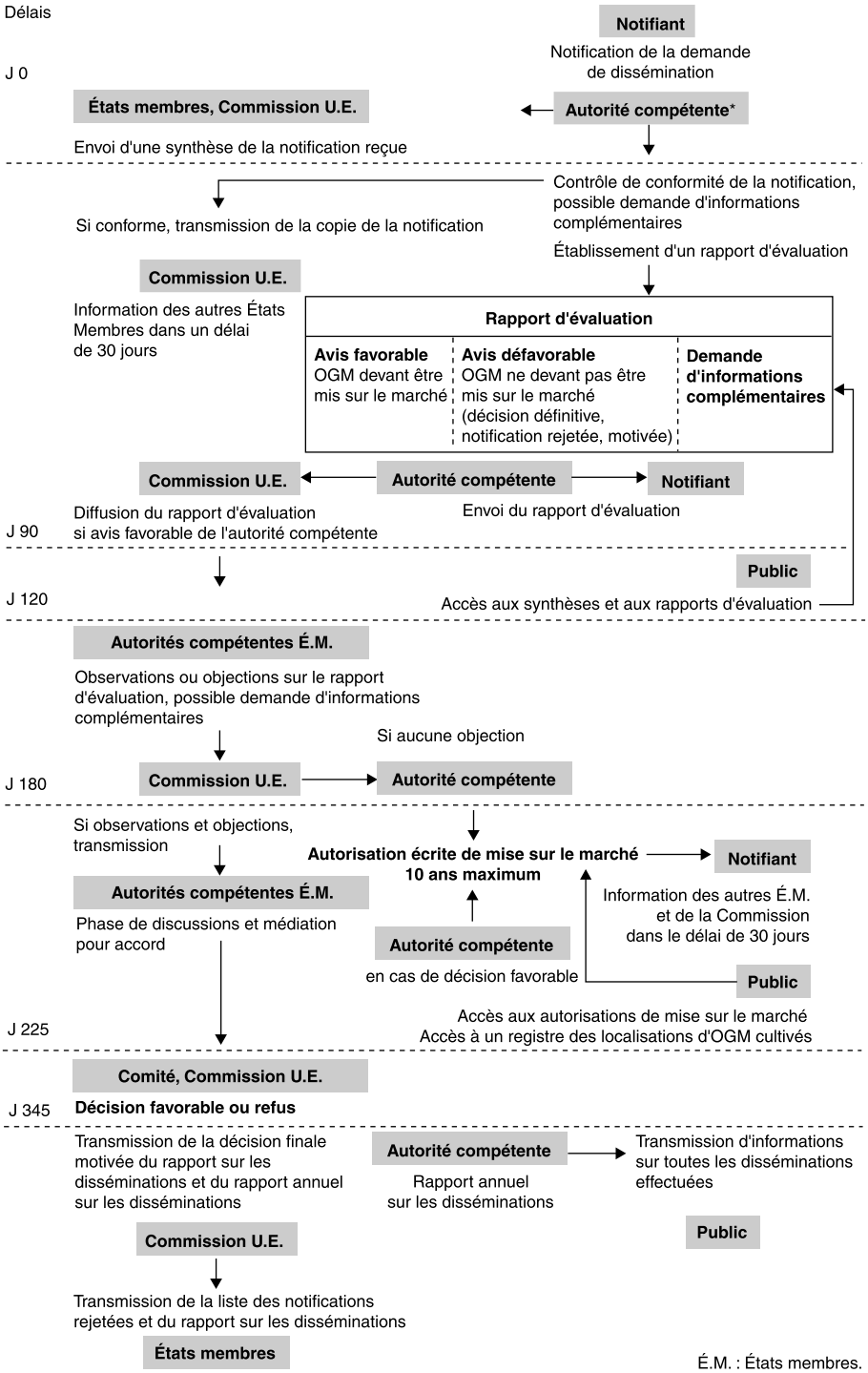
Le CTPS n'est pas chargé pour le moment de vérifier de façon systématique le bénéfice agronomique attendu de la variété transgénique. L'avantage de la variété transgénique peut toutefois apparaître dans l'évaluation de sa valeur agronomique. Ainsi, par exemple, pour les variétés transgéniques de maïs résistantes à la pyrale, leur avantage devrait se traduire par une supériorité de rendement en zones infestées (avec ou sans traitement insecticide). Pour les variétés transgéniques résistantes à un herbicide, l'évaluation est plus délicate, car les résultats peuvent dépendre de l'itinéraire technique. D'une façon plus générale, il serait sans doute souhaitable que les études au niveau du CTPS fassent apparaître les bénéfices espérés de la variété transgénique. Ainsi au moment de l'inscription, en disposant

Encadré 6.1. Demande de dissémination d'une plante transgénique au titre de la partie B (Recherche et développement)



* Commission du génie biomoléculaire (CGB) dans le cas français.

Encadré 6.2. Demande de mise sur le marché – partie C



de deux dossiers, le dossier de valeur agronomique du CTPS et le dossier de la CGB sur les risques, la prise de décision pourrait être basée sur le rapport bénéfices/risques. De plus cette information pourrait être à la base d'une communication plus équilibrée sur les variétés transgéniques.

Pourquoi une réglementation spécifique ?

La réglementation actuellement mise en place est spécifique aux variétés transgéniques. Elle considère certes le produit qui sera commercialisé, mais elle considère aussi son procédé d'obtention. Elle repose sur une liste de techniques de modification du vivant dont certaines sont qualifiées de naturelles et conduisant à des organismes nouveaux non soumis à une réglementation particulière tandis que la transgénèse conduit à des produits soumis à une réglementation spécifique. Ainsi, sont exclus de cette réglementation le sauvetage d'embryons, la fusion de protoplastes (même entre cellules d'organismes normalement incapables d'échanger du matériel génétique par les voies naturelles) et la mutagénèse. Une nouvelle variété obtenue par mutagénèse n'est donc pas concernée par la réglementation sur les OGM. Ce qui signifie qu'elle est considérée sans risque potentiel, ni pour l'environnement, ni pour la santé, alors qu'à l'instar de la transgénèse, il s'agit bien d'une modification qui confère aussi un caractère de nouveauté. Certaines mutations font bien apparaître des caractères jusqu'ici inconnus dans l'espèce. De plus ces mutations peuvent être ponctuelles (un seul changement de base dans le gène) ou beaucoup plus importantes : délétion, translocation, inversion d'un fragment de chromosome, doublement du nombre de chromosomes… Pour de telles nouveautés, les études menées pour l'inscription au Catalogue officiel français et européen ne prévoient aucune étude sur les risques pour la santé et pour l'environnement : elles concernent seulement les études de DHS et de VAT.

Ce manque de cohérence est regrettable et a évidemment contribué à troubler le débat sur les plantes transgéniques. Cette distinction, basée sur le procédé d'obtention de la variabilité génétique, est peu justifiée d'un point de vue scientifique. Elle laisse entendre que le procédé lui-même présente des risques indépendamment du transgène, alors qu'aucun élément ne permet de penser cela. De plus, elle conduit à des décisions incohérentes : accepter sans aucun problème une variété de blé qui a incorporé dans son génome un fragment chromosomique d'ADN d'*Aegilops* par des voies dites « naturelles » (croisements entre ces deux espèces apparentées), mais représentant bien une manipulation génétique, et refuser une variété de pomme de terre qui a reçu un gène de résistance au mildiou de son ancêtre mais par des voies dites « artificielles » de génie génétique (ici la transgénèse). Ne serait-il pas plus cohérent de ne s'intéresser qu'au résultat ? Ce point est aussi souligné par Bradford *et al*. (2005) sur la base de toutes les connaissances accumulées depuis 20 ans sur les plantes transgéniques ainsi qu'en génomique.

⏩ L'évaluation des risques liés à la dissémination volontaire des variétés transgéniques

L'évaluation des risques pour la santé

Pour limiter tous types de risques pour la santé, des études de sécurité alimentaire sont demandées avant toute autorisation de commercialisation des variétés transgéniques destinées à l'alimentation humaine. En France, l'évaluation des risques sanitaires et nutritionnels des aliments destinés à l'homme et à l'animal, composés ou issus d'OGM, est conduite par l'Afssa. C'est une instance consultative.

Nous avons vu au chapitre 5 que les risques peuvent avoir plusieurs origines :
– les modifications prévisibles par l'effet du transgène, le transgène code pour de nouvelles protéines qui modifient directement les propriétés de la plante, son métabolisme et sa composition chimique,
– les modifications non prévisibles de l'effet du transgène : elles résultent de l'insertion du transgène qui peut « réveiller » certains gènes ne s'exprimant pas normalement, ce qui reste un événement rare ;
– la présence de gènes marqueurs associés au transgène.

Pour les risques de transfert des gènes marqueurs de résistance à un antibiotique, le problème ne se pose plus puisque de telles constructions ne sont plus autorisées par la CGB. La Directive 2001/18/CE prévoit la suppression progressive des OGM contenant des gènes résistants aux antibiotiques : fin 2004 pour les OGM mis sur le marché et 2008 pour les essais recherche et développement. C'est toutefois la présence d'un tel marqueur (résistance à la néomycine) dans le maïs transgénique *Mon863* qui a été à l'origine d'une querelle d'experts, non pas sur l'évaluation des risques de transfert mais au sujet de l'évaluation du risque toxique (Afssa, 2003 ; CGB 2003). D'une façon générale, le risque sanitaire le plus important est que les produits résultant de l'événement de transformation entraînent un effet toxique ou allergénique.

L'évaluation du risque allergénique

Le risque d'allergie dépend des individus, du transgène et de l'espèce receveuse (hôte) du transgène (voir chap. 5). Nous avons vu qu'il n'est pas exclu que les aliments génétiquement modifiés ou issus d'une variété transgénique puissent être la source d'allergies alimentaires, soit par insertion d'un transgène qui conduirait à la synthèse d'une protéine allergénique, soit par modification du fonctionnement du métabolisme ou de certains gènes de la plante-hôte qui produirait une nouvelle protéine susceptible de provoquer des allergies. Prédire qu'une nouvelle molécule sera allergénique est difficile. Différentes questions doivent être posées relativement à la protéine transgénique :
– Si le transgène provient d'un végétal allergisant connu, n'est-il pas un allergène mineur ?
– Une modification du métabolisme de la plante-hôte ne peut-elle pas conduire à l'expression d'une quantité importante d'un allergène mineur (comme cela a été observé dans le cas de l'expression de l'albumine 2S de la noix du Brésil dans le soja) ?

– Sa présence peut-elle modifier l'allergénicité des protéines de la plante-hôte ?
– Si l'origine du transgène est une plante sans potentialité allergénique connue, présente-t-elle une réactivité croisée avec les allergènes connus (peut-elle se lier à des anticorps spécifiques d'un allergène) ?
– Dans les deux éventualités, est-elle douée d'immunogénicité (risque de sensibilisation *de novo*) ?

La première étape est la recherche d'une homologie de séquences avec les allergènes répertoriés dans les banques de données accessibles sur Internet (GenBank, Swiss Prot, Pir, EMBL).

Si le transgène provient d'un végétal à potentiel allergénique connu, on recherche s'il existe un risque de liaison aux anticorps spécifiques (IgE) de sérums de personnes allergiques à cette plante. La nécessité de disposer d'un maximum de sérums de patients allergiques à l'espèce végétale d'où provient le transgène ressort des évaluations de probabilité de détection d'un allergène majeur ou mineur : 14 sérums sont suffisants pour prédire que cette protéine n'est pas un allergène majeur, avec une probabilité de 99,9 % (Moneret-Vautrin, 2001).

Si le transgène provient d'un végétal sans potentiel allergénique connu, on recherche une éventuelle réactivité croisée avec toutes les familles d'allergènes existants, en testant la protéine vis-à-vis de 6 séries de sérums contenant des IgE spécifiques de Monocotylédones (pollens de Graminées ; riz), de Dicotylédones (pollen d'arbres, d'herbacées, céleri, arachide, fruits secs oléagineux, latex…), du groupe de moisissures (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, Trichophyton, levures), du groupe des Invertébrés (sérums spécifiques d'acariens, blatte, chironomides, crevette, soie), du groupe des Vertébrés (sérums spécifiques d'épithelia animaux et de protéines sériques des mêmes sources, de lait, de poisson, d'œuf).

Cependant, les trois étapes d'étude de la protéine transgénique : recherche d'homologie de séquences, de liaison à des anticorps spécifiques (IgE), de dégradabilité par la digestion, ne permettent pas de répondre à la question d'une allergénicité accrue de l'OGM, ni à celle d'une nouvelle immunogénicité. Il est alors nécessaire d'envisager le développement de modèles animaux, qui devraient montrer une gradation dans la réaction allergique, similaire à celle observée chez l'homme, selon que le potentiel allergénique est fort (cacahuète), moyen (lait) ou presque nul (épinard). Les tests peuvent porter sur le chien, le rat *Sprague-Dawley*, le rat *Brown Norway*, certaines souches de souris, le cobaye, le porcelet… À l'intérieur d'une même espèce, comme la souris, d'importantes différences de réponse immunologique peuvent être observées. Ces tests doivent s'adresser non seulement à la protéine transgénique isolée, mais aussi à l'organisme génétiquement modifié dans sa totalité. Ceci paraît d'autant plus important que les végétaux receveurs sont caractérisés par l'universalité de leur consommation et pour chacun desquels l'allergénicité est bien connue : le soja, le maïs, le riz, la pomme de terre. Il faut alors surveiller le risque de modifications imprévues des protéines transgéniques du fait des technologies alimentaires qui leur seront ultérieurement appliquées. Les modifications de structures par repliements moléculaires pourraient faire apparaître des motifs homologues d'allergènes existants.

La prédiction et le test du caractère allergène restant difficiles, une surveillance après la mise sur le marché est nécessaire, vigilance qui concerne d'ailleurs tous les produits alimentaires nouveaux ou exotiques.

L'évaluation du risque toxique

Démarche générale

Un concept joue un rôle important dans l'évaluation des risques pour la santé : *l'équivalence en substances* (ES) entre la variété transgénique et la variété non transgénique ; on recherche les différences entre la plante avant transformation et la plante après transformation, compte tenu de la variation naturelle, environnementale des caractères (Pascal, 1996, 1997). L'idée est de comparer la variété transgénique à une variété bien connue et n'ayant présenté aucun risque alimentaire. En plus des caractères agronomiques, l'ES prend en compte la composition pour quelques produits clés : nutriments caractéristiques, facteurs antinutritionnels, et toxiques naturels.

Les principales étapes des études d'innocuité sont les suivantes :
– caractérisation de l'événement de transformation génétique, nature de la modification ; c'est la première étape évidente, mais on voit mal un sélectionneur déposer une variété avec un transgène produisant une substance toxique non identifiée, qui n'aurait aucun intérêt : le refus par la CGB serait *de facto* ;
– recherche de l'ES ;
– études de toxicité et d'allergénicité : elles sont menées si l'ES ne peut pas être établie.

Si l'ES peut être démontrée (aucune différence entre les produits consommés issus de la variété transgénique et ceux issus de la variété non transgénique), la CGB considère qu'aucune autre démonstration de sécurité alimentaire ne s'impose. C'est le cas où le gène d'intérêt ne s'exprime pas dans les parties comestibles. Si l'ES est démontrée, à l'exception des produits (protéines) des gènes introduits, il suffit de prouver l'innocuité de ces produits ou de leurs métabolites.

Lorsque le transgène code pour une enzyme dont l'activité peut avoir des répercussions sur le métabolisme de la plante (par exemple l'apparition de métabolites secondaires à partir d'un herbicide), la toxicité de ces métabolites doit être étudiée. Cette étude relève de l'homologation des produits phytosanitaires (Commission d'étude de la toxicité et Comité d'homologation des produits antiparasitaires à usage agricole). En ce qui concerne les risques de toxicité non prévisibles (par exemple ceux résultant de l'insertion dans une zone codante), il est improbable que ces effets se manifestent par la production d'une substance qui n'ait jamais été observée dans le règne végétal. Donc des analyses ciblées d'empreinte métabolique sur ces familles de produits connus (par spectrométrie et chromatographie) sont conduites pour identifier la substance. Si elle est inconnue, alors des tests de toxicité sur des animaux sont réalisés.

Si l'ES ne peut pas être établie, une approche au cas par cas est alors retenue, selon les propriétés du nouvel aliment. L'expérimentation animale, de nature toxicologique, n'est envisagée qu'après une étude des risques liés à la composition : l'absence d'ES ne signifie pas nécessairement l'absence de sécurité alimentaire.

Les tests sur animaux de laboratoire (Afssa, 2002)

Pour les aliments destinés à l'homme, les tests de toxicité sur animaux sont réalisés conformément aux recommandations pour les études des substances médicamenteuses.

Ils font intervenir le plus souvent des rongeurs, avec des lots d'animaux jeunes composés de 10 individus de chaque sexe, sur une durée de 90 jours, les animaux étant nourris individuellement. La quantité de l'aliment dans la ration est la plus élevée possible, en restant compatible avec l'équilibre nutritionnel de l'animal. Selon le type d'aliment à évaluer, l'essai sur rats pourra être remplacé par un essai sur des lapins ou des poulets. Dans le débat qui a eu lieu au sujet du maïs *Mon863* (p. 199) les associations anti-OGM demandaient que les tests soient portés à deux ans. En fait le désaccord des experts de l'Afssa et de la CGB viendrait plus d'un effet d'échantillonnage d'un lot de rat qu'à un problème de durée des tests.

Pour les aliments destinés aux ruminants, les études d'alimentarité et de digestibilité peuvent être réalisées sur petits ruminants (ovins, caprins) durant 3 mois, ou directement sur les animaux cibles, bovins à l'engrais ou vaches laitières durant 2 mois. Dans le cas d'un aliment destiné à un monogastrique, un essai d'alimentarité est réalisé sur rat ou sur poulet voire sur le porc (durant 100 jours). Dans le cas d'un aliment destiné plus spécialement aux volailles, un essai d'alimentarité est réalisé sur poule pondeuse ou caille, pendant 2 mois autour du pic de ponte.

L'évaluation des risques pour l'environnement

Il s'agit essentiellement d'évaluer l'écotoxicité et le potentiel d'invasivité (de colonisation d'une espèce végétale). L'étude de la toxicité pour l'environnement de la nouvelle protéine produite par la plante est particulièrement justifiée lorsque la plante a été transformée pour résister aux ravageurs, en synthétisant par exemple une molécule toxique. Pour les études d'invasivité, il s'agit d'examiner si le transgène confère un avantage sélectif à la plante. Les impacts écologiques possibles des flux de pollen et de graines sont aussi considérés, de même que les modalités de gestion susceptibles de limiter les éventuels effets défavorables identifiés liés à ces flux. Si besoin, la CGB peut demander des expérimentations à grande échelle sur une variété transgénique pour valider des modalités de gestion de la culture transgénique tout en permettant la coexistence entre deux modes d'agriculture (OGM et non-OGM) avant de rendre un avis favorable sur la dissémination de la variété transgénique dans l'environnement.

⏩ Les mesures de protection

La biovigilance

L'application du principe de précaution, en matière de dissémination d'OGM, passe nécessairement par une biovigilance. En effet, certaines variétés transgéniques peuvent présenter des risques qui ne sont pas nécessairement connus, à faible ou très faible probabilité, de telle sorte qu'ils n'ont pas encore été observés et restent hypothétiques avec les connaissances du moment. Dans ce cas, le développement (production de semences, cultures) de ces variétés transgéniques sera autorisé pour ne pas bloquer l'innovation, mais il sera encadré par des mesures rigoureuses et avec des observations permanentes afin d'anticiper toute apparition de risque pour la santé ou pour l'environnement. Ainsi, à tout moment, en cas de

signes précurseurs, la variété transgénique pourra être retirée ou de nouvelles mesures pourront être prises pour son utilisation ultérieure. La biovigilance correspond donc à une surveillance permanente et *a posteriori* de la décision de dissémination des variétés transgéniques dans l'environnement.

La Directive 2001/18/CE conditionne d'ailleurs l'attribution d'une autorisation de commercialisation à la mise en place d'un plan de surveillance. En France, la gestion des risques est confiée à la CGB. Elle contrôle le respect de la réglementation et surveille l'évolution des risques une fois la variété transgénique disséminée dans l'environnement afin de proposer éventuellement des mesures correctives ; elle peut retirer l'autorisation de commercialisation. Pour permettre le réexamen régulier du dossier, l'autorisation de commercialisation des semences génétiquement modifiées n'est accordée que pour une durée de 3 à 10 ans (une variété non transgénique est inscrite au catalogue pour 10 ans et réinscriptible tous les 5 ans). Cette autorisation est assortie des mesures de suivi de l'utilisation des semences afin d'évaluer les effets des cultures sur l'environnement (par exemple pour le maïs *Bt* l'apparition de pyrales résistantes à la toxine *Bt*, et les effets sur les populations d'insectes).

Pour le suivi de ces mesures, un Comité de biovigilance sur les variétés transgéniques a été mis en place dès mars 1998, mais ses missions ont été redéfinies et renforcées par la loi d'orientation agricole 99-574 du 9 juillet 1999 qui fixe le cadre de surveillance biologique du territoire avec le suivi et le contrôle des disséminations dans l'environnement d'OGM commercialisés ou en développement. Cette loi confie la surveillance des variétés transgéniques aux agents des services de la protection des végétaux. Le Comité de biovigilance est composé de 22 membres : 7 experts scientifiques, 5 représentants de la profession, 5 de la société civile et 5 de l'administration. Il est co-présidé par les ministres de l'Agriculture et de l'Environnement. Le Comité actuel de biovigilance est toujours une structure provisoire, le décret définitif n'étant pas encore paru.

Ce Comité assure un suivi des implantations de variétés transgéniques avec la mise en place d'une traçabilité doublée d'une obligation de suivi géographique. Il s'agit d'assurer une traçabilité des semences de variétés transgéniques, de collecter des informations sur le comportement des variétés transgéniques et d'analyser les possibilités d'apparition d'événements défavorables sur l'environnement lors de l'utilisation à grande échelle des variétés transgéniques. Le responsable de la mise sur le marché ou de la dissémination, le distributeur et l'utilisateur de ces produits doivent participer au dispositif de surveillance biologique ; ils doivent en particulier communiquer aux agents chargés de la protection des végétaux toutes les informations nécessaires à la surveillance biologique.

Le Comité de biovigilance émet des avis sur les protocoles de suivi des risques théoriques, la mise en œuvre de ces protocoles, les conclusions des expérimentations mises en place, la synthèse des observations réalisées avec les variétés transgéniques, des propositions de mesures correctives. L'analyse des avis rendus par les Comités permet de préciser la nature des conséquences éventuelles. Elle conduit à confirmer ou infirmer les hypothèses scientifiques actuelles sur les risques possibles. Si des effets indésirables sont mis en évidence, le Comité de biovigilance peut demander aux ministres de l'Agriculture et de l'Environnement une réévaluation

du risque, pouvant conduire à un retrait des autorisations des variétés transgéniques en cause.

L'information du consommateur

L'étiquetage

D'après l'enquête Eurobaromètre 55.2 (2001) 94,6 % des Européens souhaitent avoir le droit de choisir entre un aliment issu de plantes transgéniques et un aliment issu de plantes non transgéniques. Pour assurer la liberté de choix du consommateur entre un aliment transgénique et un aliment non transgénique, l'étiquetage des produits était nécessaire, il est devenu obligatoire. Les textes communautaires issus du règlement 1829/2003 rendent obligatoire l'étiquetage des aliments génétiquement modifiés ou produits à partir d'OGM destinés à l'alimentation humaine et animale, en cas de présence fortuite d'OGM autorisés supérieure à 0,9 %. Il faut donc distinguer deux catégories de produits :

• ceux qui intègrent un produit OGM dans leur composition : leur étiquetage est obligatoire à tous les stades de la production, jusqu'à l'étalage (par exemple les huiles raffinées et les sirops de glucose). L'obligation d'étiquetage s'applique dès lors que la matière première utilisée au cours de la fabrication d'un produit est génétiquement modifiée, indépendamment de la détection par l'analyse de l'ADN ou des protéines qui résultent de la modification génétique : ainsi une lécithine extraite d'un soja génétiquement modifié doit être étiquetée. En revanche, la viande, les œufs ou le lait d'un animal conventionnel nourri avec des aliments contenant des OGM ne sont pas soumis à cette obligation ;

• ceux qui sont accidentellement contaminés par un ingrédient contenant un OGM. Dans ce cas, le produit doit être étiqueté dès lors que l'ingrédient contient plus de 0,9 % d'OGM ou de dérivés OGM. Ce seuil s'applique ingrédient par ingrédient. L'obligation d'étiquetage ne s'applique donc pas aux denrées alimentaires renfermant un matériel contenant des OGM, consistant en de tels organismes ou produit à partir de tels organismes dans une proportion n'excédant pas 0,9 % de chaque ingrédient, à condition que cette présence soit fortuite ou techniquement inévitable. Pour déterminer le caractère aléatoire ou techniquement inévitable de la présence de ce matériel, les exploitants doivent être à même de démontrer aux autorités compétentes qu'ils ont pris des mesures adéquates pour éviter la présence de ce matériel.

Les mentions portées sur l'étiquette sont réglementées :

a) lorsque la denrée alimentaire consiste en plusieurs ingrédients, la mention « *génétiquement modifié* » ou « *produit à partir de [nom de l'ingrédient] génétiquement modifié* » figure entre parenthèses, immédiatement après le nom de l'ingrédient concerné, dans la liste des ingrédients visée à l'article 6 de la Directive 2000/13/CE ;

b) lorsque l'ingrédient est désigné par le nom d'une catégorie, la mention « *contient [nom de l'organisme] génétiquement modifié* » ou « *contient [nom de l'ingrédient] produit à partir de [nom de l'organisme] génétiquement modifié* » figure dans la liste des ingrédients ;

c) en l'absence de liste des ingrédients, la mention « *génétiquement modifié* » ou « *produit à partir de [nom de l'organisme] génétiquement modifié* » apparaît clairement sur l'étiquetage.

La traçabilité

L'étiquetage impose alors que l'on puisse garantir le taux d'OGM en dessous du seuil fixé. Il faut donc contrôler toutes les étapes de la production, d'où la nécessité d'une traçabilité. La *traçabilité* est la capacité de retrouver le cheminement d'un produit et de ses constituants tout au long de la chaîne de production. Cela implique donc des observations précises, à des moments précis, sur des produits bien déterminés, avec enregistrement de toutes ces observations. Pour identifier des produits OGM ou dérivés d'OGM à chaque étape de leur mise sur le marché, le règlement impose la transmission et la conservation d'informations de tous les opérateurs et tout au long des filières « de la fourche à la fourchette » indiquant que des produits contiennent des OGM ou consistent en des OGM. Par la tenue de registres d'entrée et de sortie des marchandises, les informations sont conservées pendant une durée de 5 ans pour faciliter l'identification, la détection et la surveillance de ces OGM. Cela concerne les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (y compris les aliments pour des animaux qui ne sont pas destinés à la production alimentaire). Ces exigences de traçabilité facilitent l'étiquetage précis de ces produits.

Pour garantir moins de 0,9 % de présence d'OGM, toutes les étapes de la production jusqu'à la commercialisation des produits doivent être contrôlées. À chaque étape il est exigé moins de 0,9 % d'OGM. Des problèmes techniques de réalisation des analyses de présence d'OGM se posent alors.

Les problèmes d'échantillonnage et de seuil de tolérance

Les problèmes d'échantillonnage et de seuil de tolérance se posent, car les quantités analysées sont infimes par rapport aux quantités à contrôler. L'échantillonnage de grandes quantités ayant des limites, de nombreux échantillons devront être analysés pour être représentatifs des quantités à contrôler, et ce d'autant plus que le seuil fixé de tolérance d'OGM sera bas. Cela aura donc un impact direct sur le coût des analyses. Ainsi, pour pouvoir détecter, dans 99 % des cas, au moins une graine génétiquement modifiée, avec un taux de tolérance de 1 %, il suffit d'étudier un lot de 459 graines, ce qui représente un lot important pour une analyse. Mais avec un taux de tolérance de 0,1 %, il faudrait étudier 4 603 graines, et avec un taux de tolérance de 0,01 % il faudrait étudier au moins 46 050 graines (Bertheau, *in* Valceschini, 2001). Et malgré cela, dans 1 % des cas, il y aurait un risque de présence d'OGM qui aurait échappé à l'analyse. Ce raisonnement montre que le zéro OGM sera impossible à garantir, car il sera impossible à contrôler. De plus, même si la France ou l'Europe était une zone sans OGM, les échanges entre pays sont tels qu'existeraient toujours des risques d'avoir dans notre alimentation des OGM ou des produits issus d'OGM. Un seuil « raisonnable » permettant un contrôle fiable doit donc être fixé. C'est le taux de 0,9 % qui a été retenu au niveau européen. À noter que ce seuil se justifie essentiellement pour laisser libre le consommateur de choisir entre un produit OGM et non-OGM, et non pour limiter les risques sanitaires, puisque ceux-ci ne sont qu'hypothétiques, ou très faibles même avec 100 % d'OGM.

Les outils de détection de la présence d'OGM

Les méthodes de détection de la présence d'OGM, définies au niveau européen par le règlement 1139/98/CE, et précisées par les recommandations de la commission

du 25/01/2002, sont basées soit sur la recherche de la protéine codée par le transgène, soit sur la recherche d'ADN du transgène dans les produits.

La recherche de la protéine suppose que le gène soit exprimé en quantité suffisante pour être détectable par des méthodes immunochimiques et qu'elle n'ait pas été dégradée. Cette méthode est donc réservée à la détection de présence d'OGM dans les produits frais. De plus, par la protéine, il n'est pas possible de déduire quel transgène est présent, car une même protéine recombinante (transgénique) peut être produite par des transgènes différents. Cette méthode a cependant l'avantage d'avoir d'un coût plus faible que les méthodes basées sur la recherche d'ADN. Des tests sont disponibles pour les protéines *Bt* (*Cry1A(b)*, *Cry1A(c)*, *Cry1C, Cry2A, Cry3A, Cry9C*), pour l'EPSPS (détection de la résistance au glyphosate, voir p. 96) et la PAT (détection de la résistance au glufosinate, voir p. 97).

Pour la recherche basée sur la présence d'ADN du transgène, on extrait d'abord l'ADN du produit qui contient le transgène. Si à partir de produits frais, (et de graines en particulier) l'extraction ne pose pas de problème pour obtenir des fragments d'ADN de taille supérieure à celle d'un transgène, il n'en sera pas de même avec des produits transformés. L'ADN extrait à partir de produits transformés, est soit dégradé, soit très difficile à extraire parce qu'il est lié très fortement à certaines molécules. C'est donc essentiellement avant transformation que devront porter les contrôles.

La technique la plus utilisée est basée sur la réaction en chaîne de la polymérase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR™), qui permet d'amplifier un très grand nombre de fois une séquence d'ADN grâce à une enzyme, une polymérase thermophile, dont on pilote l'activité par la température. Cependant il faut disposer d'amorces spécifiques de la séquence d'ADN à amplifier. Si l'objectif est d'identifier le transgène présent, il faut disposer de la séquence du transgène qui a été introduit, or, cette séquence est du domaine de la confidentialité (Bertheau et Diolez, 1999). Il est donc plus facile de répondre à la question de la présence d'un transgène sans l'identifier, au moins pour les premières variétés transgéniques commercialisées. En effet les transgènes utilisés font souvent intervenir le promoteur constitutif P35S du virus de la mosaïque du chou-fleur, ou un terminateur connu de type T-NOS (issu d'*Agrobacterium*), dont on connaît la séquence ; il est donc possible d'en avoir des amorces pour une recherche par PCR. Cependant il est évident qu'une non-amplification ne signifiera pas forcément l'absence d'ADN transgénique si d'autres promoteurs ont été utilisés. À terme, la seule issue pour les contrôles est de disposer d'amorces correspondant aux transgènes « commercialisés ». Pour cela les autorisations de mises sur le marché devraient être accompagnées d'un dépôt d'amorces spécifiques du transgène ou plutôt de l'événement (prévu dans la Directive 90/220/CE). Les séquences les plus utiles sont celles qui font la jonction entre le transgène et le génome de la plante. En effet les séquences de la partie codante peuvent être communes à plusieurs variétés transgéniques. Mais, même les séquences de bordure sont difficiles à obtenir, car si elles sont connues, elles restent confidentielles.

Pour quantifier, c'est-à-dire estimer le pourcentage d'OGM dans un produit, il faut faire appel à la PCR dite quantitative. Cette méthode est basée sur une amplification simultanée de la séquence recherchée et d'une séquence interne témoin : le

rapport des quantités amplifiées de la séquence recherchée et de la séquence interne donne alors le nombre de copies de la séquence recherchée dans l'échantillon étudié. Pour pouvoir passer au pourcentage d'OGM on fait le rapport du nombre de copies de la séquence dans une quantité donnée d'ADN au nombre de copies d'une séquence spécifique de l'espèce étudiée dans la même quantité d'ADN. La technique a beaucoup progressé puisqu'il apparaît possible de détecter dans un mélange OGM + non-OGM, un gramme dans un kilogramme, soit 0,1 %, et même 0,01 % bien que des questions techniques se posent avec le nombre, la taille et la préparation des échantillons. Mais il sera toujours impossible de détecter une séquence inconnue. Dans ce domaine on ne pourra trouver que ce que l'on cherche, ce qui impose de connaître les séquences les plus informatives des événements de transformation obtenus.

La séparation des filières OGM/non-OGM

Le principe du libre choix doit pouvoir s'appliquer tant au producteur qu'au consommateur. Cela conduit donc à envisager la coexistence des filières OGM/non-OGM. Cette coexistence est théoriquement possible si des procédures permettent de limiter la présence accidentelle d'OGM dans les cultures conventionnelles, fermières et biologiques, et si une indemnisation des producteurs est prévue en cas de présence fortuite d'OGM.

La présence fortuite d'OGM autorisés dans des produits issus de cultures non-OGM peut être imputable à des impuretés dans les semences, à une pollinisation croisée, à des repousses provenant essentiellement de précédents culturaux, aux pratiques de stockage et de transport des produits récoltés… Des moyens pour réduire les risques de présence fortuite d'OGM dans des cultures non-OGM sont connus, puisqu'ils sont déjà utilisés dans le cadre de la production de semences pour garantir une pureté variétale : des distances de séparation entre parcelles, des zones tampon, des pièges à pollen, la lutte contre les repousses de précédentes cultures, la rotation des cultures et les calendriers de plantation échelonnés pour garantir un décalage des périodes de floraison, etc.

De nombreuses discussions ont eu lieu sur le seuil de tolérance à retenir au niveau des aliments pour l'homme, entre 1 et 5 %, 1 %, inférieur à 1 %, voire 0 %. Il est évident que plus le seuil est bas, plus il est difficile à garantir. Le seuil 0 % est irréaliste, car il est impossible à garantir. Même les associations de consommateurs ne revendiquent pas un tel seuil : elles demandent seulement une séparation complète des deux filières, filière OGM et filière non-OGM, avec un taux de présence d'OGM dans les produits dits non-OGM le plus bas possible (Philipon, 2001). Le seuil actuellement adopté au niveau européen est de 0,9 %. Un seuil encore plus bas rendrait difficile la coexistence des filières OGM/non-OGM, car il serait impossible à mettre en œuvre par les États membres. Au Japon, le seuil d'étiquetage est de 5 %, avec une exemption d'étiquetage dès lors que le produit ne contient plus de trace de transgène ou de protéines modifiées après transformation (Chevassus-au-Louis, 2001).

Le taux de 0,9 % devrait pouvoir être en général obtenu avec les distances d'isolement déjà utilisées pour la production de semences. Cela revient à moduler les

distances de séparation entre les cultures en fonction des caractéristiques des espèces (voir chap. 5, p. 147). En effet, toutes les espèces végétales n'ont ni la même capacité de pollinisation (avec une faculté de survie du pollen variable d'une espèce à une autre et variable selon les conditions de température et d'hygrométrie), ni la même capacité à disséminer leurs graines (avec des dormances variables).

Coûts et problèmes liés à la coexistence des deux filières OGM/non-OGM

Il n'est pas possible de faire une étude économique rigoureuse du coût de la coexistence des deux filières OGM et non-OGM. En effet, dans aucun pays ces deux filières sont développées de façon significative. Aux États-Unis, la filière OGM est quasiment la seule à être développée, et la filière non-OGM garantie y est minoritaire. En Europe, c'est uniquement la filière non-OGM qui est développée. Pour étudier les coûts du développement des deux filières, les chercheurs en sont réduits à faire de la simulation avec toutefois des données dans certains domaines. Le problème est nécessairement complexe, car il s'agit alors d'étudier une filière, de la production jusqu'à la transformation et l'élaboration d'un produit commercialisé, et cela pour différentes espèces, voire différents types de production à l'intérieur d'une espèce. Les données utiles pour ces études sont celles de l'expérience américaine, de l'expérience européenne (très limitée), mais il est aussi possible de s'inspirer des productions spéciales à l'intérieur d'une espèce comme le maïs *waxy* (riche en amylopectine), le maïs doux, et l'expérience accumulée en production de semences et en agriculture biologique.

Au niveau économique global pour la société, les coûts générés par la coexistence des deux filières peuvent avoir deux origines (Lemarié *et al*., 2001) :
– des coûts de ségrégation pour séparer les produits des deux filières. Il s'agit des coûts des mesures prises pour éviter la présence d'OGM au-delà du seuil de tolérance, de la production à la transformation afin d'éviter tout risque de mélange au cours du process : isolement des cultures non-OGM et spécialisation des équipements de la récolte au traitement industriel qui peuvent être « doublés » ;
– des coûts de garantie, pour assurer qu'un produit qui sera considéré comme ne contenant pas d'OGM en est bien exempt. On trouve ici tous les coûts liés à la mise en place d'une indispensable procédure d'assurance qualité avec en particulier le coût de la traçabilité à tous les stades.

Pour analyser l'origine des coûts, différents niveaux sont à considérer : la production de semences, la production agricole de consommation, la collecte et le stockage, et finalement la transformation.

Problèmes au niveau de la production de semences et de la production de grains de consommation

– Les difficultés de l'isolement des cultures

Au niveau de la production de semences, avec un taux fixé à 1 %, le problème n'est pas nouveau, puisque cela revient à produire une variété, qu'elle soit OGM ou non cela ne change rien, au moins pour certaines espèces, c'est-à-dire pour celles où le taux de pureté variétale est de 99 %. Il sera en général plus facile à respecter pour une espèce autogame (comme le soja) que pour une espèce allogame (le maïs), et

plus facile encore pour une espèce à multiplication végétative (la pomme de terre). Toutefois ce seuil de pureté est défini au niveau phénotypique. Il est probable qu'en passant au niveau moléculaire, comme avec la recherche d'ADN particulier, on révélera un taux de pollinisation illégitime plus fréquent et peut être plus élevé qu'actuellement.

Pour ne pas prendre le risque du déclassement de la production « non-OGM » il faudrait alors être plus exigeant sur les isolements des plantes transgéniques dans l'espace ou dans le temps. On pourra augmenter la dimension des bordures pour piéger le pollen étranger. À l'intérieur d'une zone, il est possible de « jouer » sur les dates de semis et les précocités des variétés ou des géniteurs pour éviter des risques de pollinisation croisée entre isolements de variétés différentes. Mais, cela n'est pas toujours possible ou suffisamment efficace. L'augmentation des distances d'isolement a aussi ses limites. En effet, comme la double filière va augmenter le nombre de variétés à produire, cela rendra la recherche d'isolements favorables à la production de semences beaucoup plus difficile, car ces isolements sont en général concentrés dans seulement quelques régions. La définition des îlots de production deviendra donc plus difficile. Actuellement elle relève pour une grande part de la concertation entre les acteurs concernés, dans le cadre de la loi française 72-1140 du 22 décembre 1972 qui donne pouvoir à l'autorité administrative pour réglementer, limiter ou interdire certaines cultures. En cas de litige, cette loi permet de trancher en faveur du producteur de semences. Qu'en sera-t-il avec des productions non-OGM ? Il est clair que la situation est différente et qu'il faudra revoir la loi de 1972. La production de semences conventionnelles deviendra extrêmement compliquée en cas de coexistence d'une filière OGM et d'une filière non-OGM de taille significative. La séparation géographique complète des productions de semences non-OGM de celles des semences OGM donnerait sans doute plus de souplesse.

La situation est encore plus compliquée si l'on tient compte des cultures destinées à la consommation. En fait, le degré d'exigence des agriculteurs qui souhaitent une production sans OGM étant le même que pour la production de semences, c'est comme si les cultures de chacun de ces agriculteurs correspondaient à une production de semences. Il est bien évident que si l'on imagine que cela puisse représenter 50 % des agriculteurs et que ceux-ci soient répartis au hasard, il n'y aurait pas de solution. De plus, il sera sans doute plus difficile de jouer sur les dates de semis en raison des risques de perte de rendement. Enfin, à la différence de la production de semences, il n'existe pas de cadre réglementaire permettant d'éviter des conflits entre agriculteurs voisins ayant choisi des types de production différents. Les organismes stockeurs pourraient toutefois jouer un rôle de coordination, avec toutes les limites d'une telle coordination en cas de désaccord de certains agriculteurs. La séparation géographique complète des cultures avec variétés transgéniques et variétés conventionnelles donnerait plus de souplesse. Il s'agit de protéger des îlots ou des zones de production non-OGM. Il faudra sans doute une loi pour cela (qui pourrait régler en même temps le problème des productions de semences).

Ainsi, la proposition de la coexistence des deux filières au nom de la liberté des producteurs trouve sa limite même au nom de la liberté des producteurs. La coexistence des deux filières à un niveau significatif ne pourra avoir lieu que si elle est

organisée dans un cadre juridique, ce qui signifie une perte de liberté pour chaque producteur.

Les coûts de production sur l'exploitation seront aussi augmentés par la nécessité de bien nettoyer le matériel si une variété transgénique et une variété conventionnelle sont cultivées sur la même exploitation (ce qui sera à proscrire) ou si l'exploitant fait appel à l'entreprise pour la récolte (qui dans ce cas devra soit investir en temps dans le nettoyage du matériel de récolte, soit avoir deux types de récolteuses dédiées, les unes aux cultures avec variétés transgéniques, les autres aux cultures avec variétés conventionnelles). Ces problèmes trouvent une solution avec la séparation géographique des deux types de culture.

– Les coûts au niveau des organismes stockeurs et transformateurs

Au niveau des organismes stockeurs, le surcoût de la coexistence des deux filières viendra de la nécessité de spécialiser certains équipements pour être en mesure de collecter et de stocker séparément les productions OGM et non OGM. Ainsi par exemple, le nettoyage au niveau du séchoir est difficile à envisager, car c'est une opération longue, qui n'est réalisée que périodiquement dans les grands centres de stockage, en dehors des périodes de récolte. Or il peut rester de nombreuses graines dans un séchoir, en tous cas en quantités suffisantes pour pouvoir conduire à un taux de 1 % d'OGM dans un lot de petite quantité non-OGM. La seule solution technique est d'avoir un deuxième séchoir, ce qui va contribuer à augmenter fortement le coût du stockage. Le problème se pose toutefois en des termes différents selon les espèces. En effet, un organisme stockeur collecte les productions de plusieurs espèces cultivées dans une zone. Ainsi, le maïs est pratiquement la seule espèce à être récoltée en octobre (voire novembre) ; dans ce cas la gestion de deux types de productions est possible ; en revanche la gestion de la collecte et des installations sera beaucoup plus difficile en début d'été avec les productions de colza qui peuvent se superposer avec les productions d'orge, voire le début de la récolte des blés. La solution sera donc dans un surdimensionnement de la capacité de collecte et de traitement de cette collecte, ce qui entraînera un surcoût important. La spécialisation des sites, certains spécialisés OGM, d'autres spécialisés non-OGM, favorable à la diminution des risques de mélange de graines des deux types de production peut être une solution pour éviter une trop forte augmentation des coûts de production et de collecte.

À ces surcoûts de collecte et de stockage, s'ajoutent les coûts de garantie. En effet l'organisme stockeur doit être sûr qu'une récolte livrée non-OGM respecte bien la norme, et il doit le savoir dans un temps très court pour éviter de mélanger des productions qui ne seraient pas toutes non-OGM. Pour limiter les risques, cela implique que la production soit faite sous contrat précisant les conditions de production, de l'origine des semences jusqu'à la récolte, en passant par les conditions d'isolement. L'organisme stockeur devra alors vérifier l'application de ce contrat et si besoin prélever avant la récolte un échantillon représentatif pour les analyses de présence éventuelle d'OGM. Des tests rapides (en 10-15 mn) de présence qualitative d'OGM, basés sur la présence de la protéine recombinante, sont déjà disponibles pour certaines variétés de soja ou de maïs. Si le test n'est pas possible avant la récolte, cela va encore compliquer celle-ci. Remarquons que, à part le prélèvement avant la récolte, qui peut être très lourd, les autres opérations

correspondent exactement à ce qui est fait pour la production de semences. Mais alors cela contribue à une augmentation très significative des coûts des grains de consommation.

Au niveau de la transformation, des procédures ont déjà été mises en place pour écarter ou bien séparer les productions OGM et les productions non-OGM. Ici, le contrôle est plus aisé à faire que dans la situation inconfortable de l'organisme stockeur. Pour les transformateurs, refusant les productions OGM, les coûts sont essentiellement des coûts de garantie pour s'assurer de l'absence d'OGM. La situation actuelle correspond donc à une séparation entre OGM et non-OGM.

L'importance des seuils de présence fortuite d'OGM

L'importance des seuils a été étudiée dans le cadre d'un programme Inra « Pertinence et faisabilité d'une filière sans OGM », mené avec la participation de la FNSEA, l'Acta, le Cetiom, l'AGPM, l'Actia, et les pouvoirs publics (DPE et DGAL) (Valceschini, 2001). Nous en reprenons dans ce qui suit les principales conclusions. Deux paramètres sont essentiels, l'importance des cultures sans OGM et le seuil de tolérance pour la présence fortuite d'OGM.

Si les cultures OGM sont minoritaires (situation française actuelle), il apparaît que :
– avec un seuil à 5 %, facile à respecter, il n'y aurait pas de problèmes de contrôle et il n'y aurait pas de surcoût des produits au niveau du consommateur, car ceux-ci sont déjà plus ou moins pris en charge par les filières ;
– avec un seuil à 1 %, il faut mettre en place une organisation particulière pour la production et la collecte, avec des mesures d'isolement ou de ségrégation à prendre selon les espèces, ce qui se traduira par des surcoûts non négligeables au niveau de ces étapes ; en revanche le produit fini sera peu affecté ; toutefois, quelques produits disparaîtront du marché, car ils ne pourront pas, de façon économique, être garantis à moins de 1 % ;
– avec un seuil à 0,1 %, la détection elle-même commence à poser des problèmes (échantillonnage, nombre d'échantillons) et les procédures de traçabilité deviennent lourdes. Il faut un contrôle rigoureux sur les semences, les contraintes d'isolement deviennent très fortes, avec des mesures qui doivent être renforcées, et les collectes doivent être totalement séparées. Par rapport au seuil 1 %, les surcoûts seraient multipliés par 4 à 6. On assisterait alors à la disparition de nombreux produits, les plus coûteux à contrôler.

Un seuil en-deçà de 0,1 % n'a clairement aucun sens : il sera très difficile à garantir, donc très coûteux, il faudrait fermer les frontières aux semences, avoir des productions de semences complètement isolées de toute culture de la même espèce, avec une séparation géographique des deux types de culture (OGM et non-OGM) et des circuits de collecte et de transformation complètement séparés. De nombreux produits disparaîtraient et les filières seraient très déstabilisées.

Si les cultures OGM sont aussi importantes que les cultures non transgéniques, ce qui est la situation du continent nord-américain aujourd'hui, il faudrait des filières séparées, de la production jusqu'à la transformation. Les coûts de ségrégation augmenteraient donc très fortement. En revanche, les coûts fixes se répartiraient équitablement entre les deux filières. Là encore, des seuils de tolérance très faibles (0,1 % et moins) ne seraient pas économiquement tenables.

Exemples d'études des surcoûts d'une production non-OGM

Pour illustrer les surcoûts d'une production non-OGM, nous allons considérer deux études, l'une, réalisée par la Communauté européenne en 2002 (par l'IPTS), au niveau des exploitations agricoles pour la production de blé, de colza et de maïs, l'autre aux États-Unis, au niveau de la filière « *Identity preservation* » du soja (encadré 6.3).

Dans l'étude de la Communauté européenne, plusieurs types de production ont été envisagés : production conventionnelle intensive ou non intensive, production biologique, avec un seuil de tolérance d'OGM de 1 % pour le maïs grain et la pomme de terre de consommation et 0,3 % pour le colza. Les résultats principaux des « simulations » de cette étude, basés sur les résultats de différents types de fermes, sont donnés dans le tableau 6.1 seulement pour la production bio et la production conventionnelle intensive. Les surcoûts culturaux sont dus aux contraintes d'isolement, les coûts de monitoring recouvrent tous les frais de gestion (y compris audit externe), traçabilité, et contrôles. Dans cette étude, l'ensemble des surcoûts est affecté à la filière non-OGM, ce qui est bien sûr discutable, mais permet d'avoir un ordre de grandeur de ces surcoûts.

Tableau 6.1. Simulation des surcoûts pour différents types de productions garanties non-OGM (d'après études IPTS, 2002).

	Colza 0,3 %		Maïs 1 %		Pomme de terre 1 %	
	Semences convent.	Semences Bio	Culture convent.	Culture Bio	Culture convent.	Culture Bio
Techniques culturales (euros/ha)	0	194,3	45,4	0	0	0
Monitoring (euros/ha)	106,8	112,1	46,2	90,8	41,5	59,3
Assurance (euros/ha)	20,2	38,7	3,0	36,7	11,6	142
Coût total (marge brute %)	127 (12,9)	345 (35,2)	95,6 (9,9)	127 (7,4)	53,1 (2,3)	201 (3,9)
Coût/tonne (% prix/tonne)	36,3 (9,8)	150 (20,3)	9,3 (9,5)	14,2 (6,2)	1,3 (1,4)	8,0 (2,9)

Cette étude montre que pour le maïs grain (alimentation animale), en culture conventionnelle l'augmentation des coûts de production est de 9,9 % de la marge brute. En production bio même si la répartition des surcoûts est différente, le surcoût n'est que de 7,4 %, car il n'y a pas de surcoût dû aux conditions d'isolement. Pour le colza en production de semences certifiées conventionnelles, le surcoût atteint 12,9 % de la marge brute, mais en culture bio il atteint 35,2 %, ce qui est la part la plus élevée observée dans les simulations réalisées. La part la plus faible est évidemment avec la pomme de terre (de consommation), car il n'y a aucun surcoût au niveau des techniques culturales. La figure 6.1 montre que les coûts de monitoring + assurance, quelle que soit l'espèce, représentent au moins autant (cas des semences de colza bio) et beaucoup plus que les surcoûts des techniques culturales (nuls pour la pomme de terre, le maïs bio et les semences conventionnelles de colza).

Encadré 6.3. Exemple des surcoûts dans la filière américaine soja d'exportation dite « Identity Preservation » (*in* Valsceschini, 2001)

La filière « *Identity Preservation* » (IP) aux États-Unis comprend toutes les opérations et tous les dispositifs nécessaires pour assurer qu'une production végétale ne contienne pas d'OGM et que cette caractéristique soit préservée au long de la chaîne de production et de transformation. Son étude économique montre nettement que les surcoûts affectent les étapes en amont : essentiellement la production agricole, la commercialisation et la trituration, les coûts de contrôle les plus forts étant pour la production agricole. Avec un seuil de 1 %, le surcoût est de 6,5 % de la valeur du produit à l'étape de la production agricole (5-6 euros/tonne) et de 14 % à celle de la trituration (fig. 6.2). On peut remarquer que le surcoût pour la production agricole est du même ordre que celui des études IPTS (2002) chez le maïs ou le colza conventionnel. Avec un seuil de 0,5 %, les surcoûts au niveau de la production agricole et de la trituration sont multipliés respectivement par 4 et par 2. À noter que les surcoûts pour la production agricole étaient dus, pour une part importante, à des coûts logistiques. En fin de filière, il y a toujours une dilution importante avec une augmentation des coûts de 1 à 3 % seulement. Le nombre de gènes à contrôler a un impact, essentiellement à l'étape de la trituration où, pour un seuil de tolérance de 1 %, on passe de 14 à 22 % de surcoût. Cet exemple apporte donc des éléments sur le coût d'une filière de spécialité soja. Pour des produits transformés industriellement, les éléments en amont de la chaîne restent valables, mais dans les stades en aval, les coûts de traçabilité seront plus importants du fait de la multiplicité des produits impliqués dans le processus de production (*in* Valceschini, 2001).

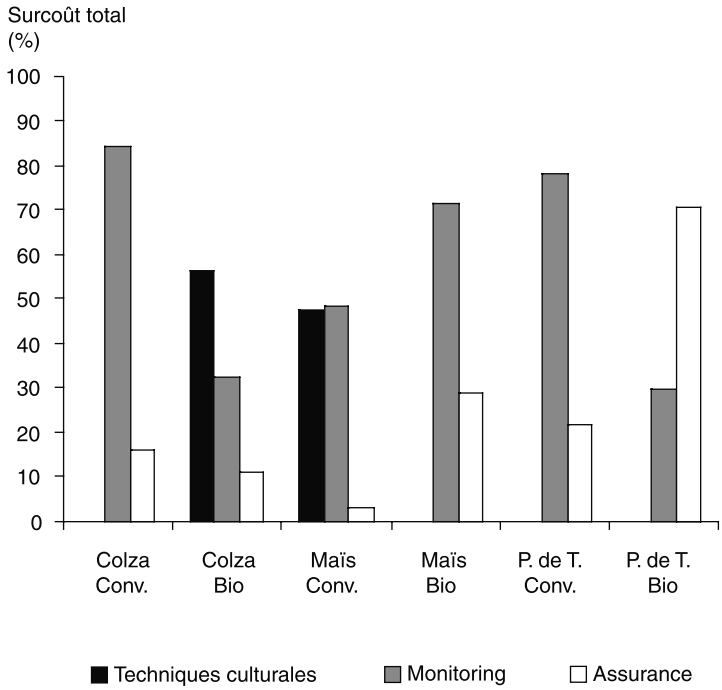


Figure 6.1. Valeurs relatives de trois types de surcoûts pour des productions garanties non-OGM. Seuils de tolérance 1 % pour le maïs et la pomme de terre, 0,3 % pour les semences conventionnelles (conv.) de colza (d'après études IPTS, 2002).

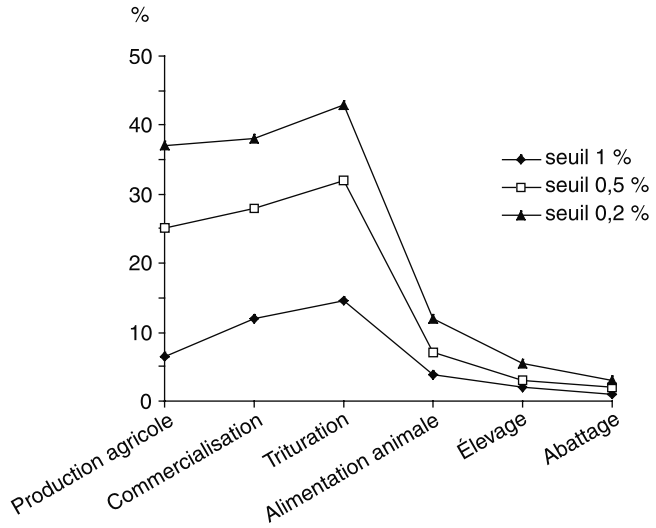


Figure 6.2. Importance des surcoûts (en % de la valeur du produit) dans une filière de production de soja non-OGM (filière « Identity Preservation » d'exportation du soja américain, d'après Valceschini et Avelange, *in* Valceschini, 2001).

Conclusion

Les études économiques dépendent fortement des hypothèses faites. S'il y a une augmentation très significative des coûts de production par la coexistence des deux filières, ces surcoûts se situent surtout en amont des filières, au niveau de la production, la collecte, le stockage et la première transformation. L'impact de ces coûts de ségrégation et de garantie diminue lorsqu'on s'éloigne de la source, et finalement, en aval, au niveau du consommateur, il pourrait être assez faible. Aujourd'hui, avec un faible développement des variétés transgéniques, ces coûts sont déjà plus ou moins intégrés dans les prix. Cependant, avec un développement des variétés transgéniques, au niveau économique global de la société, le problème est de savoir si ces surcoûts de séparation des filières ne vont pas annuler les bénéfices attendus par la culture des variétés transgéniques. De toute façon, il y aura une diminution de ces bénéfices et il pourrait même y avoir un bilan négatif. Donc, par rapport à une culture transgénique (situation américaine), il y aura une perte de profit, ce qui défavorise une agriculture faisant le choix d'une double filière. Alors la coexistence des deux filières est-elle une utopie, n'y a-t-il pas d'autres solutions entre le tout OGM avec une production mineure non-OGM et le tout non-OGM ?

Chapitre 7

Sur les raisons du refus des plantes transgéniques et ses conséquences

Par rapport aux chapitres précédents, de nature scientifique, technique ou réglementaire, ce chapitre fait apparaître des dimensions sociales, éthiques et politiques au non-développement des plantes transgéniques en France et en Europe. Il renvoie à ces chapitres pour plus de détails sur les exemples pris. Nous donnons une analyse des controverses sur les plantes transgéniques suite à notre participation à de nombreux débats publics sur les plantes transgéniques et aussi suite aux nombreuses discussions avec nos étudiants de l'Ina P-G. Le point de vue présenté est celui de biologistes, agronomes et généticiens à l'écoute de la société, et non celui de spécialistes des sciences sociales.

Dans une enquête Eurobaromètre 55.2 « Les Européens, la science, et la technologie » réalisée en décembre 2001 à la demande de la direction générale de la recherche de la Commission européenne, à la question « Êtes-vous d'accord ou pas avec l'affirmation sur les aliments transgéniques "je ne veux pas ce type d'aliment" ? », 71 % des Européens ont répondu ne pas en vouloir et seulement 17 % en voulaient bien (Bonny, 2003). Dans cette enquête qui a porté sur 16 029 personnes (en moyenne 1 000 par État membre), on remarque que la variation entre pays est bien plus forte que la variation selon des critères socio-démographiques comme l'âge, le sexe, le niveau d'instruction, la profession… Ainsi la Grèce est le pays le plus opposé avec 93 % des personnes interrogées opposées et les Pays-Bas sont le pays le moins hostile avec seulement 52 % d'opposition. La France, avec 79 % des personnes interrogées opposées aux aliments transgéniques, figure parmi les pays les plus hostiles, juste derrière la Grèce. Il n'y a pas de déterminants géographiques manifestes dans l'opposition aux aliments issus de plantes génétiquement modifiées, même si l'on peut regrouper quelques pays comme la Finlande et la Suède avec 77 % d'opposition et la Grande-Bretagne, l'Irlande, les Pays-Bas et la Belgique avec en moyenne 60 % d'opposition (fig. 7.1). Cette grande variation entre pays et la plus faible variation entre catégories socio-démographiques tend à montrer un fort effet de la vie sociale et politique à l'intérieur de chaque pays sur la position des consommateurs. Il serait sans doute instructif de comprendre les raisons de la forte différence

entre la France et les Pays-Bas. Comme l'ont souligné Cheveigné *et al*. (2002), et nous le verrons dans ce qui suit, il faut les chercher au niveau des différences culturelles, mais aussi au niveau des différences dans les débats publics, dans l'intervention des gouvernements, voire dans le développement économique…

Dans cette même enquête 56,4 % des européens interrogés considéraient les aliments contenant des OGM comme dangereux pour leur santé (avec toutefois 26,5 % sans opinion) et 59,4 % répondaient que les plantes transgéniques auraient des effets négatifs sur l'environnement. Cela peut donc traduire un rejet des plantes transgéniques par suite de crainte pour la santé et l'environnement. Cependant, le rejet des plantes transgéniques en Europe apparaît lié au rejet des biotechnologies dans leur ensemble. Ainsi, au niveau mondial, une enquête *Environics International* réalisée en 2000 (citée par Le Déaut, 2005) montrait que 72 % des Chinois, 69 %

Figure 7.1. L'opposition aux aliments OGM dans les pays de l'Europe (Eurobaromètre 55.2, 2001).

des Indiens, 66 % des Américains considèrent que les avantages des biotechnologies sont plus importants que les risques, alors que ces chiffres étaient de 39 % pour les Espagnols, 34 % pour les Italiens et seulement 22 % pour les Français. Dans cette enquête, il apparaissait aussi le comportement particulier des Pays-Bas, par rapport aux autres pays de l'Europe, avec un taux de 55 %.

Certes, les résultats de toute enquête sont à prendre avec beaucoup de précaution, car nombre de facteurs, en particulier des facteurs psychologiques, sociaux et culturels peuvent influencer la perception des risques par le public interrogé (Slovic, 1987 ; P.B. Joly, communication personnelle). L'enquête Eurobaromètre 55.2 signifie seulement que, *a priori*, avec les questions posées, sans plus d'informations, une majorité des Français apparaît plutôt opposée à consommer des aliments transgéniques et considère les plantes transgéniques plutôt dangereuses pour la santé et pour l'environnement. D'autres techniques de questionnement (entretiens, groupe de discussion, focus group…), voire avec des questions formulées autrement, auraient sans doute conduit à un autre résultat (Joly, 2005). Dans ce chapitre, nous allons nous interroger sur les raisons possibles de cette réaction *a priori* d'opposition aux plantes transgéniques dans la plupart des pays de l'Europe et particulièrement en France, alors que d'autres modifications génétiques plus importantes employées en sélection ont été acceptées par le public.

Ainsi, chez les plantes nous avons vu dans le chapitre 2 des exemples de modifications génétiques majeures qui n'ont pas entraîné de réaction de rejet de la part du public :
– la fabrication d'une espèce nouvelle, le triticale,
– l'échange de gènes par des croisements entre espèces quelquefois assez éloignées et selon des méthodes peu « naturelles » (exemple du blé résistant au piétin verse, voir p. 46),
– la modification des niveaux de ploïdie, avec en particulier la création de variétés autotétraploïdes, obtenues par doublement du nombre chromosomique.

Chez les animaux, on pourrait aussi citer le mulet et les huîtres triploïdes, comme les truites (Houdebine, 2003). Nous consommons très souvent, sinon tous les jours, des produits issus d'organismes qui ont été transformés par des techniques aussi artificielles que la transgénèse. De plus, des micro-organismes génétiquement modifiés sont utilisés en agroalimentaire pour produire certaines enzymes et surtout en industrie pharmaceutique pour produire des substances importantes pour la santé (voir chap. 1).

Comment alors expliquer cette situation ? Nous allons essayer de discuter plusieurs raisons d'une réaction négative à l'égard des plantes transgéniques, avant d'en analyser les conséquences et les conclusions à en tirer sur les formes de régulation sociale et politique des innovations biotechnologiques.

▸▸ Les raisons de la non-acceptation des plantes transgéniques

Nous présentons ici les principales raisons invoquées du refus des plantes transgéniques, sans vraiment les hiérarchiser selon leur importance, telles que nous les

avons perçues dans les débats et discussions auxquels nous avons participé et en fonction d'analyses déjà faites par différents auteurs. Ces raisons sont de natures variées et concernent :
– le peu d'avantages pour le consommateur des variétés transgéniques actuellement commercialisées par rapport aux risques potentiels (balance bénéfices/risques),
– les risques potentiels des plantes transgéniques, avec la mise en œuvre du principe de précaution et le refus de tout risque, dans un contexte de crise sanitaire après les affaires du sang contaminé et de la « vache folle »,
– la gestion sociale de l'innovation, avec un déficit d'information, une communication non équilibrée, des faits souvent déformés par les médias et les associations opposées aux OGM, des choix politiques pas toujours clairs, et la perte de confiance dans certains acteurs (chercheurs, agriculteurs, agro-industriels et décideurs politiques),
– la méfiance à l'égard de la transgénèse due à la crainte des modifications du vivant et de la nourriture, et le refus d'une artificialisation trop poussée du vivant et de l'agriculture,
– les raisons politiques et socio-économiques, avec la crainte de la concentration du pouvoir sur le vivant, et la recherche d'un autre type d'agriculture.

Ces différentes raisons ne sont évidemment pas indépendantes entre elles et sont plutôt à considérer simultanément. Nous présentons d'abord les raisons liées à la perception des avantages et des risques pour considérer ensuite les raisons socio-économiques, politiques et idéologiques.

Peu ou pas d'intérêt des variétés transgéniques actuellement commercialisées

Les principales critiques formulées sur les variétés transgéniques portent sur les transgènes actuellement largement utilisés au stade commercial (résistance aux insectes et résistance aux herbicides) qui ne présenteraient pas d'intérêt direct pour les consommateurs et ne seraient guère justifiés pour les agriculteurs.

Pour les consommateurs, en effet, si ces transgènes étaient transférés à des espèces fruitières ou légumières, la qualité gustative ou nutritionnelle ne serait pas améliorée, et il n'est pas évident que le prix de vente serait inférieur. Le fait d'avoir des grains sans mycotoxines (comme avec le maïs *Bt*), des fruits ou des légumes plus sains parce que moins traités par des pesticides n'est que peu considéré. Ainsi dans l'enquête Eurobaromètre 52.1 (2000), on observe le même taux de réponses (33-35 %) en faveur de la protection des plantes contre les dégâts des insectes par des insecticides et par la création de variétés transgéniques résistantes aux insectes. On peut toutefois noter que dans l'enquête Eurobaromètre 58.0 (Gaskell *et al*., 2002) l'argument le plus convaincant pour l'achat d'aliments issus de plantes génétiquement modifiées était le bénéfice pour la santé dû à une présence moindre de pesticides. Quant à l'intérêt possible pour l'environnement des variétés résistantes aux insectes ou à d'autres ravageurs (bactéries, champignons, virus), il n'est, lui aussi, pas très perçu par les consommateurs qui pourtant se déclarent souvent soucieux de la protection de l'environnement. Dans l'enquête Eurobaromètre précédente, le bénéfice possible pour l'environnement apparaît toutefois juste après le bénéfice pour la santé.

Pour susciter l'intérêt et la confiance des consommateurs, la mise au point des variétés transgéniques présentant un intérêt direct pour eux, avec une nette amélioration de la qualité (nutritionnelle et organoleptique), voire une diminution du prix, serait indispensable. On peut en effet remarquer qu'en 1996 lorsque la chaîne de distribution *Sainsbury and Safeway* a mis sur le marché britannique le concentré de tomate génétiquement modifiée à un prix inférieur aux produits concurrents, celui-ci s'est bien vendu malgré la mention « issu de tomates génétiquement modifiées ». Ces nouvelles variétés transgéniques dites de 2e génération seraient sans doute déjà arrivées si en Europe les travaux sur les variétés transgéniques n'avaient pas été bloqués. L'Europe est en effet plus sensible que les États-Unis à la notion de qualité nutritionnelle et organoleptique des aliments. Cela ne signifie pas toutefois que de tels produits, s'ils apparaissaient maintenant, seraient acceptés. En effet, depuis 1996, le débat sur les variétés transgéniques a pris une dimension à la fois culturelle, éthique et socio-économique qu'il n'avait pas alors. Ainsi, l'enquête Eurobaromètre (2001) montre que les consommateurs ne seraient pas prêts à accepter une amélioration de la qualité des fruits ou des légumes par transgénèse (39 % des personnes interrogées trouvent cela utile, contre 48 % en 1997).

En ce qui concerne l'intérêt pour l'agriculture l'enquête Eurobaromètre (2001) montre là aussi une évolution : en 2000 seulement 57 % des réponses considéraient comme utile le fait d'obtenir des plantes résistantes aux insectes par transgénèse, alors qu'il y en avait 71 % en 1997. Si le manque d'intérêt direct pour les consommateurs des variétés transgéniques actuelles peut être compris, en revanche, la faible perception de leur intérêt possible pour les agriculteurs renvoie notamment à un problème d'information. Comme nous l'avons vu au chapitre 4, il apparaît que certaines d'entre elles, dans certaines conditions, présentent un intérêt économique, et qu'elles permettraient de sécuriser la production et simplifier le travail des agriculteurs. La vitesse de développement des variétés transgéniques aux États-Unis et dans le monde d'une façon plus générale, est bien une preuve de leur intérêt. Mais, en France, ces gains possibles pour les agriculteurs ne sont guère considérés par la société civile qui ne soutient pas particulièrement l'agriculture, perçue comme trop productiviste, polluante et responsable d'épidémie animale comme celle de l'ESB. Dans ce contexte, la transgénèse est perçue comme un moyen supplémentaire d'augmenter la productivité, d'où son refus par une partie des citoyens. Pourtant, nous avons vu que la création de variétés par la transgénèse pourrait être un outil, combiné à d'autres, pour une agriculture durable, permettant aux agriculteurs de vivre de leur métier, tout en étant respectueuse de l'environnement et en commercialisant des produits de qualité. Que ferait-on si une maladie grave ou un ravageur nouveau apparaissait sur une plante cultivée importante ? Les variétés transgéniques seraient alors fort utiles pour éviter des traitements insecticides polluants, détruisant toute faune dans la culture. Les pays ayant opté pour les plantes transgéniques auraient un avantage économique important, car ils pourraient répondre assez rapidement au problème.

Pour faciliter l'acceptation des plantes transgéniques, une solution serait aussi de développer des variétés transgéniques dont on ne consomme pas les produits, et présentant un avantage assez net pour l'environnement. Il pourrait s'agir par exemple de variétés transgéniques pour des usages non alimentaires afin d'avoir une industrie moins polluante (pour la fabrication du papier) ou une énergie

renouvelable (carburant vert, diester ou bio-éthanol), voire pour la production de molécules à usage médical (vaccins, hormones, enzymes).

Les risques et le principe de précaution

La perception de la notion de risque

La façon dont le public appréhende et accepte un risque est complexe (Slovic, 1987). La notion même de risque associé à un événement est souvent mal perçue. Dans bien des cas le public ne retient que l'effet négatif qu'aurait l'événement mais non sa probabilité, ce qui conduit à surestimer son impact possible (voir chap. 5). Il est vrai que dans le cas des plantes transgéniques, cette probabilité est souvent inconnue, difficile à estimer, car elle est très faible. De plus, il y a la croyance que le risque zéro pourrait exister, alors que, quelle que soit la situation ou la technique, cela n'existe pas. Du point de vue scientifique, l'absence totale de risque ne peut pas se démontrer ; des risques existent partout, dans toute activité, le problème est de bien les hiérarchiser et de savoir les gérer et les maîtriser.

Les risques pour la santé

Les risques pour la santé (risque de toxicité, risque allergique, risque nutritionnel) sont souvent les premiers avancés alors qu'ils sont les mieux maîtrisés, avec toutes les précautions mises en place sous le contrôle de la CGB et de l'Afssa (voir chap. 4). Avec les tests sur des animaux de laboratoire le risque toxique est fortement limité (voir p. 177). Le risque d'allergie, qui existe avec toute innovation alimentaire, devrait rester exceptionnel ; il n'est pas totalement prédictible avec les tests chimiques ou biochimiques et les tests sur animaux sont insuffisants, mais la combinaison des deux doit contribuer à le limiter fortement. Enfin, les risques éventuels associés à l'utilisation des gènes de résistance aux antibiotiques (comme marqueurs de sélection des transgènes) disparaissent, car, à la suite des débats sur cette question, ces gènes marqueurs sont maintenant interdits au niveau de la France et de l'Europe ; ils peuvent être assez facilement éliminés après transformation des plantes (voir chap. 3).

D'ailleurs, de façon synthétique, aucune étude scientifique n'a pu établir de nocivité sanitaire spécifique aux variétés transgéniques, à partir des variétés transgéniques commercialisées. Depuis dix ans de commercialisation de produits transgéniques aux États-Unis, aucun effet négatif sur la santé n'a pu être mis en évidence à partir de variétés transgéniques autorisées pour la consommation humaine, alors que dans la même période, le tabac et l'automobile ont eu de lourds impacts. Une certaine analogie peut d'ailleurs être faite entre ces deux « innovations » et les plantes transgéniques : elles imposent aux non-utilisateurs leurs effets négatifs, comme les produits issus de plantes transgéniques risquent de s'imposer à ceux qui ne voudraient pas les consommer s'il n'y a pas séparation des filières de production. Cependant avec le tabac et l'automobile, il existe une certitude d'effets négatifs sur la santé, avec des effets à long terme sans doute irrémédiables, alors que dans le cas des plantes transgéniques, ces risques ne sont pas toujours démontrés et que tout est fait pour les éviter (voir chap. 6).

Les risques pour l'environnement

Nous avons vu que ces risques concernent surtout le passage de transgènes à la flore sauvage et aux cultures de la même espèce que les variétés transgéniques, essentiellement dans le cas d'espèces à fécondation croisée. Il faut être très vigilant pour ces espèces et, pour les risques par rapport à la flore sauvage, bien étudier si le transgène peut présenter un avantage sélectif quelconque. Les impacts potentiels sur l'environnement ne sont pas intrinsèques aux variétés transgéniques ; ils sont identiques à ceux posés pour toute variété améliorée pour les mêmes caractères que celui apporté par le transgène. Il faut interdire les variétés présentant des risques, mais ne pas s'opposer aux variétés ne présentant aucun risque ou un risque maîtrisable dans la mesure où elles apportent un caractère intéressant. Dans ce but, la CGB examine chaque nouvelle demande de dissémination d'un OGM dans l'environnement, et si besoin fait réaliser de nouvelles études pour mieux évaluer les risques potentiels. Elle fait alors des propositions d'autorisation ou de refus de commercialisation de la variété transgénique étudiée. Enfin, les mesures de biovigilance mises en place permettent le suivi des impacts sur l'environnement du développement de cultures transgéniques, avec la possibilité d'arrêt immédiat des plantes transgéniques révélant le moindre problème.

Que ce soit pour la santé ou pour l'environnement les risques ne peuvent se raisonner qu'au cas par cas, espèce par espèce, transgène par transgène, et en fonction des agrosystèmes. Il n'existe pas de conclusion générale propre à toutes les plantes transgéniques. Aussi faut-il se garder d'extrapolation hâtive à partir de cas particuliers, ce qui n'est pas toujours fait.

La méconnaissance de la balance bénéfices/risques et le refus de tout risque

L'acceptation d'une nouvelle innovation repose sur une évaluation plus ou moins explicite de son utilité, des bénéfices et des risques associés. Une personne prend facilement un risque si elle juge assez faible la probabilité de l'événement négatif associé à l'innovation, et si des avantages compensent ce risque. Cela implique de connaître la probabilité de l'événement négatif. Pour les variétés transgéniques, le problème est que cette probabilité n'est pas exactement connue (car faible ou très faible donc difficile à estimer) et la non observation de résultats démontrant un risque n'est pas considérée comme une preuve d'absence de risque. Certes, d'un point de vue scientifique, l'absence de preuves de nocivité ne peut pas être vue comme une preuve d'innocuité, mais elle ne peut pas non plus être considérée comme une preuve de nocivité. Dire que le risque zéro n'existe pas ne signifie pas que l'on reconnaisse un risque. L'absence de preuves doit seulement conduire à la prudence et au raisonnement au cas par cas sur les risques possibles, afin de mettre en place une expérimentation pour tenter de les évaluer. L'application du principe de précaution suppose aussi d'apprécier ces risques relativement aux autres risques existant par ailleurs et de les mettre en face des résultats escomptés. On peut par exemple se demander si les risques associés à l'usage des pesticides ou à l'état sanitaire de certains aliments sont bien évalués, en comparaison des grandes précautions prises à l'égard des variétés transgéniques. Les plantes

transgéniques font en effet l'objet d'évaluations nombreuses et parmi les plus poussées en l'état actuel des connaissances scientifiques et techniques.

Cependant, malgré toutes les précautions prises, avec les variétés transgéniques actuelles, le citoyen juge souvent les risques non nuls pour un intérêt non évident, aussi les accepte-t-il difficilement (Cheveigné *et al.,* 2002). Le fait que l'acceptation des risques associés aux plantes transgéniques dépende des avantages qu'ils apportent est bien illustré par l'acceptation des plantes transgéniques pour la production de substances pharmaceutiques et plus généralement l'acceptation des biotechnologies à des fins médicales. Une enquête réalisée en France par Ipsos (AMGEN 2002, in Bonny, 2003) montre que 29 % des Français pensent que les plantes transgéniques peuvent être utiles pour l'alimentation et l'agriculture (ce qui est cohérent avec l'étude Eurobaromètre montrant 70 % contre), mais 70 % sont en faveur de la production de substances pharmaceutiques par génie génétique.

Le risque et les innovations

Après une forte croyance dans le progrès technique (de 1950 à 1990), suite à différents accidents (Tchernobyl, le sang contaminé, la vache folle), selon certains sociologues, nous serions entrés dans une société qui refuse le risque (Salomon, 1994 ; Beck, 2001). Mais qui est prêt à renoncer au progrès ? Un progrès, suite au développement d'une innovation, n'est possible que par la prise d'un minimum de risques à un moment donné. Si le principe de précaution, tel qu'il tend à être mis en place aujourd'hui, l'avait été il y a un siècle, nous n'aurions pas connu le développement de la voiture, ni du train, et encore moins de l'avion et notre espérance de vie serait sans doute encore réduite à 45 ans. Bloquer complètement l'innovation revient à bloquer le progrès. Or, une société sans innovation est une société qui régresse ou se condamne. Les sociétés acceptant une innovation seront les premières à bénéficier de ses améliorations, d'autant qu'une innovation aujourd'hui peut amener d'autres possibilités demain. De ce point de vue, les plantes génétiquement modifiées d'aujourd'hui ne sont sans doute qu'une étape nécessaire pour mieux utiliser la variabilité génétique dans l'intérêt du consommateur ou plus généralement de l'utilisateur. Aux politiques de savoir gérer en responsables ce type d'innovations biotechnologiques en protégeant le citoyen des risques potentiels tout en stimulant le progrès. Le principe de précaution doit être interprété comme un principe d'action responsable et non comme un moyen pour bloquer les innovations.

La non séparation des filières (voir chap. 6)

L'enquête Eurobaromètre 55.2 (2001) montrait que 94,6 % des Européens souhaitaient avoir le droit de choisir entre un aliment OGM et un aliment non-OGM. Or, en l'absence de séparation des filières non-OGM et OGM, les transgènes d'une culture d'une variété transgénique pourraient se retrouver dans les cultures non transgéniques et leurs produits (par la pollinisation entre les deux types de cultures et par le mélange des deux types de grains) ; les risques sanitaires éventuels associés aux variétés transgéniques seraient alors imposés à tous les consommateurs. Cette perspective entraîne une réaction négative des consommateurs désirant rester libres de leur choix de type d'aliment et une réaction de blocage de la culture des variétés

transgéniques par les partisans d'une filière non-OGM. Si ce problème peut être résolu, avec une définition claire de la responsabilité en cas de contamination et avec une possibilité d'assurance, certains producteurs ne s'opposeront pas forcément aux variétés transgéniques même s'ils n'en cultivent pas. De plus, avec un étiquetage clair, les consommateurs pourront choisir le type d'aliments qu'ils veulent consommer, avec ou sans OGM ; cela pourrait favoriser l'acceptation des plantes transgéniques.

La gestion sociale de l'innovation

Le déficit d'information et de communication

La communauté scientifique est restée relativement silencieuse dans la controverse sur les plantes transgéniques qui s'est développée à partir de 1997, malgré une forte médiatisation. Les organismes publics de recherches (Inra, Cnrs, Cirad) n'ont pas suffisamment communiqué ou su communiquer sur le sujet. Le rapport de l'Académie des sciences (2002) et celui de l'Académie nationale de médecine et de l'Académie nationale de pharmacie (2003) sont sans doute arrivés un peu tardivement, les chercheurs eux-mêmes ne sont pas assez intervenus pour tenter d'informer sur le sujet. Il est vrai que pour les chercheurs, la communication vers le public est un art difficile et ils n'y sont pas toujours préparés, la recherche n'étant pas très médiatique. Souvent dans les débats avec différents représentants de la société, la discussion dévie sur des aspects économiques, éthiques ou politiques, certes importants à considérer, mais qui occultent les aspects biologiques et techniques, d'où un sentiment de malaise des chercheurs participant à ces débats. De ce fait ceux-ci ont été souvent déséquilibrés, ne portant que sur les risques, avec un défaut d'information sur divers aspects scientifiques.

Les médias de leur côté, pour capter plus de lecteurs ou d'auditeurs ont tendance à dramatiser et privilégient ce qui est mauvais ou peut être mauvais pour notre société (information négative), aux dépens de ce qui est bon (information positive). La compétition entre médias accentue cette tendance (Champagne, 2002). Ainsi sur le sujet des plantes transgéniques, la communication a beaucoup porté sur les risques éventuels, en évoquant à peine les avantages. Les articles de presse à large diffusion ou les émissions de télévision donnant une information assez claire sur les avantages et les risques des variétés transgéniques ont été rares. L'information fournie paraît souvent incomplète, voire partiale. Ce constat n'est d'ailleurs pas particulier au problème des OGM, il est valable pour tous les grands débats scientifiques et technologiques. Les médias ne contribuent guère à développer ou entretenir une culture scientifique et technologique, avec la rigueur du raisonnement et l'esprit critique. À notre époque où les progrès dans les connaissances et leurs applications sont considérables, un tel rôle est pourtant indispensable pour éviter un certain rejet de la science et de la technologie par les citoyens qui se posent des questions sur les risques engendrés par le progrès.

Influence des associations opposées aux OGM

Les associations anti-OGM sont très actives : éditions de revues spécialisées, organisation de manifestations, de forums électroniques, de « débats » publics ; de ce

fait, elles ont un impact fort sur la perception des OGM par les citoyens. Cependant, la recherche d'une reconnaissance les a souvent conduit à exagérer les aspects négatifs des plantes transgéniques et à ne pas en souligner les avantages. Chacune cherche à apparaître comme le meilleur défenseur du consommateur, de l'environnement, du développement durable…

Cette information incomplète, voire partiale, des citoyens par les médias de toute nature, explique sans doute pourquoi, en France, le niveau de risque avec les aliments issus de plantes transgéniques soit jugé plus grand (82 % des personnes interrogées) que celui d'un voisinage avec les centrales nucléaires (76 %) alors qu'aux États-Unis on a le même chiffre pour le voisinage de centrales nucléaires et seulement 55 % contre les aliments OGM. (Étude MEN, *Usine nouvelle*, in Bonny, 2004).

La forte médiatisation des risques des plantes transgéniques par les associations anti-OGM a toutefois eu le mérite de porter le débat sur la place publique.

La gestion politique et le manque de confiance dans les institutions

Selon Ammann (1999) « En Europe, ni les politiques, ni les industriels, ni les journalistes n'ont fait ce qu'ils auraient dû faire pour que le débat s'organise sur des bases saines ». L'Union européenne n'a pas su anticiper au niveau législatif et des décisions ont été prises dans la hâte avec une réglementation complexe. En élaborant une réglementation spécifique pour les variétés transgéniques, portant sur le processus plutôt que sur le produit obtenu, elle a contribué à induire la croyance qu'il s'agit là de quelque chose de nouveau, pouvant présenter des risques et méritant des études particulières, alors que d'autres produits équivalents dans les changements au niveau du génome, voire même avec des changements plus forts, ne font l'objet d'aucune étude particulière autre qu'au niveau du produit final.

De même, le manque de justification claire ou de cohérence de certaines décisions politiques n'a pas contribué à éclairer le débat et à sécuriser les citoyens. Ainsi, on peut s'interroger sur la cohérence de la mesure prise en France le 12 février 1997, interdisant la production du maïs *Bt* mais autorisant sa commercialisation (alors que l'Union européenne et la France avaient donné leur accord à la production en janvier 1997). En effet, hors Amérique Centrale, cette plante ne se croisant avec aucune autre espèce apparentée, sa production ne présente pas plus de risque que sa commercialisation. Si des risques pour la santé existaient, alors la commercialisation était tout aussi dangereuse que la production, puisque les deux, en l'absence d'un contrôle strict peuvent conduire à des mélanges de grains OGM et de grains non-OGM. Toutefois, la mesure avait l'avantage de protéger les productions non-OGM. Par souci d'une plus grande clarté, il aurait mieux fallu soit autoriser la commercialisation et la production, avec des mesures adéquates pour protéger les productions non-OGM, soit interdire les deux. D'ailleurs, le 27 novembre 1997, l'interdiction de production fut levée par le nouveau gouvernement. Mais, le 30 juillet 1998, ce même gouvernement décidait un moratoire des autorisations de mises sur le marché des plantes transgéniques présentant un risque de diffusion des gènes dans l'environnement (colza et betterave), alors que d'autres autorisations de

culture de variétés transgéniques de maïs étaient données. Tout cela traduit bien les nombreuses hésitations du pouvoir politique.

Enfin, suite aux deux crises sanitaires du sang contaminé et de la « vache folle », la confiance accordée aux institutions en charge du développement des innovations biotechnologiques a été largement entamée (Joly et Lemarié, 1998). Elles ont en effet donné l'impression de privilégier les intérêts économiques des entreprises impliquées. Pour restaurer la confiance des citoyens dans les institutions garantes de la sécurité sanitaire et environnementale, elles devront alors « démontrer leur capacité à gérer le risque de façon adéquate à travers un comportement cohérent sur une longue période dans différents domaines (pas seulement les OGM) » (Marris, 2001).

La mauvaise communication sur certains faits

La mauvaise communication des chercheurs ou des médias sur certains faits a sans doute contribué à générer une méfiance à l'égard des variétés transgéniques, surtout dans un contexte de crise, après les affaires du sang contaminé et de la « vache folle ». On peut citer comme exemples : le soja allergénique, l'affaire Putszai, le papillon Monarque, l'accident StarLink® et Terminator.

– *le soja allergénique* (p. 175), *l'affaire Pusztai* (p. 178) et *le papillon Monarque* (p. 166). Ces trois exemples sont assez comparables, car chacun d'eux montre des problèmes de communication par les chercheurs, avec une reprise déformée par les médias. Aussi, ces exemples ont-ils marqué les esprits et sont-ils toujours repris, alors que sur le plan scientifique, les conclusions sont assez claires. Pour le soja, l'allergie observée après transgénèse était prévisible et il s'agissait d'une expérience de laboratoire. Pour la pomme de terre transgénique de Pusztai, les résultats très critiqués et critiquables sur le plan expérimental ne démontrent pas de risques pour la santé non prévisibles en fonction des connaissances sur l'effet des lectines. Enfin, pour le papillon Monarque, dans les conditions naturelles le risque est quasi-nul. Cependant, là aussi, le relais médiatique de travaux mal interprétés a entretenu la crainte que les variétés transgéniques soient nocives pour l'environnement.

– *l'accident «* StarLink® *»* (p. 176). Cet exemple montre que la réglementation américaine de séparation des filières n'a pas été suffisamment efficace pour éviter une contamination des produits destinés à l'alimentation humaine par des produits homologués pour l'alimentation animale. Cela a été interprété comme une faille liée à la coexistence des deux types de produits OGM et non-OGM, alors qu'avec la réglementation européenne les risques sont bien plus faibles, car elle exige une traçabilité et un étiquetage des produits destinés à l'alimentation humaine. D'ailleurs, depuis cet accident, la législation américaine a changé. Mais, cette affaire a entretenu la peur d'un risque allergénique associé aux variétés transgéniques alors qu'il semble bien aujourd'hui que ce maïs n'est que très peu allergénique et qu'aucun cas d'allergie n'ait été observé ;

– *terminator* (p. 150). Cette innovation fut présentée comme un moyen d'« obliger » l'agriculteur à renouveler ses semences, d'où l'ampleur des protestations. Or, l'agriculteur n'est pas obligé de choisir des variétés transgéniques : il reste libre de choisir les variétés qu'il souhaite. L'essentiel est donc qu'il ait effectivement le choix (voir p. 183). Cette innovation aurait sans doute été mieux acceptée si elle avait été présentée comme le résultat de travaux pour limiter les flux de transgènes apportant

des caractères intéressants pour les agriculteurs et pour les consommateurs. Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent certains acteurs ou la société dans son ensemble doivent rétribuer le coût du progrès génétique ; le système terminator est une voie parmi d'autres, sans doute pas la meilleure sur le plan social. Cette voie est évidemment à exclure pour les PVD qui doivent pouvoir produire leurs propres semences.

Les erreurs de communication des entreprises

Les entreprises qui développent les variétés transgéniques au niveau commercial ont assez mal communiqué sur le sujet. Elles ont sans doute considéré que les plantes transgéniques étaient une innovation équivalente à une autre et qu'il suffisait de les lancer sur le marché avec une publicité pour qu'elles soient acceptées. Cependant, lorsque l'entreprise américaine Monsanto, dans une campagne de communication, a annoncé dans certains journaux que les variétés transgéniques pouvaient résoudre les problèmes de la faim dans le monde, cela a été ressenti comme une tentative de conquête d'un nouveau marché afin d'augmenter les profits de l'entreprise aux dépens des PVD. Comme les PVD souffrant le plus de la famine ne peuvent guère acheter des semences et encore moins des semences de variétés transgéniques au coût trop élevé, cette présentation était sans doute inadéquate. Elle a contribué à une perte de légitimité sociale de ce type d'entreprise et a renforcé des positions anti-OGM.

La méfiance à l'égard de l'innovation « OGM »

Plusieurs éléments contribuent à expliquer une certaine méfiance à l'égard des plantes transgéniques.

L'effet nouveauté

Toute découverte majeure bouscule les habitudes et inquiète. Des innovations aujourd'hui omniprésentes dans les pays industrialisés, importantes pour notre confort (exemple de la voiture ou du train) et pour notre santé (la vaccination de Pasteur), reçurent aussi à leur apparition un accueil peu favorable. Dans le cas des variétés transgéniques, le problème est le caractère assez inattendu de l'offre face à un public mal préparé à les recevoir (défaut de communication vu précédemment) alors qu'il s'agit dans certains cas de produits destinés à son alimentation. Les deux points suivants renforcent l'inquiétude.

La peur que l'on touche au vivant, au naturel

En l'absence de connaissances et d'information, la modification du génome inquiète en elle-même et l'introgression dans le génome d'une plante de gènes d'autres espèces (voire d'autres genres ou règnes) renforce cette inquiétude. Le généticien, en transgressant les barrières d'espèces, est perçu comme un nouveau démiurge remettant en cause les équilibres naturels. Pourtant, de nombreuses espèces de plantes sont le résultat d'hybridation interspécifique naturelle (le blé, le colza…) et les plantes cultivées ont été modifiées génétiquement par l'homme depuis longtemps afin qu'elles soient mieux adaptées à ses besoins. Les barrières d'espèces ont déjà été transgressées lorsque les généticiens ont créé une nouvelle espèce comme

le Triticale (croisement blé × seigle), et les sélectionneurs les transgressent toujours lorsqu'ils refont le colza par croisement du chou avec la navette… Le greffage, très utilisé en arboriculture fruitière, n'est-il pas aussi une forme de transgression des barrières interspécifiques ? Greffer un pêcher sur un cognassier n'est pas non plus très naturel. Que dire dans le règne animal du croisement jument × baudet qui donne un descendant stérile, le mulet, et qui a pourtant été très pratiqué à l'époque de la traction animale… Mais aujourd'hui avec la transgénèse on irait plus loin, et le public, avec l'influence des médias, dans un contexte de crise avec les affaires du sang contaminé et de la « vache folle », serait plus sensibilisé et plus méfiant que par le passé à l'égard des conséquences de la modification du vivant. Pourtant, aucune des grandes religions, ni grand courant philosophique n'a pris position contre la transgénèse. L'église catholique (Conseil Pontifical, 2003), suivant en cela les positions de la FAO, a même clairement indiqué que les biotechnologies végétales sont un outil important qui mérite d'être utilisé pour lutter contre la faim dans le monde, mais avec toutes les précautions nécessaires.

Il ne faut pas toucher à la nourriture

Pour les Français, la nourriture est quasi sacrée alors qu'aux États-Unis l'attitude face à la nourriture est plus pragmatique. Les Français sont attachés à l'authenticité des produits du terroir et s'inquiètent d'une industrialisation trop poussée de la nourriture, symbole de « malbouffe », de mondialisation et de perte d'identité culturelle. Les plantes transgéniques sont perçues comme renforçant cette orientation. Les composantes culturelles de l'alimentation, leurs dimensions sociales, religieuses, historiques et symboliques ne peuvent pas être ignorées (Paillotin et Rousset, 1999). La crainte d'ingérer des transgènes, et celle de leur transfert à l'homme, a joué aussi un rôle dans l'opinion de certains consommateurs. Or, bien que nous consommions tous les jours beaucoup d'ADN de plantes, les gènes de plantes ne sont jamais passés chez l'homme. Le seul transfert pouvant présenter un risque, avec une probabilité très faible, était au niveau des bactéries de l'intestin, avec les gènes de résistance aux antibiotiques utilisés comme marqueurs ; cependant, suite aux débats sur ce sujet, ceux-ci ont été interdits. Dans ce contexte, il est intéressant de souligner que les produits de beauté à base d'ADN végétal ne suscitent aucune réaction, tant au niveau de leur fabrication que de leur utilisation où ils sont même associés à une image de produits naturels.

Le manque de confiance envers certains acteurs

Le contexte de crise sanitaire (sang contaminé, « vache folle »), déjà signalé et invoqué plusieurs fois, a entraîné une certaine perte de confiance envers différents acteurs :

– les chercheurs et les experts, car ils ont montré les limites des connaissances ; en outre, avec le débat sur les plantes transgéniques, le désaccord, voire la controverse entre chercheurs a induit de la suspicion, voire du rejet envers les plantes transgéniques. En particulier, au début du développement commercial des variétés transgéniques, une vision trop moléculariste, réductionniste, de la transgénèse a entraîné une réaction des écologistes et des chercheurs en écologie ayant une approche plus systémique, alors qu'il aurait fallu combiner les deux points de vue au niveau de l'expertise des risques dès la création des commissions d'évaluation des OGM (Roy,

2002). Un autre exemple marquant est celui des différences d'expertise du risque de toxicité par l'Afssa et la CGB en ce qui concerne le maïs *Mon863* (Afssa, 2003 et CGB, 2003) ;
– les agro-industriels qui, même sur des problèmes de santé, sont apparus comme visant en priorité la réalisation de profits. Cette image « intéressée » des entreprises liées aux plantes transgéniques a aussi été amplifiée par les problèmes de communication soulignés précédemment ;
– les agriculteurs, perçus comme trop engagés pour la majorité d'entre eux dans une intensification poussée de l'agriculture à l'origine de la crise de la « vache folle » et de la pollution des nappes phréatiques ;
– les décideurs politiques, car ils n'ont pas su gérer ces crises (voir p. 224) et prendre en compte les interrogations et les exigences des citoyens à l'égard des plantes transgéniques.

Ce manque de confiance envers certains acteurs a été renforcé par la mauvaise communication mentionnée précédemment autour de certains résultats expérimentaux comme le soja allergénique, l'affaire du chercheur Putszai, le papillon Monarque, l'accident du maïs StarLink® ou le maïs *Mon863*.

Les raisons politiques, idéologiques voire éthiques

Des aspects politiques, idéologiques, voire éthiques apparaissent clairement dans l'analyse des arguments des opposants aux plantes transgéniques. Leur objectif est de lutter contre le libéralisme trop poussé, la mondialisation des échanges, la concentration des entreprises, qui peuvent avoir des effets plus négatifs dans le domaine du vivant que dans d'autres domaines. Beaucoup de citoyens sont sensibles à ce combat politique lié à un choix de société et rejettent le profit ou la volonté d'une appropriation du pouvoir dans le domaine du vivant. Cependant cela ne justifie pas de déformer les faits expérimentaux et les données scientifiques, ni d'ignorer la balance bénéfices/risques et d'aller jusqu'à empêcher toute expérimentation au champ sur les plantes transgéniques.

La concentration du pouvoir sur le vivant

Le risque de brevetage du vivant

Les variétés transgéniques sont vues comme un moyen de brevetage du vivant. L'Europe avait jusque-là bien résisté à la pression américaine de brevetage des variétés, mais la Directive européenne 98/44/CE sur la protection des inventions biotechnologiques ouvre bien la voie à ce type de brevet (voir p. 183). Comme l'ont souligné Joly et Hervieu (2003) il faudrait trouver une autre organisation des recherches pour éviter les conséquences négatives du brevet. Ce n'est pas simple, et cette question dépasse largement le cadre des variétés transgéniques pour englober toutes les biotechnologies.

La concentration des entreprises de sélection

Le brevetage du vivant accentue la concentration des entreprises de biotechnologies. Cette concentration fait craindre l'émergence d'oligopoles qui pourraient contrôler le marché des semences et qui s'approprieraient progressivement les

ressources génétiques à partir desquelles les variétés végétales sont développées. La situation actuelle avec 87 % du marché des plantes transgéniques contrôlé par une seule entreprise (Monsanto) apparaît assez inquiétante (chap. 1). Le maintien d'une diversité des entreprises de sélection est en effet nécessaire pour assurer aux agriculteurs une diversité des variétés et un progrès génétique continu.

La dépendance de l'agriculteur

Depuis la naissance de l'agriculture, la dépendance de l'agriculteur par rapport à l'extérieur n'a cessé d'augmenter. Elle s'est accélérée fortement au cours du XX^{e} siècle avec le progrès dans les techniques culturales. De ce point de vue, la transgénèse n'est qu'un outil supplémentaire permettant à l'agriculteur d'avoir à sa disposition des variétés plus faciles à cultiver ou ayant des caractéristiques spécifiques. Dans notre système d'économie semi-libérale, si les agriculteurs veulent bénéficier de ces avantages, il serait logique qu'ils contribuent au coût de ce progrès génétique (dû au travail des chercheurs et des sélectionneurs) en renouvelant ses semences.

Le risque de dépendance de l'agriculteur n'est pas vraiment dans l'obligation de renouveler ses semences de variétés transgéniques, mais il est plutôt dans le risque de ne dépendre que d'un nombre très limité d'entreprises de sélection. Il est donc souhaitable d'éviter le brevetage des variétés et la concentration des entreprises de sélection pour que l'agriculteur puisse choisir librement ses variétés, dans une gamme suffisamment large. Les décideurs politiques doivent chercher des solutions pour que les variétés transgéniques susceptibles d'apporter un progrès à la société puissent se développer sans entraîner l'appropriation du vivant et la concentration des entreprises. Cela pourrait se faire par la mise en place de règlements anti-trusts aux niveaux national et international et par une politique particulière en matière de brevets, mesures non spécifiquement liées aux biotechnologies végétales, mais sans doute plus importantes dans ce cas.

Un attrait pour le naturel, un choix de vie

Une sorte de philosophie rousseauiste où tout ce qui est naturel est bon a sans doute inspiré certaines oppositions aux plantes transgéniques. Elles sont en effet considérées comme le résultat d'un processus artificiel et elles cristallisent les réactions contre l'artificialisation du vivant. Pourtant, bien peu des produits de notre alimentation sont naturels, qu'il s'agisse des plantes ou des animaux. Alors peut-on dire que jusqu'à aujourd'hui l'artificialisation avait été acceptée, mais que nous allons trop loin avec les variétés transgéniques ? Ou s'agit-il de la conséquence de débats biaisés ?

Parmi les opposants au développement des plantes transgéniques, figurent notamment ceux qui pensent que l'intensification de l'agriculture est responsable de beaucoup de pollutions et de perturbations de l'environnement. Tout le monde souhaite une agriculture moins polluante et des produits sains ! Le problème est de savoir s'il existe des alternatives sérieuses d'un point de vue technique et économique. Il faut sans doute utiliser moins d'intrants, mais, revenir aux techniques culturales d'il y a seulement 50 ans, ne semble pas réaliste d'un simple point de vue économique et écologique. En effet, dans bien des situations cela signifierait diviser par trois le

rendement actuel. Or, notre économie ne peut pas supporter une division par trois du produit brut de notre agriculture en même temps qu'une forte diminution des aides de la politique agricole commune. Une diminution forte de la production agricole des pays industrialisés aurait un impact fort sur les cours mondiaux (qui augmenteraient). Certains PVD pourraient développer leur propre agriculture, mais les pays importateurs de denrées agricoles seraient très affectés. Par ailleurs, il faudrait cultiver plus de surfaces, ce qui n'est guère possible et en contradiction avec un point de vue environnemental. Cela entraînerait aussi une augmentation des prix pour les consommateurs. Enfin, les produits, ne seraient pas obligatoirement plus sains comme le montre l'exemple récent en Grande-Bretagne (*Food Standard Agency*, 2003) avec la contamination de produits dérivés de maïs bio par la fumonisine, une toxine secrétée par des champignons, très dangereuse pour l'homme.

L'avenir est à une agriculture de plus en plus économe et respectueuse de l'environnement (Poly, 1978), sans sombrer dans l'utopie. L'agriculture biologique peut avoir un certain marché, mais, l'imposer comme modèle paraît irréaliste. En outre, la compétition mondiale, apporte sur le marché des produits obtenus par des filières moins coûteuses susceptibles d'intéresser les consommateurs et de qualité sanitaire au moins aussi bonne. Plutôt que d'être importateurs de produits issus de variétés transgéniques, il vaudrait mieux que nous en soyons producteurs, mais en veillant à l'environnement et à la sécurité alimentaire. C'est peut être la meilleure façon d'assurer la durabilité de l'agriculture française qui passe par la durabilité des agriculteurs.

L'alternative semble être une agriculture dans laquelle les variétés transgéniques auraient leur place à côté des variétés conventionnelles. L'objectif est d'inventer une agriculture plus économe et plus respectueuse de l'environnement, assurant des revenus corrects aux agriculteurs, avec des variétés plus résistantes aux maladies et aux insectes, mais aussi avec des mesures de gestion permettant d'assurer la durabilité de ces résistances. Dans un tel cadre d'agriculture quelquefois dite « durable », l'amélioration des plantes a un rôle particulier à jouer par la mise au point de variétés adaptées à ce type de culture. La transgénèse en particulier apparaît bien comme un outil pour créer des variétés demandant moins d'intrants (insecticides, fongicides, voire engrais azotés) et apportant un progrès sur la qualité des productions (Bonny, 2004c). La France grand pays agricole ne peut pas ne pas jouer cette carte. Le développement d'une telle agriculture doit donc correspondre à un véritable projet politique.

Risques pour les PVD

Le développement des variétés transgéniques dans et par les pays développés engendre plusieurs risques pour les PVD. Un premier risque est celui d'aggraver leur situation économique, si les pays développés utilisent les variétés transgéniques pour produire des substances jusque-là importées ou extraites de produits importés des PVD (Galhardi, 1996). Ainsi la production de divers types d'acides gras par le colza transgénique pourrait anéantir les exportations d'huile de palme ou de coprah de certains PVD. De même la production de thaumatine (édulcorant) ou d'arôme de vanille naturelle par transgénèse pourrait avoir de graves conséquences sur les PVD qui produisent les plantes d'où ces substances sont extraites (voir p. 182) (Bonny, 1998).

Un autre risque, plus important, est que les variétés transgéniques ne soient proposées aux PVD que pour accroître les revenus des oligopoles qui les développent, accentuant ainsi la dépendance des pays du Sud vis-à-vis des pays industrialisés. Il est évident que si ces oligopoles proposent aux PVD des variétés transgéniques avec les mêmes transgènes que ceux actuellement utilisés, voire les mêmes variétés, cela ne peut être ressenti que comme un moyen d'étendre leur marché. Cela pose deux types de problèmes. D'une part les paysans des PVD manquent de ressources pour acheter des semences transgéniques, et s'ils en achètent, il semble difficile de leur interdire de les ressemer. D'autre part, il n'est pas sûr que les types de variétés transgéniques actuellement développés soient ceux qui correspondent le mieux aux besoins des PVD ; la résistance aux insectes peut sans aucun doute être très intéressante, de même la résistance aux maladies (dues aux virus, bactéries, champignons), mais il faudrait y ajouter la tolérance à la sécheresse et à la salinité pour à la fois étendre les zones de culture, augmenter et régulariser les rendements. On peut aussi penser à des variétés transgéniques qui pourraient contribuer à résoudre des problèmes de santé. Cependant, le développement de ces variétés transgéniques adaptées aux besoins des PVD ne peut pas se faire par les multinationales de biotechnologie des pays industrialisés au travers de variétés transgéniques brevetées et non libres d'accès pour les sélectionneurs du pays du Sud.

Seules, les variétés transgéniques sont sans doute insuffisantes pour résoudre les problèmes de santé et d'alimentation des PVD (voir chap. 4). Qu'il faille s'attaquer aux causes du non développement est une évidence, mais ce sera une réforme lente, alors que des semences de variétés transgéniques résistantes aux insectes, adaptées à leur zone de culture, et *autoreproductibles par l'agriculteur* pourraient apporter assez rapidement un minimum de ressources alimentaires supplémentaires sans nécessiter une réforme de toute l'agriculture et du développement. L'idéal serait que les PVD contribuent eux-mêmes au développement des variétés transgéniques qui leur seraient utiles. Des moyens pourraient être mis en place pour qu'ils puissent avoir accès aux technologies des variétés transgéniques : aménagement des droits de licence, collaboration entre recherches publiques des pays industrialisés et des PVD, collaboration entre recherche privée et recherche publique d'un PVD pour le transfert des biotechnologies. Il semble en tout cas difficile de ne pas chercher à faire bénéficier les PVD de ce que peut apporter la transgénèse au développement d'une production végétale plus sûre et mieux adaptée à leurs besoins (Bonny, 2004c).

Il faut toutefois noter que certains PVD ont un niveau technologique élevé, voire très élevé, et mènent eux-mêmes des travaux importants en biotechnologie végétale comme la Chine et l'Inde. L'orientation de leurs recherches est donc à suivre avec attention. Le coton transgénique est déjà bien développé dans ces deux pays, où il a été montré qu'il améliorait les rendements et diminuait fortement la quantité d'insecticides utilisés (voir chap. 4). La Chine est prête à commercialiser à grande échelle un riz transgénique et de nombreuses autres plantes destinées à l'alimentation humaine vont suivre. L'expérience de ces pays risque donc à terme de changer complètement « le paysage » des plantes transgéniques à différents niveaux, types de transgènes, brevets…

Conclusion

Le débat sur les plantes transgéniques n'est pas seulement scientifique, il implique aussi des aspects culturels, éthiques et politiques. Les plantes transgéniques cristallisent en fait différentes réactions qui ne leur sont pas directement liées : refus de l'artificialisation de la nourriture avec des craintes pour la santé suite aux crises sanitaires du sang contaminé et de la « vache folle », peur des applications de la recherche avec le progrès spectaculaire des connaissances, refus du libéralisme, de la mondialisation, et de l'appropriation du vivant par quelques entreprises… Tous ces aspects auxquels une partie des citoyens est maintenant très sensible contribuent à rendre plus difficile l'acceptation des variétés transgéniques par la société. En fait, l'examen des causes du refus des variétés transgéniques par la société renvoie à la question des relations difficiles entre science, société et politique.

⏩ Conséquences et conclusions à tirer du refus des plantes transgéniques

Nous allons examiner dans une première étape les conséquences du refus des plantes transgéniques au niveau des recherches en biologie végétale et pour l'économie de la filière « productions végétales ». Dans une deuxième étape, nous présenterons quelques conclusions à en tirer en matière de relations entre science, société et politique.

Conséquences du blocage du développement des variétés transgéniques

En France, l'expérimentation sur les plantes transgéniques a fortement ralenti à partir de 1998, comme en témoigne l'évolution du nombre de dossiers déposés pour les autorisations d'expérimentation sur les variétés transgéniques auprès de la Commission du génie biomoléculaire (CGB). L'augmentation jusqu'en 1997 du nombre de dossiers déposés pour l'expérimentation au champ illustre la situation assez favorable au développement des plantes transgéniques à cette époque (fig. 7.2). La chute a été brutale en 1998. Entre 1991 et 2004, 520 essais en plein champ ont été conduits en France. Le nombre d'essais était de 96 en 2000, 98 en 2001, 68 en 2002, 59 en 2003, 43 en 2004 et 58 en 2005.

La destruction des essais au champ

Aujourd'hui, l'expérimentation au champ sur les plantes transgéniques est devenue fort difficile. En effet, les essais sont assez systématiquement détruits par des opposants aux plantes transgéniques. Un sondage récent (CSA, septembre 2004) montre que 74 % des français désapprouvent ces destructions et 63 % sont favorables à ces essais pour la recherche s'ils ont reçu les autorisations nécessaires ; 26 % reconnaissent leur utilité et seulement 10 % considèrent que leur intérêt est nul. La contestation vient donc essentiellement de ces 10 %. L'opposition résolue ne semble être partagée que par 13 % de la population.

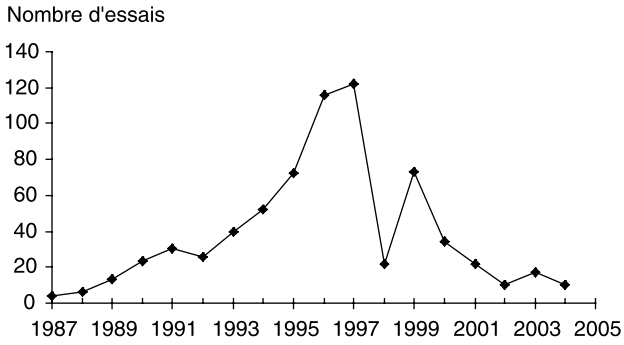


Figure 7.2. Évolution du nombre de dossiers déposés pour les autorisations d'expérimentation sur les variétés transgéniques auprès de la Commission du génie biomoléculaire (CGB) en France.

Les motivations avancées pour la destruction des essais au champ

Les raisons de la destruction des essais rejoignent évidemment celles du refus des variétés transgéniques : la crainte que ces essais soient à l'origine de la diffusion de transgènes dans des produits destinés à l'alimentation, mais surtout la réaction contre ce qu'ils représentent, le développement des plantes transgéniques, avec tous leurs aspects culturels, éthiques et politiques. Sur la crainte de diffusion des transgènes, certes, le champ ne peut pas être considéré comme un laboratoire, ce n'est pas un espace confiné, mais les mesures de précaution (en particulier isolement) exigées par la CGB et prises par les expérimentateurs (chercheurs, sélectionneurs) limitent très fortement le risque de transfert du transgène vers les cultures non transgéniques. De plus les autorisations d'expérimentation au champ ne sont données par la CGB que si les risques, à la fois pour la santé et l'environnement sont considérés comme très faibles.

Pourquoi faire des essais au champ ?

La recherche sur les plantes transgéniques comprend plusieurs étapes : expérimentation au laboratoire, puis en serres, et enfin au champ. Ces différentes étapes ont chacune leur rôle et sont soumises à une réglementation stricte (CGG, CGB, Afssa). Au laboratoire et en serre, le chercheur étudie l'expression du transgène, son intégration, voire son expression à des niveaux moléculaires. Mais pour apprécier l'intérêt agronomique du transgène, il est indispensable de le tester en conditions de culture au champ. En effet, le fonctionnement d'une plante isolée n'est pas comparable au fonctionnement d'un peuplement végétal et cela affecte beaucoup le métabolisme carboné et azoté de la plante. Ainsi les aspects de qualité (teneur en sucre, en amidon, en protéines…) et de quantité (rendement) ne peuvent être correctement évalués qu'en conditions réelles de culture (environnement sol-climat, densité de culture, techniques culturales…). Les essais au champ sont aussi indispensables pour l'évaluation des risques des variétés transgéniques.

Difficulté d'une information objective sur les avantages et les risques éventuels des variétés transgéniques

Le blocage des expérimentations au champ revient à empêcher toute étude visant à évaluer les avantages et les risques éventuels d'une variété transgénique, ainsi que

la capacité des chercheurs et des institutions à informer de façon objective. Ainsi en l'absence d'études bien précises sur les risques, comment peut-on dire s'ils existent ou pas, comment connaître le niveau d'incertitude ? En empêchant l'expérimentation au champ, on empêche l'évaluation et donc la mise en œuvre du principe de précaution. À cela, les « faucheurs » répondent que les essais concernent plutôt les performances agronomiques que l'évaluation des risques, ce qui n'est quand même pas toujours le cas.

Conséquences pour les recherches en biologie et biotechnologie végétales

Au niveau européen de plus en plus de laboratoires privés et publics arrêtent leurs programmes de recherches sur les plantes transgéniques. D'après la Commission Européenne, 61 % des entreprises privées de biotechnologie en Europe ont annulé leurs travaux sur les plantes transgéniques (Le Déaut, 2005).

Conséquences pour la recherche appliquée en amélioration des plantes

Avec le blocage des essais des variétés transgéniques au champ, la capacité d'innovation en biologie végétale appliquée, et plus particulièrement en amélioration des plantes, est affaiblie. Ne pas pouvoir expérimenter au champ des plantes transgéniques est un handicap à la valorisation de tous les travaux de génomique actuellement en cours. Nous pouvons à ce sujet donner l'exemple des travaux sur l'absorption et la valorisation de l'azote absorbé par le maïs conduits par Gallais et Hirel (2004). Quelques gènes supposés avoir un rôle particulier à ce niveau ont été identifiés grâce au marquage moléculaire. Par les outils de la génomique, un gène d'une enzyme des premières étapes du métabolisme azoté a été isolé chez le maïs, puis transféré à une autre lignée de maïs avec un promoteur permettant sa surexpression. Il s'agit d'un exemple de transgénèse intraspécifique (de maïs à maïs), et de plus avec un gène qui peut éviter à des nitrates du sol de polluer les nappes phréatiques. Malheureusement, l'expérimentation au champ, indispensable, n'a pas été possible en 2003 et les essais ont été détruits en 2004 (alors même que les plantes étaient castrées, donc sans flux polliniques). Et pourtant, cette expérience ne présentait aucun risque pour la santé et correspondait à des recherches ayant un intérêt pour l'environnement.

Le désinvestissement dans les recherches sur la transgénèse et ses applications

Une des conséquences du refus des variétés transgéniques en Europe, et en France en particulier, est un désinvestissement ou un manque d'encouragement des travaux de recherches faisant appel à la transgénèse, y compris des travaux sur la transgénèse elle-même, en tant qu'outil. Or, la transgénèse est un outil puissant pour les études de biologie végétale, pour la compréhension du fonctionnement des plantes. Nous en avons vu plusieurs exemples au chapitre 3, en montrant comment elle pouvait permettre d'établir une relation entre les gènes et les caractères. Être privé de l'outil le plus performant est un handicap très fort pour toutes les recherches et les innovations en biologie végétale. Par exemple, des travaux importants sont à mener sur la maîtrise de l'insertion par recombinaison homologue d'un gène dans un génome. Or, si ces travaux se poursuivent au niveau fondamental, ils ne font pas vraiment l'objet de recherches intensives pour parvenir le

plus rapidement possible à une maîtrise de l'insertion car ils souffrent du refus des variétés transgéniques.

Autre conséquence au niveau de la recherche européenne, soutenue par la Commission européenne : très peu de projets de recherches faisant appel à la transgénèse ont été retenus depuis 1998 (toutefois, dans le 7e Programme Cadre de Recherche et de Développement de la Commission européenne, allant de 2006 à 2010, les biotechnologies semblent retrouver une certaine place). De même, de jeunes chercheurs, attirés par les recherches en biotechnologie, partent faire leur thèse ou leurs recherches post-doctorales aux États-Unis et y restent. Cela renforce la fuite des cerveaux en biologie végétale et handicape fortement le potentiel de recherche. De plus, la biologie végétale appliquée et surtout l'amélioration des plantes sont bien plus affectées que les autres secteurs par une tendance à la désaffection de la recherche par les étudiants. Dans un futur proche, le renouvellement des cadres du privé et du public dans un domaine essentiel pour l'avenir de l'agriculture sera fort difficile. Pourtant, quel que soit le type d'agriculture, les recherches en amélioration des plantes sont toujours indispensables pour contribuer à une agriculture respectueuse de l'environnement et assurer la durabilité du métier d'agriculteur avec une production de qualité pour les consommateurs.

Conséquences pour les entreprises de sélection végétale

Pour les entreprises européennes de sélection végétale, l'impossibilité d'expérimenter au champ des prototypes de plantes transgéniques induit un retard considérable dans ce domaine (investissements à perte) et les innovations sont ou seront proposées par les entreprises nord-américaines, chinoises ou indiennes. En effet, l'avance technologique de celles-ci croît, elles amortissent leurs investissements en recherche, et peuvent en réaliser de nouveaux d'où résulteront de nouvelles technologies et de nouveaux caractères ou aptitudes pour les plantes… Ainsi en 2003 une année de redevances pour l'entreprise américaine Monsanto représentait près des 2/3 du budget total de l'Inra (environ 300 millions d'euros, Joly, 1998). À terme si les variétés transgéniques se développent en Europe, elles risquent d'être très dépendantes de brevets américains où autres. C'est l'avenir même des entreprises européennes de sélection qui est menacé.

Conséquences au niveau européen pour l'agriculture, l'agro-alimentaire et la bio-industrie

Si les agriculteurs ne peuvent pas utiliser les variétés transgéniques, ils risquent d'avoir des coûts de production plus élevés et une moindre sécurité de production (avec des variétés moins adaptées au milieu). En conséquence, les produits de l'agriculture européenne ne seront plus compétitifs par rapport aux produits de l'agriculture nord-américaine (situation aggravée par la nouvelle PAC, avec moins de subventions pour les producteurs). La France, naguère grand pays agricole, risque de perdre sa compétitivité et sera bien plus affectée par le blocage du développement des variétés transgéniques que les autres pays européens. Au niveau mondial, les variétés transgéniques sont devenues une réalité économique, les ignorer condamne l'agriculture française et les industries de l'agro-transformation qui lui sont liées, et amène à renoncer à certains marchés. Cette attitude pourrait

aussi handicaper l'industrie pharmaceutique et plus généralement toute l'industrie de certaines substances ou bio-matériaux pouvant être produits par les plantes, domaine appelé à se développer compte tenu des avantages qu'il présente (une chimie propre, en particulier) (Décor, 2004).

Qu'il y ait des agricultures possibles sans variétés transgéniques, est une évidence, mais elles ne peuvent pas être les seules. Comme nous l'avons vu (chap. 4) les variétés transgéniques représentent un moyen pour développer une agriculture durable, économiquement viable, utilisant moins d'intrants, avec des productions diversifiées et des produits de grande qualité sanitaire pour l'alimentation humaine.

Ainsi, à tous les niveaux (recherche, industrie, agriculture), il apparaît que le blocage des plantes transgéniques favorise l'économie nord-américaine, ce qui n'est sans doute pas le but recherché. Une politique de blocage des variétés transgéniques en Europe aurait peut être un certain sens en l'absence de la mondialisation des échanges. Malheureusement, l'Europe n'est pas un continent isolé et les variétés transgéniques se développent très vite, elles sont maintenant une réalité économique. Ne vaut-il pas mieux alors essayer de favoriser des variétés transgéniques présentant des avantages pour une agriculture durable et une alimentation saine et de qualité, tout en étant très vigilant sur leur développement sur les plans économiques, sanitaires et environnementaux ?

Quelles conclusions à tirer de l'opposition aux plantes transgéniques d'une grande partie de la société

La nécessité d'une nouvelle relation entre science, société et politique

Le débat actuel sur les plantes transgéniques révèle le fossé qui s'est créé entre la science et beaucoup de nos concitoyens. L'examen des causes du rejet de ce type de plantes par la société met en lumière le problème des interactions non seulement entre science et société, science et politique mais aussi entre société et politique. L'intérêt d'une innovation biotechnologique ne peut pas être décrété seulement par les politiques, ou les chercheurs, ou les industriels. Mais, il ne peut pas être décrété non plus par les seuls citoyens. Le décideur politique, le scientifique et le citoyen doivent dialoguer sur les objectifs de recherche à retenir, sans oublier que les innovations peuvent être nécessaires au progrès de la société. Pour cela, il faut travailler à d'autres formes de relations entre science et société et de nouveaux modes d'élaboration d'une politique de recherche (Le Déaut, 1999). Ce constat dépasse largement celui des plantes transgéniques.

Le rôle des décideurs politiques

Si les décideurs politiques ont le devoir de mettre en œuvre des dispositifs pour protéger le citoyen des risques éventuels des innovations sur la santé et l'environnement, en même temps ils doivent favoriser les recherches. Le principe de précaution est un principe d'action responsable (voir chap. 6). Il est appliqué pour protéger les citoyens d'une innovation, comme les plantes transgéniques, pour laquelle les risques ne sont pas avérés. Cependant, il ne doit pas être mis en œuvre pour bloquer

une innovation sans risques avérés avec les connaissances scientifiques et techniques du moment. Kourilsky et Viney (2000) prévoient dans leur rapport que les pouvoirs publics peuvent en faire « le meilleur ou le pire des usages ». Le risque est de voir les décideurs politiques se retrancher derrière ce principe pour fuir le dialogue avec les parties qui manifestent ou non.

Le respect des positions des différents acteurs

La liberté des agriculteurs et celle des consommateurs doit être respectée dans la mesure du possible. Il est fondamental que ceux qui souhaitent cultiver ou consommer des produits non transgéniques (issus de l'agriculture conventionnelle, biologique ou fermière) puissent le faire. Cela est ou peut être résolu par l'étiquetage des produits et par la mise en place d'une filière non-OGM. Celle-ci implique d'encadrer les deux types de cultures OGM et non-OGM par des mesures qui ont été présentées dans le chapitre 6 ; elles restreignent nécessairement la liberté de l'agriculteur et elles ont un coût pour la société.

La nécessité d'une communication plus objective

Pour combler le fossé entre la science et la société on peut souhaiter la diffusion des connaissances scientifiques vers la société, mais aussi une écoute des scientifiques aux attentes des citoyens ; il s'agit à la fois d'informer et de former pour entretenir une culture scientifique des citoyens et satisfaire leurs demandes. Ainsi, une enquête Eurobaromètre montre que pour 89 % des européens, les scientifiques devraient mieux informer sur les éventuels risques d'une innovation, et pour 85,9 % des européens, les scientifiques devraient mieux communiquer leurs connaissances (Eurobaromètre, 2000). Les organismes publics de recherche et les chercheurs eux-mêmes devraient donc davantage communiquer sur leurs travaux. Pour un chercheur, expliquer ses recherches à la société est aujourd'hui devenu une nécessité. Le collège, le lycée, l'université et les grandes écoles sont des lieux privilégiés où les chercheurs peuvent participer à la présentation de grandes questions scientifiques, en particulier celles qui touchent aux biotechnologies, pour sensibiliser les jeunes citoyens aux enjeux scientifiques d'une société qu'ils auront à construire.

Dans cette communication, les chercheurs devraient pouvoir compter sur les médias. Ceux-ci devraient contribuer à la vulgarisation et la divulgation des données scientifiques en évitant toute déformation de l'information. Pour cela, afin d'éclairer objectivement les citoyens, la position des experts devrait être au moins autant exprimée que celles des autres parties. Sur toute recherche susceptible d'avoir des conséquences importantes sur leur vie, les citoyens attendent en effet qu'on leur expose de façon objective les enjeux, les bénéfices et les risques, ainsi que les raisons des choix qui sont faits par les décideurs politiques. La diffusion de l'information scientifique est une question cruciale pour l'avenir.

Des pistes de recherche d'un nouveau type de relation entre science-société-politique

Différentes expériences ont été réalisées pour tenter d'établir un dialogue entre science, société et politique. Nous allons examiner quatre expériences ou démarches :

– les conférences de citoyens,
– les États généraux de l'alimentation,
– le débat sur les OGM au champ,
– l'évaluation technique interactive, avec le projet vigne transgénique à l'Inra.

Les conférences de citoyens

En juin 1998, la première conférence de consensus sur les OGM, dite conférence citoyenne, a été organisée sous le gouvernement Jospin par le député J.-Y. Le Déaut, président de l'« Office parlementaire de l'évaluation des choix scientifiques et techniques » (OPECST) pour débattre d'une politique nationale sur les biotechnologies (Le Déaut, 1999, 2001 ; Joly *et al*., 1999 ; Boy *et al*., 2000). Il s'agit d'une forme de débat entre experts et représentants de la société, inspirée de la méthode participative qui repose sur la constitution d'un panel de citoyens ordinaires ; elle a été élaborée au Danemark en 1985 où, depuis elle est organisée assez régulièrement sur différents sujets comme les biotechnologies, l'irradiation des aliments, la pollution de l'air. Comme l'objectif est d'informer les décideurs sur les opinions de la majorité silencieuse, des citoyens « candides » sont choisis parce qu'ils n'ont pas de connaissances particulières sur les sujets traités et parce qu'ils n'ont pas de fonction représentative (parti politique, syndicat, association de défense de l'environnement ou des consommateurs).

La conférence de citoyens sur les OGM a été organisée pour la première et seule fois en France suite à l'histoire mouvementée du maïs transgénique (le maïs *Bt*) : interdit en mars 1997 (sous le gouvernement Juppé), ré-autorisé en août 1997 (sous le gouvernement Jospin), autorisation qui avait alors agité le parti écologiste des Verts, partenaire de la nouvelle majorité (agitation qui devait conduire en 1998 à un moratoire sur certains OGM)… Quinze « candides » (en fait 14, 7 femmes et 7 hommes, suite à une démission pour des raisons de croyances personnelles créationnistes) ont été sélectionnés par un institut de sondage en respectant des critères de diversité (sexe, âge, profession, croyances religieuses, proximités politiques, régions d'origine) pour avoir une certaine représentativité de la population française. L'échantillon était sans aucun doute trop limité pour refléter toutes les sensibilités de la population française, mais c'est un effectif adapté au type de débat. Ces citoyens ont suivi une formation générale puis spécialisée sur la transgénèse pendant deux week-ends. La Conférence de citoyens a eu lieu un mois après le second week-end de formation avec la participation de 27 experts du monde académique, des entreprises privées et des associations qui répondirent en public aux questions des « candides ». Ce débat d'une journée et demie a porté sur des questions telles que : « Quels sont les intérêts de la technique de transgénèse, pour qui ? Quelles sont les incertitudes, les risques ? Quels sont les contre-pouvoirs ? Quelles sont les possibilités de choix des consommateurs ? Qui est responsable ? de quoi ? ». Il a été suivi de plus d'une demi-journée de délibération des candides afin d'élaborer des propositions.

Les membres du panel n'ont pas exprimé d'opinions tranchées (pour ou contre les OGM). Selon eux, l'élaboration d'un questionnaire et l'explication de points de débat, les contradictions, les incertitudes ou les oppositions entre experts sont plus importantes que les réponses aux questions (Joly *et al.,* 1999). Leurs principales conclusions étaient les suivantes :

– pas de moratoire, mais interdiction de l'emploi des marqueurs de résistance aux antibiotiques ;
– développement de la recherche publique sur les OGM ;
– définition des conditions du contrôle politique de la technique, de la prévention, et constitution de contre-pouvoirs (modification du fonctionnement de la CGB, avec un 2e collège composé d'agriculteurs, de consommateurs et de politiques) ;
– indépendance des experts, prise en compte des opinions minoritaires et participation du public ;
– ségrégation des cultures transgéniques des cultures conventionnelles, fermières ou bio, avec traçabilité des produits pour laisser la liberté de choix au consommateur ;
– étiquetage clair des produits issus des OGM.

Ce travail conduit par le panel a inauguré une nouvelle forme de participation active qui permet l'exploration des aspects tant scientifiques et techniques que sociaux selon les points de vue de citoyens ordinaires (Boy *et al.*, 2000 ; Joly *et al.*, 2003). Même si cette conférence n'a pas été assez médiatisée, elle a eu un impact non négligeable. Dans son rapport remis au Premier ministre, Le Déaut (1999), s'inspirant directement de l'avis de la Conférence de citoyens, proposait de créer une commission citoyenne (formée de représentants de la société) qui aurait « pour vocation de détecter les problèmes que pose le développement des biotechnologies, et de peser sur les risques et avantages pour la santé humaine, la sécurité alimentaire, l'environnement, de proposer les mesures permettant d'informer le consommateur et bien cerner les enjeux de la maîtrise des biotechnologies dans un contexte de compétition internationale ». Cette recommandation n'a pas été suivie et il n'existe toujours pas une réelle représentation de la société (en dehors des représentants associatifs) dans les instances qui traitent des risques, comme la CGB ou le Comité de biovigilance. La CGB fut renommée par un arrêté du 7 juillet 1998 après plusieurs mois d'inactivité mais sa structuration en deux collèges ne fut pas réalisée.

Les États Généraux de l'Alimentation

Dans le droit fil de la Conférence de citoyens, il faut aussi souligner « Les États Généraux de l'alimentation » qui se sont déroulés du 13 novembre au 13 décembre 2000. Lors de son renouvellement en 2000, le Conseil national de l'alimentation (CNA, 2001) a eu comme mission d'organiser le dialogue citoyen et de proposer une méthode pour développer le débat public sur l'alimentation. Sous forme d'un débat entre les professionnels de la filière agroalimentaire (dont les associations de consommateurs), des citoyens et des responsables publics, le sujet OGM a été abordé selon une combinaison d'enquête grand public, de groupes de discussions associant profanes et professionnels, de forums et d'un colloque faisant intervenir des responsables politiques. Ce débat a conduit au renforcement du rôle des associations de consommateurs qui pourront saisir l'Afssa d'une demande d'avis concernant « tout risque nutritionnel ou sanitaire lié à l'alimentation ».

Le débat sur « les OGM au champ »

Face à la destruction des essais des variétés transgéniques en plein champ, un autre type de débat public « OGM et essais au champ », dit « débat des quatre sages », a été organisé en février 2002 au Conseil économique et social par le président du Conseil national de l'alimentation (C. Babusiaux), du président de l'Office

parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (J.-Y. Le Déaut), du président du Comité consultatif national d'éthique (D. Sicard) et du président de la Commission française du développement durable (J. Testart). Trois types de publics ont été consultés : (1) différents acteurs (chercheurs, représentants d'associations de défense des consommateurs et de l'environnement, producteurs de semences, agriculteurs, industriels des semences, industriels de l'alimentation et de la distribution, agents d'assurance, syndicats, représentants politiques, juristes, économistes), (2) un plus large public incluant certains membres du panel de la Conférence de citoyens de 1998, et (3) des étudiants accompagnés de leurs enseignants (Babusiaux *et al.*, 2002). Le débat a mis en évidence les nombreuses attentes des citoyens en ce qui concerne l'expérimentation sur les OGM et a souligné l'intérêt des décideurs politiques à faire remonter ces attentes durant le processus de décision. Il a été reconnu la nécessité de mieux encadrer les essais au champ en respectant les trois principes de précaution, de parcimonie et de transparence. Sur ces bases, le comité a fait les recommandations suivantes :
– intégrer l'avis du public et l'associer au processus de prise de décision (en s'appuyant sur les nombreux débats publics et la Conférence de citoyens) ;
– mettre en place une commission chargée de réaliser une expertise socio-économique en développant les recherches de type cognitif à partir d'un panel de citoyens ;
– éviter les contaminations en rassemblant géographiquement les sites d'essais et en augmentant les distances entre les cultures OGM et non-OGM ;
– identifier les responsabilités et élaborer un système d'assurance ;
– ne pas enfreindre le droit de l'agriculteur à ressemer une partie des graines récoltées d'une culture d'OGM commercialisé ;
– renforcer le contrôle de transparence avec des rapports accessibles au public.

Ce débat devait être suivi de la mise en place d'un débat parlementaire permettant de voter un texte fondateur sur les biotechnologies. Ce texte n'a toujours pas été élaboré.

L'exemple du projet vigne de l'Inra

Après la quasi faillite des consultations publiques dont les recommandations n'ont pas été appliquées par les gouvernements successifs, les instituts de recherche publique ont pris le relais pour essayer d'associer la société à une politique de recherche. À l'instigation de la direction générale de l'Inra, et mis en œuvre par deux sociologues (P.-B. Joly et C. Marris), un projet d'élaboration (de co-construction) d'un programme de recherches sur la vigne transgénique à Colmar a été conçu de mai 2001 à mars 2003 pour concilier exigence démocratique et innovation.

En décembre 1999, *Le Canard enchaîné* révèle que Moët et Chandon expérimente en plein champ des porte-greffes de vigne génétiquement modifiés. Il s'agissait d'un programme de recherches sur la résistance des porte-greffes au court-noué, maladie due à un virus transmis par des nématodes parasites du système racinaire (*Xiphinema index*). Ce virus est une menace pour les vignobles car il n'y a pas de résistance naturelle connue : cette maladie entraîne des pertes de rendement qui peuvent être très importantes et se traduit *in fine* par la mort des ceps. Trente pour cent du vignoble français serait déjà affecté. La lutte chimique est peu efficace et conduit à utiliser des pesticides très toxiques pour l'environnement. Une solution draconienne est l'arrachage de la vigne et la mise au repos du sol pendant 10 ans. La

transgénèse peut apporter une solution plus intéressante : par la stratégie antisens, il est en effet possible de bloquer la multiplication du virus dans la plante. L'objectif de l'expérimentation entreprise était donc de tester cette résistance transgénique dans les conditions de culture de la vigne et étudier son impact éventuel sur l'environnement. Le porte-greffe étant seul en cause, il n'y avait aucun risque de flux de gènes, ni d'influence sur la qualité du raisin, donc du vin. Cependant, dans le contexte de forte contestation des OGM, compte tenu de la haute valeur symbolique du vin en France (produit de tradition), la direction de LVMH (maison-mère de Moët et Chandon) a arrêté l'étude. L'entreprise a alors proposé aux chercheurs de l'Inra qui avaient participé au projet, de leur céder le matériel expérimental (collection de transformants, vitroplants, ensemble porte-greffes greffons) afin que les études puissent être continuées dans un domaine de l'Inra.

La consultation organisée par l'Inra s'est déroulée suivant le modèle néerlandais conçu dans les années 1980, d'*Interactive Technology Assessment* (Évaluation technique interactive). Elle s'appuie sur une délibération approfondie d'un groupe de travail hybride (chercheurs, professionnels et citoyens ordinaires) avec la prise en compte de la diversité des « visions du monde » sur des questions relatives à la culture de la vigne, le jugement sur ce qu'est un bon vin, les implications de la transgénèse, le rôle et le statut de la science. Au sein des différentes visions du monde ainsi identifiées, ont été invitées dans le groupe 4 personnes sans implication professionnelle, 6 professionnels de la vigne et du vin (sans mandat syndical) et 4 chercheurs (internes ou externes à l'Inra, travaillant sur la transgénèse et/ou sur les maladies de la vigne) (Joly et Marris, 2003). Cette expérience pilote, la première en France, a aussi été encadrée par des procédures rigoureuses : choix des participants, méthodes de délibération, évaluation indépendante, caractère public des documents produits…

L'enquête et la mise en place du groupe se sont déroulées de septembre 2001 à mars 2002. Le rapport remis à l'Inra le 11 septembre 2002 comprend deux parties : (i) constats et enjeux ; (ii) recommandations et points de vigilance. Face aux menaces liées aux maladies de la vigne, le groupe de travail a recommandé de développer des méthodes de lutte variées, de façon à contribuer aux différents modes de production de la vigne ; il a déploré un manque d'approches intégrées et transversales et mis l'accent sur la nécessité de recherches permettant de mieux comprendre l'interaction entre la plante et son environnement. La question des essais en plein champ à Colmar a fait l'objet de discussions conduisant à deux positions opposées : l'une favorable aux essais sous des conditions restrictives, l'autre contre quelles que soient les conditions. La direction de l'Inra annonça ses décisions le 20 janvier 2003 : elle s'engage à ce que les recherches qu'elle développera en toute transparence (uniquement sur des aspects phytosanitaires, résistance au court-noué) ne donnent pas lieu à des applications sans l'accord de la profession (Inra, 2003). L'Inra en réaffirmant sa mission de production de connaissances a bien souligné que la transgénèse était un outil essentiel pour la recherche, mais que cela impliquait des mesures pour éviter le flux de transgènes (sous le contrôle de la CGB). Un comité mixte sur la recherche viti-vinicole composé de scientifiques de l'Inra et de responsables scientifiques ou techniques de la profession devait être mis en place. Il aurait pour charge d'élaborer des propositions sur les grandes orientations des programmes de recherche sur la vigne à l'Inra.

Malgré l'association de toutes les parties, cette expérience pilote a été sévèrement critiquée par plusieurs associations opposées aux OGM, et cette opposition a retardé la mise en place des essais. L'arrêté du ministère de l'Agriculture, après avis favorable de la CGB, a mis plus d'un an à être signé : l'expérimentation en plein champ n'a pu officiellement commencer à la Station Inra de Colmar qu'à partir de l'automne 2005, pour une durée de 5 ans et sous haute protection. La consultation réalisée semble porter ses fruits : l'avenir dira si elle a vraiment été une réussite.

Le rôle des débats locaux

Depuis la Conférence de citoyens en 1998, plus d'une centaine de débats locaux a eu lieu à travers la France. L'irruption des OGM dans la société et la controverse à leur sujet a engendré un nouveau mode de fonctionnement de la démocratie plus participatif, voire délibératif (Callon *et al*., 2001). Face aux enjeux et à la contestation de la société civile on cherche une co-élaboration de savoirs et de savoir-faire par l'interaction et la confrontation des opinions entre des citoyens profanes, des associations et des experts scientifiques. Il incombe alors aux chercheurs, aux industriels et aux maires d'organiser des débats locaux avec les citoyens sur des problèmes, des recherches ou des innovations, susceptibles d'avoir un impact sur les conditions de vie de tous.

Vers de nouvelles modalités d'expertise des innovations

Pour différentes raisons déjà évoquées (affaire du sang contaminé, limite de la science, querelle d'experts, mauvaise communication…), la confiance du public dans ses experts s'est dégradée. De plus, l'affaire du sang contaminé ou celle de l'amiante a montré que des expertises indépendantes sur la santé publique et l'environnement ne pouvaient pas être conduites par des experts intervenant en même temps comme des acteurs économiques. C'est ainsi que dans le prolongement d'une « commission citoyenne », l'idée d'un « deuxième cercle » a été formalisée en 1999 dans le rapport sur le principe de précaution (Kourilsky et Viney, 2000). Les auteurs y proposaient un premier cercle composé d'experts chargés d'évaluer les risques avec un point de vue technique et scientifique et un second cercle composé de quelques experts du premier cercle et d'économistes, d'acteurs sociaux et de représentants du public chargés de l'analyse des autres facteurs (sociaux, économiques, éthiques, etc.) (Pouteau et Ruas, 2002). Mais, de telles structures n'ont pas été créées. Toutefois, dans la nouvelle loi sur les biotechnologies qui devrait être votée en 2006, transposant dans le droit français la Directive 2001/18, il serait créé une commission regroupant la CGG, la CGB et le comité de biovigilance ; cette commission serait divisée en deux sections, l'une formée par des experts scientifiques donnant un avis scientifique, et l'autre où siégeraient en particulier les associations de consommateurs, les associations de défense de l'environnement et les organisations syndicales, chargée d'examiner la balance bénéfices/risques et les aspects socio-économiques (Le Déaut, 2005). On peut y voir là une amorce des deux cercles de Kourilsky et Viney (2000).

Conclusion

À ce jour, aucune réponse n'a vraiment été apportée par le gouvernement aux diverses initiatives de participation citoyenne (Joly *et al*., 2003). Cela traduit sans

doute un manque de volonté politique pour prendre en compte des principales conclusions émanant des dialogues entre scientifiques, profanes et membres des associations défendant des intérêts sociétaux (santé, environnement). Globalement, il est résulté de ces débats une plus grande transparence dans les décisions relatives aux politiques des biotechnologies depuis 1998 : les associations sont davantage consultées avec leur introduction dans la CGB et dans le Comité provisoire de biovigilance. Cependant le deuxième cercle socio-économique n'a jamais été mis en place.

Il serait sans doute encore nécessaire aujourd'hui d'organiser un large débat démocratique sur l'utilité et l'utilisation des plantes transgéniques. D'autres débats citoyens ont été mis en œuvre dans d'autres domaines, de façon encore limitée. En dehors des plantes transgéniques, les sujets qui interpellent tout citoyen et qui sont importants pour l'avenir de notre société ne manquent pas : les biotechnologies de façon plus large que la transgénèse, la place de l'agriculture dans la société, les nouvelles sources d'énergie, le commerce équitable, le développement durable… Ne serait-ce pas une façon pour tenter de réconcilier la société française avec son agriculture ?

Si le décideur politique ne va pas au devant de tels débats, alors une partie des citoyens posera le problème sur la place publique, de façon partisane, avec désobéissance civile, comme le montre la destruction des essais des plantes transgéniques en plein champ. Ce type de manifestation ne facilite pas le dialogue entre science-société-politique et biaise l'information des citoyens. La désobéissance vise à provoquer le débat public national qui n'a pas lieu. Certes l'exercice de la démocratie est un art difficile, mais nécessaire pour retrouver un dialogue constructif entre les parties en jeu. Le débat sur les plantes transgéniques pose donc tout le problème de la démocratie participative, et a eu le mérite d'amorcer une réflexion sur la gouvernance de la science.

Conclusion générale

Dans le monde, hors de l'Europe, les plantes transgéniques sont maintenant devenues une réalité économique. En Europe, l'application de la transgénèse à la sélection végétale est bloquée pour des raisons qui sont plus culturelles, éthiques et politiques que scientifiques et techniques.

La transgénèse pourrait pourtant être un outil très puissant dans les mains du sélectionneur pour construire plus rapidement des variétés de plantes répondant de mieux en mieux aux besoins de l'homme. Les plantes transgéniques actuelles ne sont sans doute qu'une étape, mais une étape quasi nécessaire dans la mise au point à grande échelle de nouvelles plantes génétiquement modifiées, avec la maîtrise complète du transfert d'un gène dans un génome. En effet, demander aux variétés transgéniques d'être « parfaites », avant qu'elles ne soient utilisées à grande échelle, est équivalent à les bloquer. L'histoire et l'économie des innovations nous apprend bien que l'efficacité d'une technique vient de son utilisation et non l'inverse (Joly, 1998). L'avenir est sans doute à d'autres types de plantes génétiquement modifiées avec d'autres outils que celui de la transgénèse. À terme, avec l'identification d'un nombre de plus en plus grand de gènes, grâce aux travaux de la génomique, le sélectionneur devrait disposer d'un outil lui permettant de faire mieux et plus rapidement ce qu'il fait aujourd'hui par la voie sexuée : transférer des gènes d'un génotype à l'autre sans qu'il y ait nécessairement transgression des barrières d'espèces. De plus, il sera sans doute possible de modifier directement un gène d'un génotype.

L'inquiétude du consommateur face aux plantes transgéniques est certes compréhensible, car il est préoccupé par les risques pour sa santé et pour l'environnement. L'inquiétude pour la santé trouve ses racines dans les deux catastrophes sanitaires récentes qu'ont été le sang contaminé et les farines animales. Pourtant les risques pour la santé apparaissent très faibles avec les précautions prises et il n'y a aucun risque sanitaire avéré lié aux plantes transgéniques déjà commercialisées et consommées depuis 10 ans, aux États-Unis et hors États-Unis. Les risques environnementaux peuvent par contre exister, mais ils sont à voir au cas par cas, selon les espèces, le transgène et les agrosystèmes. Certaines plantes transgéniques présentent un intérêt pour l'agriculteur, le consommateur ou l'industriel sans présenter de risques pour la santé et pour l'environnement. D'autres peuvent présenter un risque, essentiellement pour l'environnement. S'il faut tout faire pour limiter les risques lorsqu'il y en a, ce n'est pas une raison pour rejeter en bloc les plantes transgéniques. En fait, d'un point de vue uniquement scientifique ou technique, il n'est pas possible d'être complètement pour les plantes transgéniques, ni complètement contre.

Une autre raison du refus des plantes transgéniques par le consommateur est qu'il n'en voit pas nettement les avantages par rapport aux risques éventuels fortement soulignés par les médias. Pour favoriser leur acceptation par le citoyen, les entreprises de sélection devraient donc tenter de développer de nouveaux types de variétés transgéniques où la balance bénéfices/risques serait plus nette pour le consommateur et (ou) pour l'environnement qu'avec les variétés transgéniques actuelles. Même si les variétés transgéniques d'aujourd'hui présentent bien un intérêt pour le consommateur (qualité sanitaire) et pour l'environnement, le citoyen n'y est pas très sensible car elles sont vues comme un nouveau moyen d'augmenter la productivité de l'agriculture, déjà mal considérée suite aux problèmes des farines animales et de la pollution des nappes phréatiques par les nitrates et certains pesticides. Les avantages des plantes transgéniques devraient aussi être évalués par les instances officielles au même titre que les risques et surtout que la balance bénéfices/risques soit bien portée à la connaissance du citoyen. Les experts, les chercheurs, et les décideurs politiques doivent faire un effort de communication sur le sujet. Cela doit aussi passer par une réconciliation entre l'agriculteur et la société à laquelle il appartient.

Les plantes transgéniques apparaissent en fait comme une chance pour une agriculture durable, respectueuse de l'environnement (avec des variétés demandant moins de pesticides), produisant des récoltes de qualité (y compris de qualité sanitaire) et permettant à l'agriculteur de vivre, donc de durer. Dans ce type d'agriculture, cela ne signifie pas 100 % de variétés transgéniques résistantes aux herbicides et résistantes aux insectes, mais une utilisation optimale de ce type de variétés transgéniques en fonction des besoins agronomiques afin de limiter les risques d'apparition de mauvaises herbes ou d'insectes résistants. À côté de ces caractères agronomiques, la transgénèse peut aussi apporter à l'agriculteur de nouveaux débouchés par la diversification des productions, au-delà des usages alimentaires. Enfin, il y a tous les caractères d'intérêt direct pour le consommateur.

Mais le consommateur et l'agriculteur doivent rester libres de leur choix. Compte tenu des apports possibles pour la société et avec les précautions prises, empêcher le développement des plantes transgéniques est aussi anti-démocratique que de vouloir les imposer à tous. Pour cela une double filière permettant d'avoir des produits garantis sans OGM est sans doute une solution, même si cela apparaît complexe. Le législateur a déjà pris des mesures dans ce sens, et l'étiquetage est devenu obligatoire.

Le refus total des plantes transgéniques, loin de favoriser notre agriculture, risque au contraire de compromettre son maintien, avec toutes les conséquences prévisibles, non seulement pour notre économie agricole et agro-alimentaire, mais aussi pour l'environnement et l'espace rural. Il handicape aussi déjà fortement notre recherche en biologie végétale puisque la transgénèse est un outil très puissant de recherche pour comprendre le fonctionnement des organismes. Par suite d'un désinvestissement dans les travaux sur la transgénèse, il bloque la préparation des plantes de demain, non nécessairement transgéniques, et nous rendra dépendant des pays qui acquerront une nouvelle technologie. L'Europe paiera cher le retard technologique qu'elle est en train de prendre suite au blocage des plantes transgéniques. La solution est bien dans le développement de variétés transgéniques utiles

pour notre société en prenant le maximum de précaution lorsqu'il y a un risque éventuel. Le citoyen devrait faire plus confiance aux dispositifs d'agrément d'une variété transgénique et aux mesures de biovigilance qui accompagnent son développement.

Les plantes transgéniques cristallisent en fait différentes réactions, en particulier refus de l'artificialisation du vivant, avec une crainte pour notre santé, et refus du libéralisme, de la mondialisation, et de l'appropriation du vivant par quelques entreprises… Ce sont des problèmes qui débordent largement le problème des plantes transgéniques, puisque cela va jusqu'au choix du type de société. Les craintes pour la santé ne se sont pas jusque là avérées justifiées, et, comme les craintes pour l'environnement, elles apparaissent bien contrôlées par les mesures prises. Quant à la réaction contre le libéralisme, il est clair que le domaine du vivant présente plus de risque que celui du non-vivant. Pour rester dans un cadre amélioration des plantes et agriculture durable, il y a en particulier le risque de voir disparaître la diversité des sélectionneurs et donc des variétés cultivées adaptées à nos conditions de culture, qu'elles soient transgéniques ou non. La transgénèse à travers des brevets sur les transgènes peut accentuer la concentration des entreprises. Il faut donc aménager le droit des brevets de telle sorte qu'il protège et stimule bien toujours l'innovation, mais sans avoir tous les effets négatifs qui lui sont associés. Cela ne peut pas être vu indépendamment d'une certaine politique de recherche nationale et européenne, mais aussi d'une politique économique. Cela pourrait contribuer à rompre la liaison qui semble s'être établie dans l'esprit du citoyen entre plantes transgéniques et entreprises monopolistiques.

Enfin, il y a une dimension sociétale dans le refus des plantes transgéniques qui résulte d'une mauvaise interaction entre société, science et politique. Il n'y a pas eu assez de communication, et suffisamment tôt, de la part des institutions de recherches et des chercheurs eux-mêmes sur ce qu'était une plante transgénique, sur les avantages attendus pour notre agriculture et pour le consommateur, ainsi que sur les risques éventuels et la façon de les maîtriser. Quant au décideur politique, il s'est retrouvé dans une position délicate, incapable d'arbitrer clairement entre le rejet des plantes transgéniques par la société et le soutien à une politique de recherche en matière de biotechnologie. Cela pose le problème de savoir comment définir une politique de recherche et de développement dans le domaine des biotechnologies. La société doit être associée à son élaboration, les chercheurs doivent informer, communiquer régulièrement sur leurs travaux, et les décideurs doivent savoir gérer la politique ainsi définie. C'est une nouvelle forme de démocratie scientifique qui est à inventer : l'intérêt d'une innovation en biotechnologie ne peut pas être déclaré par les chercheurs seuls, mais il ne peut pas non plus l'être par la société seule, sans les chercheurs. Dommage de ce point de vue que l'expérience très positive de la Conférence de citoyens organisée en 1998, n'ait pas eu de suite… Pour faciliter l'exercice de la démocratie dans ce domaine du développement des biotechnologies, il faut plus de communication entre société, science et politique.

Un des buts de cet ouvrage a été d'essayer de contribuer à cette communication en tentant d'apporter toutes les informations pour faire réfléchir le lecteur sur ce dossier complexe des plantes transgéniques, en montrant bien ce qu'elles sont et ce qu'elles peuvent apporter, avec leurs avantages, leurs risques éventuels, et la façon

de gérer ces risques. Nous avons aussi cherché à séparer les aspects techniques, scientifiques des aspects éthiques ou politiques. Cette segmentation des problèmes peut favoriser le dialogue sur un sujet qui a de nombreuses facettes. Aujourd'hui, nous sommes à une charnière importante et il est difficile de dire ce que retiendra l'histoire de tous les débats sur les plantes transgéniques : une prudence exemplaire dans l'acceptation d'une nouvelle biotechnologie ou l'isolement de l'Europe dans le refus d'une biotechnologie qui aurait pu apporter beaucoup à son agriculture et à sa bio-industrie ?

Références bibliographiques

Académie des sciences, 2002. *Les plantes génétiquement modifiées*. Rapport sur la science et la technologie. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 168 p.

Académie de médecine, Académie de pharmacie, 2002. OGM et santé. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 108 p.

Acre, 2004. *Advice on the implications of the farm-scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops*. January 2004, the 13th. http://www.defra.gov.uk/environment/gm/fse

Afssa, 2002. Évaluation des risques relatifs à la consommation de produits alimentaires composés ou issus d'organismes génétiquement modifiés. Document, janvier 2002.

Afssa, 2003. Saisine 2003-SA-0325.

Afssa, 2004. OGM et alimentation : peut-on identifier et évaluer des bénéfices pour la santé ? Rapport. http:// www.agrobiosciences.org/imprime.php3?id_article=125.

AGPM, 2004. Le désherbage du maïs encore plus professionnel. *AGPM-Technique Info*, avril 2004, n° 319.

AGPM, 2005. Comment OGM et non OGM pourront-ils co-exister ? *AGPM-Technique Info*, n° 331.

AGBIOS, GM Database, 2004. http://www.agbios.com/dbase.php?action=Synopsis

Agreste Primeur, 2003. http://www.agreste.agriculture.gouv.fr

Ahmed A.I., Osuga D.T., Feeney R.E., 1973. Antifreeze glycoprotein from Antarctic fish. Effects of chemical modifications of carbohydrate residues on antifreeze and antilectin activities. *J. Biological Chemistry*, 248, 8524-8527.

Allison R.F., 1997. Significance of RNA recombination in capsid protein-mediated virus-resistant transgenic plants. In Tepfer M., Balazs E., 1997. *Virus resistant transgenic plants: potential ecological impact*. Coéd. Inra Springer Verlag, pp. 40-44.

Ammann K., 1999. Les OGM, entre mensonges et hystérie. *La Recherche*, 325, 104-107.

Andersen P.P., Cohen M.J., 2000. Les biotechnologies au secours du Sud ? *Biofutur*, 200, 48-53.

Anglade P., Barrière Y., Beckert M., Boyat A., Derieux M., Gallais A., Giauffret C., Hébert Y., Pollacsek M., 1989. Le maïs. *In* Gallais A., Bannerot H., 1989. *Amélioration des espèces végétales cultivées*. Éd. Inra, Paris p. 106-108.

APHIS, 2003. USA environmental release database (information on field tests of genetically modified organisms). USDA, Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). http://www.isb.vt.edu/.

Apoteker A., 1999. *Du poisson dans les fraises*. Éd. la Découverte, Paris, 231 p.

Apse M.P., Aharon G.S., Snedden W.A., Blumwazld E., 1999. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 285, 1256-1258.

Arcadia International, 2000. Economics of identity preservation and traceability. The cas of imported soy in feed/meat. Bruxelles.

Arcane, 1999. Sondages sur les OGM auprès des agriculteurs français.

Avery O.T., MacLeod C.M., McCarty M., 1944. Studies on the chemical transformation of Pneumococcal types. *J. Exp. Medecine*, 79, 137-158.

Auld D.L., Heikkinen M.K., Erickson D.A., Sernyck J.L., Romero J.E., 1992. Rapeseed mutants with reduced levels of polyinsaturated fatty-acids and increased levels of oleic-acid. *Crop Sci*., 32, 657-662.

Avni A., Edelman M., 1991. Direct selection for paternal inheritance of chloroplasts in sexual progeny of *Nicotiana*. *Mol. Gen. Genet*., 225, 273-277.

Babusiaux C., Le Déaut J.-Y., Sicard D., Testart J., 2002. Rapport à la suite du débat sur les OGM et les essais au champ. Ministère de

l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Paris, France.

Bakry F., 2001. La diversité génétique des bananiers et les perspectives de création de nouvelles variétés : pourquoi, comment. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, 87, 129-141.

Baranger A., Chèvre A.M., Eber F., Renard M., 1995. Effect of oilseed rape genotype on the spontaneous hybridization rate with a weedy species: an assessment of transgene dispersal. *Theoret. Appl. Genet.*, 91, 956-963.

Baranger A., Delourme R., Foisset N., Barret P., Dupuy P., Renard M., Chèvre A.M., 1997. Wide mapping of a T-DNA insertion site in oilseed rape using Bulk Segregant Analysis and comparative mapping. *Plant Breeding*, 116, 553-560.

Barrière Y., Vérité R., Brunschwig P., Surault F., Emile J.C., 2001. Feeding value of corn silage estimated with sheep and dairy cows is not altered by genetic incorporation of *Bt* 176 resistance to *Ostrinia nubilalis*. *J. Dairy Sci.*, 83 (suppl. 1), 1184 (Abstr.).

Barrière Y., Guillet C., Goffner D., Pichon M., 2003. Genetic variation and breeding strategies for improved cell wall digestibility in annual forage crops. A review. *Anim. Res.*, 52, 193-228.

Bateman A.J., 1947a. Contamination in seed crops. I. Insect pollination. *J. Genet.*, 48, 257-275.

Bateman A.J., 1947b. Contamination in seed crops. II. Wind pollination. *Heredity,* 1, 235-246.

Baucher M., Monties B., van Montagu M., Boerjan W., 1998. Biosynthesis and genetic engineering of lignin. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 17, 125-197.

Beck U., 2001. *La société du risque. Sur la voie d'une autre modernité*. Paris, Aubier. Traduction française L. Bernardi, 521 p.

Belongia *et al.*, 1990. An investigation of the cause of the eosiniphilia-myalgia syndrome associated with tryptophan use. *New England Journal of Medecine*, 323, 357.

Benbrock C., 2003. OGM et pesticides. *L'écologiste*, 4, 48-50.

Berche P., 2000. Les plantes transgéniques et la résistance aux antibiotiques. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, 86, 103-112.

Berlan J.P., Hansen M., Lannoye P., Pons S., Séralini G.-E., 2003. *La guerre au vivant. Organismes génétiquement modifiés et autres mystifications scientifiques*. Agone, Comeau & Nadeau.

Bertheau Y., Diolez A., 1999. Les aliments passés au crible. *Biofutur*, 192, 28-32.

Bertin P., Gallais A., 2001. Genetic variation for nitrogen use efficiency in a set of recombinant inbreed lines in maize. II QTL detection and coincidences. *Maydica*, 46, 53-68.

Birch A.N.E., Geoghegan I.E., Majerus M.E.N., MacNicol J.W., Hackett C.A., Gatehouse A.M.R., Gatehouse J.A., 1999. Tritrophic interactions involving pest aphids, predatory 2-spot ladybirds and transgenic potatoes expressing snowdrop lectin for aphid résistance. *Mol. Breed.*, 5, 75-83.

Bizily S.P., Rugh C.L., Summers A.O., Meagher R.B., 1999. Phytoremediation of methylmercury pollution: *mer*B expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 96, 6808-6813.

Blakeslee A.F., Avery A.G., Cartledge J.L., 1938. Induction of polyploids in *Datura* and other plants by treatment with colchicine. *Genetics*, 23, 140-141.

Bongcam V., Caldelari D., Poirier Y., 1998. De curieuses usines à plastique. *Biofutur*, 184, 84-85.

Bonny S., 1998. L'emploi d'organismes génétiquement modifiés en agriculture : quel intérêt et quelles limites au niveau économique ? *Courrier de l'environnement de l'Inra*, 34, 75-86.

Bonny S., 2002a. Le succès des cultures transgéniques aux États-Unis : facteurs agro-économiques et perspectives. *Économie rurale*, 267.

Bonny S., 2002b. Bilan agro-économique des cultures transgéniques aux États-Unis : le cas du soja tolérant à un herbicide, le glyphosate. AIP-Inra « OGM et environnement ». Séminaire 30 avril 2002. Document Inra, p. 78-87.

Bonny S., 2003. Why are most Europeans opposed to GMOs? Factors explaining rejection in France and Europe. *Electronic J. of Biotech.*, 6, 20-41.

Bonny S., 2004a. Success factors, issues and prospects for the first GM crops: the case of Roundup Ready soybean in the USA, 7th ICABR International Conference on Public Goods and Public Policy for Agricultural Biotechnology, Ravello, 2003/06/29 ; 2003/07/03, 20 p.

Bonny S., 2004b. La perception des OGM par le grand public. In *Regards sur les biotechnologies*, Durand C., Éd. L'Harmattan, Paris.

Bonny S., 2004c. Le débat sur les OGM en France : une interrogation sur ses formes, son objet, ses directions et ses enjeux. *Terminal, Technologie de l'information, Culture et Société. Dossier spécial biotechnologies*, 90, 151-156.

Bonny S., 2005. Quelle place pour les cultures transgéniques en protection des plantes ? Aspects agro-économiques. In *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement du XXIe siècle*, C. Regnault-Roger, coord. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

Boudet A.-M., 1996. La lignification domestiquée. *Biofutur*, 158, 27-31.

Boudet A.-M., 2000. Lignins and lignification. Selected issues. *Plant Physiol. Biochem.*, 38, 81-96.

Boulaine J., 1992. *Histoire de l'agronomie en France*. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 392 p.

Bourguet D., Genissel A., Raymond M., 2000. Insecticide resistance and dominance levels. *J. Econ. Entomol.*, 93, 1588-1595.

Bourguet D., Chauffaux J., 2002. Pyrale du maïs et maïs transgénique *Bt* : sélection et gestion de la résistance. AIP-Inra « OGM et environnement ». Séminaire 30 avril 2002. Document Inra, p. 66-68.

Bourguet D., Desquilbet M., Lemarié S., 2002. Gestion des maïs *Bt* aux USA. Mise en place des zones refuges. Document Inra.

Bourguet D., Desquilbet M., Lemarié S., 2003. Le dispositif des zones refuges pour le maïs *Bt* aux États-Unis. *Courrier de l'environnement de l'Inra*, 48, 82-88.

Bourguet D., Desquilbet M., Lemarié S., 2005. Regulating insect resistance management: the case of non-*Bt* corn refuges in the US. *J. Envir. Management*, 76, 210-220.

Bourque J.E., 1995. Antisense strategies for genetic manipulations in plant. *Plant Sci.*, 105, 125-149.

Boy D., Donnet-Kamel D., Roqueplo P., 2000. Un exemple de démocratie participative : la conférence de citoyens sur les organismes génétiquement modifiés. *Revue Française de Sciences Politiques*, 50, 779-809.

Boynton J.E., Gillham N.W., Harris E.H., Hosler J.P., Johnson A.M., Jones A.R., Randolph-Anderson B.L., Robertson D., Klein T.M., Shark K.B., Sanford J.C., 1988. Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high-velocity microprojectiles. *Sciences*, 240, 1534-1538.

Brac de la Perrière R.A., Seuret F., 2002. *Graines suspectes. Les aliments transgéniques : une menace pour les moins nantis*. Éd. Enjeux Planète, Paris 220 p.

Bradford K.J., van Deynze A., Gutterson N., Parrott W., Strauss S.H., 2005. Regulating transgenic crops sensibly: lessons from plant breeding, biotechnology ans genomics. *Nature Biotech.*, 23, 439-444.

Brinch-Pedersen H., Olesen A., Rasmussen S.K., Holm P.B., 2000. Generation of transgenic wheat (*Triticum aestivum*) for constitutive accumulation of an *Aspergillus* phytase. *Mol. Breed.*, 6, 195-206.

Britto D.T., Kronzucker H.J., 2004. Bioengineering nitrogen acquisition in rice: can novel initiatives in rice genomics and physiology contribute to global food security? *BioEssays*, 26, 683-692.

Brunaud V., Balzergue S., Dubreucq B., Aubourg S., Samson F., Chauvin S., Bechtold N., Curaud C., De Rose R., Pelletier G., Lepiniec L., Caboche M., Lecharny A., 2002. T-DNA integration into the *Arabidopsis* genome depends on sequences of pre-insertion sites. *Embo Rep.*, 3, 1152-1157.

Broun P., Gettner S., Somerville C., 1999. Genetic engineering of plant lipids. *Annu. Rev. Nutr.*, 19, 197-216.

Bulant C., 1997. *Contribution à l'étude de l'effet du pollen sur le développement des grains de maïs. Conséquences agronomiques*. Thèse de Doctorat, Université d'Orsay.

Bulant C., Gallais A., 1999. Xenia effects in maize with normal endosperm. I. Importance and stability. *Crop Sci.*, 38, 1517-1525.

Bullock D., Nitsi E., 2001. Roundup ready soybean technology and farm production costs: measuring the incentive to adopt GM seeds. *American Behavioral Scientist*, 44, 1283-1301.

Callon M., Lascoumes P., Barthe Y., 2001. *Agir dans un monde incertain : essai sur la démocratie technique*. Le Seuil, Paris.

Candresse T., 1998. Plantes transgéniques résistantes aux maladies. *Le Sélectionneur Français*, 49, 31-40.

Canola Council of Canada, 2001. An agronomic and economic assessment of transgenic canola. www.ogm.gouv.qc.ca/ref_moins_pesticides.html.

Cao M.Q., 2004. Les plantes transgéniques en Chine. *Séance de l'Académie d'agriculture de France* 28/01/2004. Beijing Agrobiotechnology Research Center.

Cao H., Li X., Dong X., 1998. Generation of broad-spectrum disaese resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 95, 6531-6536.

Casse-Delbart F., 1996. La transgénèse végétale. In Kahn A., 1999. *Les plantes transgéniques en agriculture. Dix ans d'expérience de la Com-*

mission de génie biomoléculaire. Éd. John Libbey Eurotext, p. 59-88.

Casse F., 2002. Les plantes transgéniques : les risques et la réglementation. In Douce R. *Les plantes génétiquement modifiées*. Rapport sur la science et la technologie, Académie des sciences, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p. 70-93.

CE. Directive 90/220/CE du Conseil du 23 avril 1990 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement. J.O.C.E. L117, 08-05-90, p. 15-27.

CE. Règlement (CE) 258/97 du Parlement européen et du Conseil du 27 janvier 1997 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires. J.O.C.E., L43, 14-02-97, p. 1-7.

CE. Directive 2001/187/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil. J.O.C.E., L106, 17-04-2001, p. 1-39.

CGB, 1999. Les saisines de la CGB. Saisine ministérielle : effet du pollen de maïs résistant aux insectes sur le papillon Monarque. *Rapport*, p. 20-22.

CGB, 2001. 1. Première approche de l'analyse des bénéfices de l'utilisation de betteraves tolérantes au glyphosate. 2. Première approche de l'analyse des bénéfices de la stratégie de lutte contre la pyrale avec des maïs transgéniques. Rapport.

CGB, 2003a. *Impact sur l'environnement des cultures de colza génétiquement modifié tolérant à un herbicide*. Actes du séminaire international du 28/11/2003.

CGB, 2003b. Avis du 31 octobre 2003.

Chakraborty S., Chakraborty N., Datta A., 2000. Increased nutritive value of transgenic potato by expressing a non allergic seed albumin gene from *Amaranthus hypochonriacus*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 97, 3724-3729.

Champagne P., 2002. Effets médiatiques : réflexions sur l'éthique des médias. In *Actes de l'Université d'été de l'innovation rurale*. http://www.agrobiosciences.org/doc/7_univ_marciac.pdf

Charcosset A., Gallais A., 1998. Intérêt des marqueurs en sélection. In de Vienne D., 1998. *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales*. Éd. Inra, Paris, p. 139-159.

Chao T.C., Maxwell S.M., Wong S.Y., 1991. An outbreak of aflatoxicosis and boric acid poisoning in Malaysia: a clinicopathological study. *J. Pathol*., 164, 225-233.

Chat J., 2003. Transmission des génomes cytoplasmiques phylogénie moléculaire chez *Actinidia*. Thèse de Doctorat *Ina P-G*.

Chauffaux J., Sanchis V., Lereclus D., 1996. *Bacillus thurigiensis* : un réservoir d'insecticides. *In* A. Khan, *Les plantes transgéniques en agriculture*, John Libbey Eurotext, 165 p.

Chauffaux J., Seguin M., Swanson J.J., Bourguet D., Siegfried B.D., 2001. Chronic exposure of the European corn borer to *Cry1A(b) Bacillus thuringiensis* toxin. *J. Econ. Entomol*., 94, 1564-1570.

Chevassus-au-Louis B., 2001. OGM et agriculture : options pour l'action publique. Commissariat général du plan, rapport groupe présidé par B. Chevassus-au-Louis. La Documentation Française, 393 p.

Chèvre A.M., Eber F., Baranger A., Kerlan M.C., Barret P., Vallée P., Renard M., 1996. Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic *Brassicas*. *Acta Horticulturae*, 407, 169-179.

Chèvre A.M., Eber F., Baranger A., Renard M., 1997. Gene flow from transgenic plants. *Nature*, 389, 924.

Chèvre A.M., Eber F., Baranger A., Vallée P., Pierre J., Renard M., 1998. Impact de la transformation génétique du colza. *Cahiers Agricultures*, 7, 525-530.

Chèvre A.M., Eber F., Darmency H., Picault H., Letanneur J.C., Renard M., 2000. Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal and agronomic conditions. *Theoret. Appl. Genet.*, 100, 1233-1239.

Chèvre A.M., Eber F., Jenczewski E., Renard M., 2002. Effet de la structure génomique des hybrides interspécifiques colza-ravenelle sur la composition chromosomique des générations ultérieures. AIP-Inra « OGM et environnement ». Séminaire 30 avril 2002. Document Inra p. 56-59.

Chilton M.D., 1977. Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells: the molecular basis of crown gall tumorigenesis. *Cell,* 11, 263-271.

Chong M., 2003. Acceptance of golden rice in the Philippines "rice bowl". *Nature Biotech*., 21, 971-972.

Christou P., 2002. No credible scientific evidence is presented to support claims that transgenic DNA was introgressed into traditional maize landraces in Oxaca, Mexico. *Transgenic Research*, 11, iii-v.

Chupeau Y., 2000. L'amélioration de la sécurité alimentaire : vers une vision plus sereine des plantes transgéniques. *C.R. Acad. Agric. Fr.,* 86, 25-36.

Cirad. http://www.cirad.fr/fr/web_savoir/dossier/index.php

Clavilier L., Hervieu F., Letodé O., 1999. *Gènes de résistance auxantibiotiques et plantes transgéniques*. Éd. Inra, Paris, 206 p.

Clausen M., Krauter R., Schachermayr G., Potrykus I., Sautter C., 2000. Antifungal activity of a virally encoded gene in transgenic wheat. *Nat. Biotech*., 18, 446-449.

Cohen S.N., Chang A.C., Boyer H.W., Helling R.B., 1973. Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70, 3240-3244.

Conner A.J., Glare T.R., Nap J.P., 2003. The release of genetically modified crops into the environment. *The Plant J.,* 33, 19-46.

C.N.A., Conseil national de l'alimentation. 2001. *Concertation et débat public en matière de politique alimentaire : enjeux et aspects méthodologiques*. Avis, Paris, n° 29.

Conseil pontifical « Justice et Paix », 2003. OGM : menace ou espérance ? Séminaire d'étude, 10-11 novembre 2003.

Courvalin P., 1998. Plantes transgéniques et antibiotiques. *La Recherche*, 309, 36-40.

Crawley M.J., Hails R.S., Rees M., Kohn D., Buxton J., 1993. Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature*, 363, 620-623.

Crawley M.J., Brown S.L., Hails R.S., Kohn D.D., Rees M., 2001. Transgenic crops in natural habitats. *Nature*, 409, 682-683.

Crecchio C., Stotzsky G., 1998. Binding of DNA on humic acids: effect on transformation of *Bacillus subtilis* and resistance to DNAase. *Soil Biol. Biochem*., 30, 1061-1067.

CSA, 2004. http://www.csa-fr.com/fra/dataset/data2004/opi20040915d.htm

Curtis I.S., Ower J.B., de Laat A.M.M., Caboche M., Davey M.R., 1999. Expression of a chimeric nitrate reductase gene in transgenic lettuce reduces nitrates in leaves. *Plant Cell Reports*, 18, 889-896.

Dale E.C., Ow D.W., 1990. Intra and intermolecular site-specific recombination in plant cells mediated by bacteriophage T1 recombinase. *Gene*, 91, 79-85.

Dale M.F.B., Dewar A.M., Fisherr S.J., Haydock P.P.J., Jaggard K.W., 1998. Transgenic herbicide tolerant sugar beet – present status and future developments. *Aspects Appl. Biology*, 52, 273-278.

Daniell H., 2002. Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nature Biotech*., 20, 581-586.

Daniell H., 2002. Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nature Biotech*., 20, 581-586.

Datta S.K., 2002. Recent developments in transgenics for abiotic stress tolerance in rice. *JIRCAS Working Report*, 43-53.

De Cheveigné S., Boy D., Galloux J.C., 2002. *Les biotechnologies en débat : pour une démocratie scientifique*. Éd. Balland, Paris, 254 p.

Décor J.P., 2004. Utilisation des plantes dans la production de molécules à valeur d'usage. *Séance Académie d'agriculture* de France du 27/04/04.

Djennane S., Chauvin J.E., Quilleré I., Meyer C., Chupeau Y., 2002. Introduction and expression of a deregulated tobacco nitrate reductase gene in potato lead to highly reduced nitrate levels in transgenic tubers. *Transgenic Research*, 11, 175-184.

Defra, 2003. www.defra.gov.uk/environment/gm/research/epg-zg0216.htm

Djennane S., Quilleré I., Leydecker M.-T., Meyer C., Chauvin J.E., 2004. Expression of a deregulated tobacco nitrate reductase gene in potato increases biomass production and decreases nirate concentration in all organs. *Planta*, 219, 884-893.

Desquilbet M, Lemarié S., Levert F., Carrère M., 2001. La diffusion potentielle des OGM en France et son impact sur le revenu des agriculteurs et des firmes situées en amont. *In* Lemarié S., Desquilbet M, Diemer A., Marette S., Levert F., Carrère M., 2001. *Les répartitions possibles entre les acteurs de la filière agro-alimentaire des gains éventuels tirés des plantes transgéniques en France*. Étude réalisée pour le Commissariat général du Plan (convention 01/2001).

Devare M.H., Jones C.M., Thies J.E., 2004. Effect of Cry3Bb transgenic corn and tefluthrin on the soil microbial community: biomass, activity, and diversity. *J. Environ. Qual*., 33, 837-843.

de Vienne D., 1995. *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales*. Éd. Inra, Paris, 200 p.

de Vilmorin L., 1856. Note sur la création d'une nouvelle race de betterave à sucre. Considération sur l'hérédité dans les végétaux. *C. R. Acad. Sci.*, XLIII, 18, 112-114.

de Vries H., 1900. Sur la loi de disjonction des hybrides. *C. R. Acad. Sci*., Paris, 130, 845-847.

de Vries A.P., 1974. Some aspects of cross-pollination in wheat (*Triticum aestivum*). Seed set on male sterile plants as influenced by distance from pollen source. *Euphytica*, 23, 601-622.

de Vries J., Wackernagel W., 2002. Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. By homology-facilicitated illegitimate recombination. *Proc. Nat. Acad. Sci*., 99, 2094-2099.

Dore C., 1989. Cinquantenaire de la culture *in vitro* chez les végétaux. *X^e Colloque de la Section française de l'International Association for Plant Tissue Culture*, Versailles, Inra, 347 p.

Douce R., 2002. *Les plantes génétiquement modifiées. Rapport sur la Science et la Technologie*. Acad. Sci., Tec et Doc, Lavoisier, 165 p.

Dove A., 2002. Uncorking the biomanufacturing bottleneck. *Nature Biotech*., 20, 777-779.

Down R.E., Ford L., Woodhouse S.D., Raemaemarkers R.J.M., Leitch B., Gatehouse J.A., Gatehouse A.M.R., 2000. Snowdrop lectin (GNA) has no acute toxic effects on a beneficial insect predator, the 2-spot ladybird (*Adalia bipunctata*). *J. Insect Physiol*., 46, 379-391.

Drescher (von) N., Schiweck H., 1971. Das verhalten von pyrazon und seinen Metaboliten wahrend der Vegetation und Verarbeitung von Zuckerrüben. *Zucker*, 24, 500-503.

Dudley J.W., Lambert R.J., 2004. 100 generations of selection for oil and protein in maize. *Plant Breed. Rev*., 24 (Part I), 79-110.

Durand-Tardif M., Candresse T., 2004. Apport de la génétique à la protection des plantes. *Biofutur*, 242, 16-23.

Eastham K., Sweet J., 2002. Genetically modified organisms: the significance of gene flow through pollen transfer. *European Environment Agency, Environmental issue report*, 28. http://reports.eea.europa.eu/environmental_issue_report_2002_28/en

Eber F., Chèvre A.M., Baranger A., Vallée P., Tanguy X., Renard M., 1994. Spontaneous hybridization between a male-sterile oilseed rape and two weeds. *Theor. Appl. Genet.*, 88, 362-368.

Ebinuma H., Sugita K., Matsunaga E., Yamakado M., 1996. Selection of marker-free transgenic plants using the isopentenyl transferase gene. *Proc. Nat. Acad. Sci.,* 94, 2117-2121.

Edge J.M., Benedict J.H., Carroll J.P., Reding H.K., 2001. Bollgard cotton: an assessment of global economic, environmental and social benefits. *The Journal of Cotton Science*, 5, 121-136.

Ellstrand N.-C., Prentice H.-C., Hancock J.F., 1999. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Rev. Ecol. Syst*., 30, 539-563.

Elmore R.W., Roeth F.W., Nelson L.A., Shapiro C.A., Klein R.N., Knezevic S.Z., Martin A., 2001. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. *Agr. J.,* 93, 408-412.

Endo S., Sugita K., Ebinuma H., Tada K, Lijun Y., Takaiwa F., Jomori T., Hayashi Y., 2003. Development of transgenic rice seeds expressing insulinotropic GLP-1 peptid. *21th Annual Meeting of the Japanese Society for Plant Cell and Molecular Biology, Japan, Kagawa*, August 7-8, 2003.

E.P.A., U.S. Environmental Protection Agency, 1989. Carbofuran: a special review technical support document (US EPA, Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington DC).

E.P.A., U.S. Environmental Protection Agency, 2001. www.epa.gov/pesticides/biopesticides/otherdocs/bt_cotton_refuge_2001.htm

Eurobarometer, 2000. Europeans and biotechnology. *Eurobarometer,* 52.1. 84 p. http://www.ec.europa.eu/research/pdf/eurobarometer-en.pdf

Eurobarometer, 2001. Europeans and biotechnology. *Eurobarometer,* 55.2. 62 p. http://ec.europa.eu/public-opinion/archives/ebs_154_fr.pdf

Eurobarometer, 2002. Europeans and biotechnology in 2002. *Eurobarometer*, 58.0. Gaskell G., Allum N., Stares S. 46 p.

European Environment Agency, 2002. Genetically modified organisms: the significance of gene flow through pollen transfer. Environmental issue report, n° 28.

Ewen S.W.B., Pusztai A., 1999. Effects of diets containing gentically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *The Lancet*, 354, 1353-1354.

FAO. Rapport de l'évaluation du codex alimentarius et autres activités de la FAO et de l'OMS sur les normes alimentaires. http://www.fao.org/docrep/meeting/005/y7871f/y7871f00.htm

Faye L., Lerouge P., Gomord V., 2002. OGM et production de molécules pharmaceutiques. *Bull. Acad. Nat. Med*., 186, 1411-1425.

Faye L., Lerouge P., Gomord V., 2003. OGM et production de molécules pharmaceutiques. In A. Rérat, *Rapport bi-académique OGM et santé*, Académie nationale de médecine, Académie

nationale de pharmacie, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p. 53-63.

Fearing P.L., Brown D., Vlachos D., Meghji M., Privalle L., 1997. Quantitative analysis of *Cry1A(b)* expression in *Bt* maize plants, tissues and silage, and stability of expression over successive generations. *Molecular Breeding*, 3, 169-176.

Ferreira S.A., Pitz K.Y., Manshardt R., Zee F., Fitch F., Gonsalves D., 2002. Virus coat protein transgenic papaya provides practical control of papaya ringspot virus in Hawaii. *Plant Dis*., 86, 101-105.

Feillet P., 1999. Transgénèse et alimentarité. Gérer le bon vivant pour assurer le bien être. *Le Sélectionneur Français,* 49, 41-54.

Felsot A.S., 2000. Insecticidal genes. Part 2: Human health hoopla. *Agrichemical and environmental news*, 168, 1-7.

Feyt H., 2001. La protection de la propriété intellectuelle sur le vivant : historique et débats actuels autour des variétés végétales. *OCL*, 8, 514-523.

Firbank L.G., Forcella F., 2000. Genetically modified crops and farmland biodiversity. *Science*, 289, 1481-1482.

Firbank L.G., 2003. Impacts des colzas de printemps tolérants à un herbicide pour la biodiversité des terres agricoles. In *Impact sur l'environnement des cultures de colza génétiquement modifié tolérant à un herbicide*, Commission de génie biomoléculaire. 28/11/2003, p. 44-49.

Florigene, 2002. http://www.ogtr.gov.au/rtf/ir/dir030finalrarmp.rtf www.florigene.com

Food Standard Agency (FSA, UK), 2003. http://www.food.gov.uk/news/newarchive/2003/sep/maize

Fox J.L., 2003. Resistance to *Bt* toxin surprisingly absent from pest. *Nature Biotechnology*, 21, 958-959.

Fox-Keller E., 2000. *Le siècle du gène*. Éd. Gallimard, Paris, 180 p.

Fraley R.T., Rogers S.B., Horsch R.B., 1983. Use of a chimeric gene to confer antibiotic resistance to plant cells. *Advances in Gene Technology: Molecular Genetics of Plants and Animals*. Miami Winter Symposia, 20:211-221.

Framond A.J., Bevan M.W., Barton K.A., Flavell F., Chilton M.D. 1983. Mini-Ti plasmid and a chimeric gene construct: new approaches to plant gene vector construction. *Advances in Gene Technology: Molecular Genetics of Plants and Animals*. Miami Winter Symposia Vol. 20:159-170.

Franche C., Duhoux E., 2001. *La transgénèse végétale*. Biocampus, Elsevier, 191 p.

Freyssinet G., 2004. De la pharmacopée traditionnelle au « molecular pharming », *in Utilisation des plantes dans la production de molécules à valeur d'usage. Séance Académie d'agriculture* du 27/04/04.

Fuentes S.I., Alen D.J., Ortiz-Lopez A., Hernandez G., 2001. Overexpression of cytosolic glutamine synthetase increases photosynthesis and growth at low nitrogen concentrations. *J. Exp. Bot*., 52, 1071-1081.

Fulton M., Keyowski L., 1999. The producer benefits of herbicide resistant Canola. *AgBioForum*, 2, 1-11.

Gaillardin C., 2002. Les levures transgéniques : outils pour l'agroalimentaire, l'industrie chimique et la pharmacie. *In* Douce R. *Les plantes génétiquement modifiées. Rapport sur la science et la technologie*, Académie des sciences, Tec et Doc, pp. 118-138.

Gale M.D., Devos K.M., 1998. Comparative genetics in the grasses. *Proc. Nat. Acad. Sci*., 95, 1971-1974.

Galhardi R., 1996. Trade implications of biotechnology in developing countries: a quantitative assessment. *Technology in Society*, 18, 17-40.

Galili G., Galili S., Lewinsohn E., Tadmor Y., 2002. Genetic, molecular and genomic approaches to improve the value of plant food and feeds. *Critical Rev. in Plant Sciences*, 21, 167-204.

Gallais A., 1981. Amélioration des populations en vue de la création de variétés. *Le Sélectionneur Français*, 29, 5-23.

Gallais A., 1989. *Théorie de la sélection en amélioration des plantes*. Masson, Paris.

Gallais A., 1999. Les plantes transgéniques en agriculture. *L'eurobiologiste*, 240, 23-28.

Gallais A., 2000. Évolution des outils de l'amélioration des plantes : de la sélection généalogique à la transgénèse. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, 86, 13-26.

Gallais A., 2002. Progrès génétique chez le maïs. *Le Sélectionneur Français*, 53, 23-34.

Gallais A., 2003. *Quantitative genetics and breeding methods in autopolyploids plants*. Éd. Inra, Paris, 515 p.

Gallais A., 2005. Progrès réalisés en amélioration des plantes et agriculture durable. *Communication Séance Académie d'agriculture de France*, 01/05/2005.

Gallais A., Bannerot H., 1989. *Amélioration des espèces végétales cultivées*. Éd. Inra, Paris, 768 p.

Gallais A., Hirel B., 2004. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *J. Exp. Bot.*, 55, 295-306.

Gallais A., Charcosset A., Goldringer I., Hospital F., Moreau l., 2000. in Plant breeding in Gallais A., Dillman C., Goldringer I., Eucarpia, quantitative genetics and breedings methods : the wayadhead, Colloque 96, Éd. Inra. *Proc 11th Meeting Eucarpia Section "Biometrics in Plant Breeding", Paris, 30-31 August-1 September.* Éd. Inra, Paris, p. 183-198.

Garg A.K., Kim J.K., Owens T.G., Ranwala A.P., Choi Y.D., Kochian L.V., Wu R.J., 2002. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 99, 15898-15903.

Gaskell G., Allum N., Stares S., 2003. Europeans and Biotechnology in 2002. *Eurobarometer* 58.0, 2nd Edition.

Gaul H., 1961. Use of induced mutants in seed-propagated species. *Proc. Symposium on mutation and plant breeding*. Pub 891, NAS-NRC, Washington, p. 206-251.

Gayon J., Zallen D.T., 1998. The role of the Vilmorin company in the promotion and diffusion of the experimental science of heredity in France. *Journal of the History of Biology*, 31, 241-242.

Gelderblom W.C., Abel S., Smuts C.M., Marnewick J., Marasas W.F., Lemmer E.R., Ramljack D., 2001. Fumosinin-induced hepatocarcinogenesis: mechanisms related to cancer initiation and promotion. *Environ. Health Perspect.*, 109, Suppl 2:291-300.

Geo-pie Project, 2004. The Pusztai affair: snowdrop lectin in potatoes. http://www.geo-pie.cornell.edu/issues/pusztai.html

Gianessi L.P., 2002. Plant Biotechnology: current and potential impact for improving pest management in US agriculture. An analysis of 40 case studies. NCFAP, www.ncfap.org.

Gianessi L., Sankula S., Reigner N., 2003. Plant Biotechnology: potential impact for improving pest management in European agriculture. A summary of three case studies. NCFAP, www.ncfap.org.

Glover D.V., 1992. Corn-protein genetics, breeding, and value in foods and feeds. In *Quality Protein Maize*. Mertz E.T. éd Amer. Assoc. of Cereal Chemists, St Paul, MN, pp. 49-78.

Godard O., 1997. *Le principe de précaution dans la conduite des affaires humaines*. Coéd. Inra-MSH, 352 p.

Goldsbrough A.P., Lastrella C.N., Yoder J.I., 1993. Transposition mediated repositioning and subsequent elimination of marker gene from transgenic tomato. *Bio/Techno*, 11, 1286-1292.

Gonsalves D., Gonsalves C., Ferreira S., Pitz K., Fitch M., Manshardt R., Slightom J., 2004. Transgenic virus resistant papaya: from hope to reality for controlling papaya ringspot virus in Hawaii. *APSnet.* http://www.apsnet.org/online/feature/ringspot/

Gould F., 1988. Evolutionary biology and genetically engineered crops. *Bioscience*, 38, 26-33.

Gould F., Anderson A., Reynolds A., Bumgarner L., Moar W.J., 1995. Selection and genetic analysis of a *Heliothis virescens* strain with high levels of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *J. Econ. Entomol.,* 88, 1545-1559.

Gould F., Blair N., Reid M., Rennie T.L., Lopez J., Micinski S., 2002. *Bacillus thuringiensis*-toxin resistance management: stable isotope assessment of alternate host use by *Helicoverpa zea*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 99, 16581-16586.

Graff G., Zilberman D., 2001. An intellectual property clearinghouse for agricultural biotechnology. *Nature Biotechnology*, 19, 1179-1180.

Greene A., Allison R., 1994. Recombination between viral RNA and transgenic plant transcripts that express cucumber mosaic virus satellite RNA. *Nature*, 328, 799-802.

Groot A.T., Dicke M., 2002. Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. *The Plant J.*, 31, 387-406.

Grube R.C., Radwanski E.R., Jahn M., 2000. Comparative genetics of disease resistance within the solanaceae. *Genetics*, 155, 873-887.

Grusak M.A., 2005. Golden rice gets a boost from maize. *Nature Biotechnology*, 23, 429-430.

Guo M., Davis D., Birchler J.A., 1996. Dosage effects on gene expression in a maize ploidy series. *Genetics*, 142, 1349-1355.

Guéritaine G., Sester M., Eber F., Chèvre A.M., Darmency H., 2002. Fitness of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape ans wild radis. *Molecular Ecology*, 11, 1410-1426.

Guthrie W.D., Wilson R.D., Coats J.R., Robbins J.C., Tseng C.T., Jarvis J.L., Russell W.A., 1986. European corn borer leaf-feeding resistance and DIMBOA content in inbred lines of dent maize grown under field

versus greenhouse conditions. *J. Econ. Entomol*., 79, 1492-1496.

Habash D.Z., Massiah A.J., Rong H.L., Wallsgrove R.M., Leigh R.A., 2001. The role of cytosolic glutamine synthetase in wheat. *Ann. Appl. Biol.,* 138, 83-89.

Hager A.G., 2003. The future of weed control in soybean: how many options will there be? University of Illinois Corn & Soybean Classic, UIUC.

Hajela R.K., Horvath D.P., Glimour S.J., Thomashow M.F., 1990. Molecular cloning and expression of cor (cold regulated) genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*., 93, 1246-1252.

Hammond B.G., Vicini J.L., Hartnell G.F., Naylor M.W., Knight C.D., Robinson E.H., Fuchs R.L., Padgette S.R., 1996. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J. Nutr.*, 16, 717-727.

Harlan J.R., De Wet J.M.J., 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon,* 20, 509-517.

Harlan H.V., Pope M.N., 1922. The use and the value of backcrosses in small grain breeding. *Journal of Heredity*, 13, 319-322.

Heap I., 2003. International survey of herbicide resistant weeds. Herbicide resistance action committee, North American Herbicide Resistance Action Committee and Weed Science Society of America. www.weedscience.com

Heap I., 2004. International survey of herbicide resistant weeds. Herbicide resistance action committee, North American Herbicide Resistance Action Committee and Weed Science Society of America. www.weedscience.com

Heslot H., 2000. Les levures OGM : perspectives agroalimentaires et industrielles. *C. R. Acad. Agric. Fr*, 86, 69-74.

Hilbeck A., Baumgartner M., Fried P.M., Bigler F., 1998. Effects of transgenic *Bacillus thurigiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea*. *Environ. Entomol*., 27, 480-487.

Hinfray J., 1997. Les puces à ADN. *Biofutur. Le Technoscope*, 166, cahier 91, 1-14.

Hong H., Datla N., Reed D.W., Covello P.S., MacKenzie S.L., Qiu X., 2002. High-level production of γ-linolenic acid in *Brassica juncea* using a Δ6 desaturase from *Pythium irregulare*. *Plant Physiol*., 129, 354-362.

Houdebine L.M., 2003. *OGM : le vrai, le faux*. Éd. Le Pommier, Paris.

Huang J., Hu R., Pray C., Quiao F., Rozelle S., 2001. Biotechnology as an alternative to chemical pesticides: a case study of *Bt* cotton in China. *5th Inter. Consortium Ag. Biotech. Res*., Ravello, Italie, 15-18 juin 2001, pp. 109-110 (résumé).

Humphrey J.H., West K.P., Sommer A., 1992. Vitamin A deficiency and attributable mortality among under-5-year-olds. *Bull. World Health Organ*, 70, 225-232.

ICBA. International Center for Biosaline Agriculture. www.biosaline.org/

Inra, 2002. http://www.inra.fr/Internet/Directions/SED/sciencegouvernance/

Inra, 2003. Co-construction d'un programme de recherche : une expérience pilote sur les vignes transgéniques – Rapport final du groupe de travail. – Réponse de la direction de l'Inra. http://www.inra.fr/genomique/rapport-final-ogm-vigne.html

IPSOS-REID, 2002. Genetically modified foods and food labeling. http://www.ipsos-reid.com/index.cfm

IPTS, 2002. *Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture*. Institute for Prospective and Technological studies and Joint Research Centre, European Commission.

Isaaa, http://www.isaaa.org/kc/Global%20Status/gmreview/area.htm

Jach G., Görnhardt B., Mundy J., Logemann J., Schell J., Maas C., 1995. Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial expression of different barley antifungal proteins in transgenic tobacco. *The Plant J*., 8, 97-109.

Jacob F., Monod J., 1959. Gènes de structure et gènes de régulation dans la synthèse des protéines. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, 349, 1282-1284.

Jaglo-Ottosen K.R., Gilmour S.J., Zarka D.G., Schabenberger O., Thomashow M.F., 1998. *Arabidopsis* CBF1 overexpression induces *COR* genes and enhances freezing tolerance. *Science*, 280, 104-106.

James C., 1998. Global review of commercialized transgenic crops: 1998. Isaaa Briefs, 8, Isaaa, Ithaca, NY.

James C., 2002. Preview: global status of commercialized transgenic crops: 2002. Isaaa Briefs, 27, Isaaa, Ithaca, NY.

James C., 2003. Preview: global status of commercialized transgenic crops: 2003. Isaaa Briefs, 30, Isaaa, Ithaca, NY.

James C., 2004. Preview: global status of commercialized transgenic crops: 2004. Isaaa Briefs, 33, Isaaa, Ithaca, NY.

James C., 2005. Global status of commercialized biotech/GM crops : 2005. Isaaa Briefs, 34, Isaaa, Ithaca, NY.

Jeanneau M., Gerentes D., Foueillassar X., Zivy M., Vidal J., Toppan A., Perez P., 2002. Improvement of drought tolerance in maize: towards the functional validation of the *Zm-Asr1* gene and increase of water use efficiency by over-expressing C4-PEPC. *Biochimie* 84, 1127-1135.

Jensen I., Bogh H., 1941. On conditions influencing the danger of crossing in case of wind pollinated cultivated plants. *Tidsskrift for Planteavl*, 46, 238-266.

Johnston S.A., Anziano P.Q., Shark K., Sanford J.C., Butow R.A., 1988. Mitochondrial transformation in yeast by bombardment with microprojectiles. *Sciences*, 240, 1538-1541.

Joly P.B., 1998. Les OGM, entre précaution et compétition économique. *In* Végétaux transgéniques, *Pour* 159, 79-84.

Joly P.B., 2005. Droits des brevets, OGM et gouvernance de la science. Interview de P.B. Joly, Le groupe de prospective du sénat. http://www.prospective.org/gps_front/index.php?rubrique_id=12&tpl_id=2&contenu_id=715&id=676&lettre

Joly P.-B., de Looze M.A., 1996. An analysis of innovation strategies and industrial differenciation through patent applications: the case of plant biotechnology. *Research policy*, 25, 1027-1046.

Joly P.B., Lemarié S., 1998. Industry consolidation, public attitude and the future of plant biotechnology in Europe. *AgBioForum*, 1, 85-90.

Joly P.B., Hervieu B., 2003. La marchandisation du vivant. Pour une mutualisation des recherches en génomique. *Futuribles*, 292, 5-29.

Joly P.B., Marris C., 2003. Les américains ont ils accepté les OGM ? Analyse comparée de la construction des OGM comme problème public en France et aux États-Unis. *Cahiers d'Économie et de Sociologie Rurales,* 68-69.

Joly P.-B., Marris C., Assouline G., Lemarié S., 1999. Quand les candides évaluent les OGM : nouveau modèle de « démocratie technique » ou mise en scène du débat public. Paris, France : Annales des Mines (Responsabilité & Environnement) avril, 12-21.

Joly P.-B., Marris C., Hermitte M.A., 2003. À la recherche d'une « démocratie technique ». Enseignements de la conférence citoyenne sur les OGM en France. *Nature Sciences Sociétés*, 11 (1): 3-15.

Jouanin L., Pham-Delègue M.H., 1998. Colzas transgéniques résistants aux insectes : un danger pour l'abeille ? in *OGM à l'Inra : Environnement, Agriculture et Alimentation*. Doc. Inra, p. 68-70.

Kahn A., 1996. *Les plantes transgéniques en agriculture. Dix ans d'expérience de la Commission de génie biomoléculaire*. Éd. John Libbey Eurotext, 165 p.

Kalaitzandonakes N., 2003. *The economic and environmental impacts of agbiotech. A global perspective*. Kluwer Acad. Pub., N.Y.

Kalaitzandonakes N., Bjornson B., 1997. Vertical and horizontal coordination in the agrobiotechnology industry: evidence and application. *J. Agr. Appl. Econ*., 29, 129-139.

Kalifa Y., Perlson E., Gilad A., Konrad A., Scolnik P.A., Bar-Zvi D., 2004. Over-expression of the water and salt stress-regulated *Asr1* gene confers an increased salt tolerance. *Plant, Cell and Environment*, 27, 1459-1468.

Kasuga M., Liu Q., Miura S., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., 1999. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nature Biotech*., 17, 287-291.

Kavanagh T.A., Spillane C., 1995. Strategies for engineering virus resistance in transgenic plants. *Euphytica*, 85, 149-158.

Kay E., Vogel T.M., Bertolla F., Nalin R., Simonet P., 2002. *In situ* transfer of antibiotic resistance genes from transgenic (transplastonic) tobacco plants to bacteria. *Appl. Environ. Microbiol*., 68, 3345-3351.

Kempf H., 2003. *La guerre secrète des OGM*. Éd. du Seuil, Paris, 308 p.

Kinney A., 1996. Development of genetically engineered soybean oils for food applications. *J. Food Lipids*, 3, 273-292.

Klein E., Lavigne C., Foueillassar X., Laredo C., Gouyon P.H., 2001. Aip OGM et Environnement, Éd. Inra, Paris.

Koltunow A.M., Vivian-Smith A., Sykes S.R., 1998. Molecular and conventioanl breeding strategies for seedless citrus. *Acta Horticulturae*, Proc. 1st Int. Symp. on *Citrus* Biotechnology, Eilat Israël, 535, 169-174.

Koskella J., Stotzky G., 1997. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins of *Bacillus thuringiensis* and their retention of ionsecticidal activity after incubation with microbes. *Appl. Environ. Microbiol*., 63, 3561-3568.

Kourilsky P., Viney G., 2000. *Le principe de précaution.* Rapport au Premier ministre, Coéd. Odile Jacob – la Documentation française (janvier).

Kourilsky P., 2002. *Du bon usage du principe de précaution*. Éd. Odile Jacob, Paris, 2002.

Kovacs S., 1976. Results of experiments on metaxenia in apple. *Kerteszeti Egyetem Kozlemenyei*, 40, 155-163.

Kremer R.J., 2003. Soil biological processes are influenced by Roundup Ready soybean production. *Phytopathology*, 93, Suppl. 104.

Ku M.S.B., Agarie S., Nomura M., Fukayama H., Tsuchida H., Ono K., Hirose S., Toki S., Miyao M., Matsuoka M., 1999. High level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants. *Nature Biotech*., 17, 76-80.

Ku M.S.B., 2000. Metabolically modified rice exhibits superior photosynthesis and yield. *I.S.B. News Report*, May, 4-5.

Lapierre C., Pollet B., Petit-Conil M., Toval G., Romero J., Pilate G., Leplé J.C., Boerjan W., Ferret V., de Nadai V., Jouanin L., 1999. Structural alterations of lignins in transgenic poplars with depressed cinnamyl alcohol dehydrogenase or caffeic acid O-methyltransferase activity have an opposite impact on the efficiency of industrial Kraft pulping. *Plant Physiol*., 119, 153-163.

Ladha J.K., Kirk GJD, Bennett J., Peng S., Reddy C.K., 1998. Opportunities for increased nitrogen-use efficiency from improved lowland rice germplasm. *Field Crops Res*., 56, 41-71.

Lavigne C., Manac'h H., Guyard C., Gasquez J., 1995. The cost of herbicide resistance in white-chicory: ecological implications for its commercial release. *Theor. Appl. Genet*., 91, 1301-1308.

Le Buanec B., 1996. Perspectives économiques de la transgénèse végétale. *In* Kahn A., 1996. *Les plantes transgéniques en agriculture. Dix ans d'expérience de la Commission de génie biomoléculaire*. Éd. John Libbey Eurotext, p. 19-34.

Le Buanec B., 2000. Contribution des variétés améliorées à la sécurité alimentaire et à la viabilité des écosystèmes agricoles. *C. R. Acad. Agric. Fr*., 86, 27-40.

Le Buanec B., 2002. La transgénèse végétale en agriculture. In *Les plantes génétiquement modifiées*. Académie des sciences, Lavoisier, Paris, pp. 96-115.

Le Buanec B., 2003. La transgénèse végétale, de la recherche aux applications. *Bulletin de la Classe des Sciences*, Académie Royale de Belgique, 6e série, XIV, 361-402.

Lecoq H., 1997. Biologie moléculaire et génie génétique : des vues nouvelles pour la lutte contre les maladies à virus des plantes. *C. R. Acad. Agric. Fr*., 83 ; 153-160.

Lecoq H., Ravelonandro M., Wipf-Scheibel C., Monsion M., 1993. Aphid transmission of a non-aphid transmissible strain of Zuchini Yellow Mosaïc Potyvirus from transgenic plants expressing the capsid protein of Plum Pox Potyvirus. *MPMI*, 6, 403-406.

Le Déaut J.-Y., 1999. *Choix technologiques, débat public et décision politique. L'opinion publique face aux plantes transgéniques*. Albin Michel, Paris.

Le Déaut J.-Y., 2001. Le débat nécessaire entre le politique et le citoyen. *Risques*, 47, 115-120.

Le Déaut J.-Y., 2005. *Rapport sur la place des biotechnologies en France et en Europe*. Rapport du Sénat n° 158 et de l'Assemblée nationale 2946, janvier 2005.

Leisinger K.M., 1995. Sociopolitical effects of new biotechnologies in developing countries. International Food Policy Research Institute. Food, Agriculture and the Environment Discussion Paper, 14 pp.

Lefol E., Danielou V., Darmency H., 1996a. Predicting hybridization between transgenic oilseed rape and wild mustard. *Field Crops Research*, 45, 153-161.

Lefol E., Fleury A., Darmency H., 1996b. Gene dispersal from transgenic crops. II. Hybridization between oilseed rape and the wild hoary mustard. *Sexual Plant Reproduction*, 9, 189-196.

Lemarié S., 2000. *Analyse économique du développement des cultures à base d'organismes génétiquement modifiées aux États-Unis. I. Le développement des OGM agronomiques.* Inra-SERD, Grenoble, 42 p.

Lemarié S., 2001. Diffusion des OGM et impact pour les agriculteurs : quels sont les liens ? *OCL*, 8, 204-210.

Lemarié S., 2003. Évolution des structures industrielles et de la concurrence dans le secteur des semences et des pesticides. *Économie Rurale*, 277-278, 3-19.

Lemarié S., Desquilbet M., Diemer A., Marette S., Levert F., Carrère M., 2001. Les répartitions possibles entre les acteurs de la filière agro-alimentaire des gains éventuels tirés des plantes transgéniques en France. *Étude réalisée pour le Commissariat général du Plan* (convention 01/2001).

Lorraine Colwill D.F.T., Hawkes R.P., Williams H.S., Warner A.J.P., Sutton B.S., Powles B., Preston C., 1999. Resistance to gly-

phosate in *Lolium rigidum*. *Pesticide Science*, 55, 489-491.

Losey J., Rayor L., Carter M., 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature,* 399, 214.

Lozzia G.C., Furlanis C., Manachini B., Rigamonti I.E., 1998. Effects of *Bt* corn on *Rhopalosiphum padi* and on its predator *Chrysoperla carnea*. *Bolletino di Zoologia, Agraria e di Bachicoltura*, 30, 153-164.

Ma J.K.C., Drake P.M., Christou P., 2003. The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nat*. *Rev*. *Genet*., 4, 794-805.

Maïa M., 1967. Obtention de blés tendres résistants au piétin-verse par croisements interspécifiques blés × *Aegilops*. *C*. *R*. *Acad*. *Agric*. *Fr*., pp. 149-154.

Maillet J., 2004. Le Séneçon du Cap (*Senecio inaequidens*). Analyse des raisons d'une invasion réussie en France. *Séance Académie agriculture de France du 04/02/2004*. *C*. *R*. *Acad*. *Agric*. *Fr*., www.academie-agriculture.fr.

Maliga P., 1993. Towards plasmid transformation in flowering plants. *Trends Biotechnol*., 11, 101-107.

Malnoy M., Venisse J.S., Brisset M.N., Chevreau E., 2003. Expression of bovin lactoferrin cDNA confers resistance to *Erwinia amylovora* in transgenic pear. *Mol. Breed*., 12, 231-244.

Malnoy M., Faize M., Venisse J.S., Geider K., Chevreau E., 2005. Expression of viral EPS-depolymerase reduces fire bligth suceptibility in transgenic pear. *Plant Cell Report*, 23, 632-638.

Mariani C., Gossele V., de Beuckeleer M., de Block M., Goldberg R.B., de Greef W., Leemans J., 1990. Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene. *Nature*, 347, 737-741.

Mariani C., Gossele V., de Beuckeleer M., de Block M., Goldberg R.B., de Greef W., Leemans J., 1992. A chimaeric ribonuclease-inhibitor gene restores fertility to male sterile plants. *Nature,* 357, 384-387.

Marie R., 1974. La mutagénèse expérimentale. *Agron*. *Trop*., 29, 892-900.

Marra M.C., Carlson G., Hubbel B., 1998. *Economic impacts of the first crop biotechnologies*. North Carolina State University. http://www.agecon.ncsu.edu/faculty/marra/FirstCrop/sld001.htm

Marra M.C., 2001. The farm level impacts of transgenic crops: a critical review of the evidence. In *Agricultural Biotechnology: Markets and Policies in an International Setting*. IFPRI, Washington.

Marra M.C., Pardey P.G., Alston J.M., 2002. The payoffs to transgenic field crops: an assessment of the evidence. *AgBioForum*, 5, 43-50.

Marris C., 2001. La perception des OGM par le public : remise en cause de quelques idées reçues. *Économie rurale,* 266, novembre-décembre 2001.

Mason J., Hunt J., Parker D., Jonsson U., 1999. Investing in child nutrition in Asia. *Asian Development Review*, 17 (1,2).

Maugenest S., Martinez I., Lescure A.M., 1997. Cloning and characterization of a cDNA encoding a maize seedling phytase. *Biochem*. *J*., 322, 511-517.

Maugenest S., Martinez I., Godin B., Perez P., Lescure A.M., 1999. Structure of two maize phytase genes and their spatio-temporal expression during seedling development. *Plant Mol. Biol*., 39, 503-514.

May M.J., 2003. Economic consequences for UK farmers of growing GM herbicide tolerant sugar beet. *Ann*. *Appl*. *Biol*., 142, 41-48.

Mazur B., Krebbers E., Tingey S., 1999. Gene discovery and product development for grain quality traits. *Science*, 285, 372-375.

McDougall P., 2002. Agrochemical and seed company sales. *The Newsletter of Phillips McDougall AgriService, AgriFutura* 29.

McDougall P., 2003. Biotechnology in crop protection ten years of sustained development. *AgriFutura*, 40, February, http//www.phillips-mcdougall.com/agri_service.html

McKersie B.D., Bowley S.R., Harjanto E., Leprince O., 1996. Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa over-expressing superoxide dismutase. *Plant Physiol*., 111, 1177-1181.

McPartlan H.C., Dale P.J., 1994. An assessment of gene transfer by pollen from field-grown transgenic potatoes to non-transgenic potatoes and related species. *Transgenic Research*, 3, 216-225.

Medgyesy P., Pày A., Màrton L., 1986. Transmission of paternal chloroplasts in *Nicotiana*. *Mol*. *Gen*. *Genet*., 204, 195-198.

MEN, Usine nouvelle, 2001. *Les attitudes de l'opinion publique en France, Allemagne, Grande-Bretagne et aux États-Unis à l'égard de la science*. Usine nouvelle, Paris, 108 p. Résumé sur http://www.tns-sofres.com/etudes/pol/140201_science2_r.htm

Meristem Therapeutics, 2002. Essais au champ pluriannuels de maïs génétiquement modifié

exprimant une lipase gastrique pour des applications médicales. Dossier d'expérimentation déposé à la CGB. n° B/FR/00.02.07 et B/FR/05 02 01.

Mertz E.T., Bates L.S., Nelson O.E., 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145, 279-280.

Mesquida J., Renard M., 1982. Study of the pollen dispersal by wind and the importance of wind pollination in rapeseed (*Brassica napus*, var *oleifera*). *Apidologie,* 4, 353-366.

Messéan A., 1996. Impact des plantes résistantes à un herbicide. *OCL*, 3, 5-9.

Messéan A., 2000. Impact des plantes transgéniques pour l'agriculture. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, 86, 87-96.

Métraux J.P., Nawrath C., Genoud T., 2002. Systemic acquired resistance. *Euphytica*, 124, 237-243.

Miller R., 1998. Échange de gènes entre bactéries. *Pour la Science*, 245, 61-65.

Molvig L., Tabe L.M., Eggum B.O., Moore A.E., Graig S., Spencer D., Higgins T.J.V., 1997. Enhanced methionine levels and increased nutritive value of seeds of transgenic lupins (*Lupinus angustifolius* L.) expressing a sunflower seed albumin gene. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 94, 8393-8398.

Monneret-Vautrin D.A., 2001. Risques et bénéfices de la transgénèse vis-à-vis de l'allergie. Actes du Colloque « *OGM et alimentation, peut-on évaluer les bénéfices pour la santé* ? » Afssa, 17-18/12/2001. www.afssa.fr

Monsanto, 2004a. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications.

Monsanto, 2004b. http://www.monsanto.com/monsanto/layout/media/04/10-06-04.asp

Moore G., Devos K.M., Wang Z., Gale M.D., 1995. Grasses, line up and form a circle. *Current Biology*, 5, 737-739.

Moralejo F.J, Cardosa R.E., Gutierrez S., Martin J.F., 1999. Thaumatin production in *Aspergillus awamori* by use of expression cassettes with fungal promoters and high gene dosage. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1168-1174.

Moschini G.C., 2001. Biotech – Who wins ? Economic benefits and costs of biotechnology innovations in agriculture. *The Estey Centre Journal of International Law and Trade Policy*, 2, 93-117.

Muir S.R., Collins G.J., Robinson S., Hughes S.G., Bovy A.G., de Vos C.H., van Tunen A.J., Verhoeyen M.E., 2001. Overexpression of petunia chalcone isomerase in tomato results in fruit containing dramatically increased levels of flavonols. *Nat. Biotech.*, 19, 470-474.

Muller H.J., 1933. The effects of Roentgen rays upon the hereditary material. In *The Science of Radiology*, Springfield, Ill., A. Thomas, pp. 305-318.

Muller S., 2004a. Les invasions biologiques causées par les plantes exotiques en France. Enjeux, mécanismes, actions à promouvoir. *Séance Académie agriculture de France du 04/02/2004. C. R. Acad. Agric. Fr.*, www.academie-agriculture.fr.

Muller S., 2004b. *Plantes invasives en France*. MNHN, Paris, 168 p.

Müller J., Boller T., Wiemken A., 1995. Trehalose and trehalase in plants: recent developments. *Plant Sci.*, 112, 1-9.

Mullins J.W., Mills J.M., 1999. Economics of Bollgard versus non-Bollgard cotton in 1998, In *Proc. Beltwide Cotton Conf.*, Orlando, FL 3-7 Jan. 1999, Nat. Cotton Counc. Am. Memphis, TN, USA, p. 958-961.

Munckvold G.P., Hellmich R.L., Rice L.R., 1999. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic *Bt* maize hybrids and non-transgenic hybrids. *Plant Dis.*, 83, 130-138.

Murai N., Sutton D.W., Murray M.G., Slightom J.L., Merlo D.J., Reichert N.A., Sengupta-Gopalan C., Stock C.A., Barker R.F., Kemp J.D., Hall T.C., 1983. Phaseolin gene from bean is expressed after transfer to sunflower via tumor-inducing plasmid vectors. *Science*, 222, 476-482.

Murray D.R., 2003. *Seeds of concern. The genetic manipulation of plants*. CABI Publishing. 156 p.

Naess S.K., Bradeen J.M., Wiegus S.M., Haberlach G.T., McGrath J.M., Helgeson J.P., 2001. Analysis of the introgression of *Solanum bulbocastanum* DNA into potato breeding lines. *Mol. Genet. Genomics*, 265, 694-704.

Nelson G.C., Bullock D.S., 2003. Simulating a relative environmental effect of glyphosate resistant soybeans. *Ecological Economics*, 45, 189-202.

Nesme X., Simonet P., 1997. Devenir de l'ADN dans le sol. *OCL*, 2, 107-110.

Njiti V.N., Myers O., Schoeder D., Ligthfoot D.A., 2003. Roundup Ready soybean: glyphosate effects on *Fusarium solani* root colonization and sudden death syndrome. *Agr. Jour.*, 95, 1140-1145.

Nordlee J.A., Taylor S.L., Townsend J.A., Thomas L.A., Bush R.K., 1996. Identification of a Brazil nut allergen in transgenic soybeans. *New Eng. J. Med.*, 334, 688-692.

Norris C.E., Sweet J.B., Cockley A.R., 2002. Gene flow by cross pollination between large adjacent blocks of spring oilseed rape (*Brassica napus*) at two farm scale sites, (unpublished, cited in European Environment Agency report 28).

Oerke E.C., Dehne H.W., Shönbeck F., Weber A., 1994. *Crop production and crop protection. Estimated losses in major food and cash crops*. Elsevier, 808 p.

Oerke E.C., Dehne H.W., 1997. Global crop production and the efficacy of crop protection – current situation and future trends. *Eur. J. Plant Patho.*, 103, 203-215.

Oger P., Petit A., Dessaux Y., 1997. Genetically engineered plants producing opines alter their biological environment. *Nature Biotechn.*, 15, 369-372.

Okubara P., Blechl A.E., McCormick S.P., Alexander N.J., Dill-Macky R., Hohn T.M., 2002. Engineering deoxynivalenol metabolism in wheat through the expression of a fungal trichothecene acetyltransferase gene. *Theor. Appl. Genet.*, 106, 74-83.

Ortiz-Garcia S., Ezcurra E., Schoel B., Acevedo F., Soberon J., Snow A.A., 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oxaca, Mexico (2003-2004). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 102, 12338-12343.

Owen M.D., Zelaya I.A., 2002. Impact of herbicide resistant crops in North America – a northern perspective. *13th Australian Weed Conference*. Perth, Australia, September 8-13.

Padgette S.R., Kolacz K.H., Delannay X., Re D.B., La Vallee B.J., Tinius C.N., Rhoides W.K., Otero Y.I., Barry G.F., Eichholtz D.A., Teschke V.M., Nida D.L., Taylor N.B., Kishore G.M., 1995. Development, identification and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Sci.*, 35, 1451-1461.

Paillotin G., Rousset D., 1999. *Tais-toi et mange. L'agriculteur, le scientifique et le consommateur*. Éd. Bayard, Paris, 185 p.

Paine J.A., Shipton C.A., Chaggar S., Howells R.M., Kennedy M.J., Vernon G., Wright S.Y., Hinchliffe E., Adams J.L., Silverstone A.L., Drake R., 2005. Improving the nutritional value of Golden rice through increased pro-vitamin A content. *Nature Biotechnology*. 23, 482-487.

Palm C.J., Schaller D.J., Donegan K.K., Seidler R.J., 1996. Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillius thuringiensis* var *kurstaki* δ-endotoxin. *Can. J. Microbiol.*, 42, 1258-1262.

Paoletti M.G., Pimentel D., 2000. Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. *J. of Agr. and Env. Ethics*, 12, 279-300.

Pascal G., 1996. Évaluation de la sécurité alimentaire des plantes transgéniques. In Kahn A., 1999. *Les plantes transgéniques en agriculture. Dix ans d'expérience de la Commission de génie biomoléculaire*. Éd. John Libbey Eurotext, p. 49-58.

Pascal G., 1997. La stratégie d'évaluation de la sécurité alimentaire des plantes transgéniques. *OCL*, 4, 241-244.

Pelletier G., Primard C., Vedel F., Chetrit P., Remy R., Rousselle P., Renard M., 1983. Intergeneric cytoplasmic hybridization in Cruciferae by proptoplast fusion. *Mol. Gen. Genet.*, 191, 244-250.

Pelletier G., Téoulé E., 1999. La transgénèse dans le règne végétal : le point sur les plantes d'intérêt agronomique. In *Biotechnologie*, 5e édition, Scriban R. coord., Tec et Doc Paris.

Pen J., Verwoerd T.C., van Paridon P.A., Beudeker R.F., van den Elzen P.J.M., Geerse K., van der Klis J.D., Versteegh H.A.J., van Ooyen A.J.J., Hoekema A., 1993. Phytase-containing transgenic seeds as a novel feed additive for improved phosphorus utilization. *Bio/Technolog.*, 11, 811-814.

Pernès J., 1983. La génétique de la domestication des céréales. *La Recherche*, 146, 910-919.

Pernès J., 1984. *Gestion des ressources génétiques des plantes*. Tome 2. Manuel. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 346 p.

Philipon P., 2001. OGM, quelle traçabilité ? *Biofutur*, 214, 58-63.

Phipps R.H., Park J.R., 2002. Environmental benefits of genetically modified crops: global and European perspectives on their ability to reduce pesticide use. *J. An. Feed Sci.*, 11, 1-18.

Pierre J., Picault H., Tanguy X., Renard M., 2002. La cléistogamie chez la fleur de colza empêche-t-elle la dispersion du pollen par les insectes pollinisateurs ? C.R. AIP *OGM et Environnement,* Inra, p. 104-107.

Pierre J., Renard M., 2002. Étude de la longévité du pollen de colza soumis à différentes conditions de température et d'hygrométrie. C.R. AIP, *OGM et environnement*. Séminaire 30 avril 2002. Document Inra p. 14-17.

Pilate G., Guiney E., Holt K., Petit-Conil M., Lapierre C., Leplé J.-C., Pollet B., Mila I., Webster E.A., Larstorp H.G., Hopkins D.W., Jouanin L., Boerjan W., Schuch W., Cornu D., Hampin C., 2002. Field and pulping performances of transgenic trees with altered lignification. *Nature Biotech*., 20, 607-612.

Pilate G., Déjardin A., Cornu D., Leplé J.C., 2004. Transgénèse chez le peuplier : apport aux études sur la formation du bois. *Biofutur*, 247, 49-53.

Ping Jing Z., Gallardo F., Pascual M.B., Sampalo R., Romero J., Torres de Vavarra A., Canovas F.M., 2004. Improved growth in a field trial of transgenic hybrid poplar overexpressing glutamine synthetase. *New Phytologist*, 164, 137-145.

Piva G., Morlachinni M., Pietri A., Rossi F., Prandini A., 2001a. Growth performance of broilers fed insect protected (Mon810) or near isogenic control corn. *J. Anim. Sci*., 79, Suppl. 1, 320 (Abst 1324).

Piva G., Morlachinni M., Pietri A., Piva A., Casadei G., 2001b. Performance of weaned piglets fed insect-protected (Mon810) or near isogenic corn. *J. Anim. Sci*., 79 Suppl. 1, 106 (Abst. 441).

Poly J., 1978. Pour une agriculture plus économe et plus autonome. Document Inra, Paris.

Potrykus I., Schlüter K., Fütterer J., 1995. Horizontal gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogene (*Erwinia chrysanthemi*) occurs – if at all – at extremely low frequency. *Bio/Technology*, 13, 1094-1098.

Potrikus I., 2001. Golden rice and beyond. *Plant Physiol*., 125, 1157-1161.

Pouteau S., Ruas J.F., 2002. Place du débat public face aux enjeux éthiques des biotechnologies. *Économie rurale,* 271, 92-101.

Pray C.E., Huang J., Hu R., Rozelle S., 2002. Five years of *Bt* cotton in China – the benefits continue. *The Plant J*., 31, 423-430.

Price G.K., Lin W., Falck-Zepeda J.B., Fernandez-Cornejo, 2004. Size and distribution of market benefits from adopting biotechs crops. http://www.ers.usda.gov/publications/tb1906/tb1906.pdf

Pusztai A., Grant S., Bardocz G., Alonso R., Chrispeels M.J., Schroeder H.E., Tabe L.M., Higgins T.J.V., 1999. Expression of the insecticidal bean α-amylase inhibitor transgene has minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30% of the diet. *J. Nutr*., 129, 1597-1603.

Pusztai A., 2002. Can science give us the tools for recognizing possible health risks of GM food? *Nutrition and Health*, 16, 73-84.

Qaim M., Zilberman D., 2003. Yield effects of genetically modified crops in developing countries. *Science*, 299, 900-902.

Quilléré I., Dufossé C., Roux Y., Foyer C.H., Caboche M., Morot-Gaudry J.-F., 1994. The effects of derugulation of NR gene expression on growth and nitrogen metabolism of *Nicotiana plumbaginifolia* plants. *J. Exp. Bot*., 278, 1205-1211.

Quist D., Chapela I.H., 2001. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oxaca, Mexico. *Nature*, 414, 541-543.

Ramsey J., Schemske D.W., 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst*., 29, 467-501.

Raymer P.L., Grey T.L., 2003. Challenges in comparing transgenic and non transgenic soybean cultivars. *Crop Sci*., 43, 1584-1589.

Ranito-Lehtimâki A., 1995. Aerobiology of pollen and pollen antigens. In Cox C., Wathes C. (Ed) *Bioaerosols Handbook*. CRC Lewis.

Reddy T.S., Thomas T.L., 1996. Expression of a cyanobacterial delta 6-desaturase results in gamma-linolenic acid production in transgenic plants. *Nat. Biotech*., 14, 639-642.

Rehuel D., 1987. Ruimtelijke isolatie in de plantenveredeling. 1. Ruimtelijke isolatie bij windbestuivers. *Landbouwtijdschrift,* 40, 5-14.

Rérat A., 2003. *OGM et santé*. Rapport biacadémique, Académie de médecine, Académie de pharmacie, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 108 p.

Reynoird J.P., Mourgues F., Norelli J., Aldwinckle H.S., Brisset M.N., Chevreau E., 1999. First evidence for improved resistance to fire blight in transgenic pear expressing the *attacin E* gene from *Hyalophora cecropia*. *Plant Sci*., 149, 13-22.

Riba G., 1998. Plantes transgéniques et résistances aux insectes. *Le Sélectionneur Français,* 49, 23-30.

Riba G., Dattée Y, Couteaudier Y., 2000. Les plantes transgéniques et l'environnement. *C.R. Acad. Agric. Fr*., 86, 57-66.

Richter L.J., Thanavala Y., Arntzen C.J., Mason H.S., 2000. Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nature Biotech*., 18, 1167-1171.

Ricroch A., 1998. Du génétiquement modifié au génétiquement identique. *In* Végétaux

transgéniques. Les enjeux pour la santé et l'environnement. *Pour*, 159, 11-18.

Roger P., Ladha J.K., 1992. Biological nitrogen fixation in wetland rice fields: estimation and contribution to nitrogen balance. *Plant Soil*, 141, 41-55.

Rolland B., 2002. Des itinéraires techniques à bas niveaux d'intrants pour des variétés rustiques de blé tendre : une alternative pour concilier économie et environnement. *Le Sélectionneur Français*, 54, 3-20.

Rosati C., Simoneau P., Reutter D., Poupard P., Cadot Y., Cadic A., Duron M., 2003. Engineering of flower color in *Forsythia* by expression of two-indepently-transformed dihydroflavonol 4-reductase and anthocyanidin synthase genes of flavonoid pathway. *Mol. Breeding*, 12, 197-208.

Rousselle P., Rousselle-Bourgeois F., Ellisseche D., 1989. La pomme de terre. *In* Gallais A., Bannerot H., 1989. *Amélioration des espèces végétales cultivées*. Éd. Inra, Paris, pp. 243-260.

Roux F., Gasquez J., Reboud X., 2004. The dominance of the herbicide resistance cost in several *Arabidopsis thaliana* mutant lines. *Genetics*, 166, 449-460.

Roy A., 2002. L'influence des cultures du risque sur l'expertise scientifique. Le cas des OGM. *Économie rurale*, 271.

Rugh C.C., Wilde H.D., Stack N.M., Thompson D.M., Summers A.O., Meagher R.B., 1996. Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *mer*A gene. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 93, 3182-3187.

Rural News, 2002. www.ruralnews.co.nz. 6/11/2002. Green MP gets red card.

Saalbach I., Pickardt T., Waddell D.R., Hillmer S., Schieder O., Müntz K., 1995. The sulphur-rich Brazil nut 2S albumin is specifically formed in transgenic seeds of the grain legume *Vicia narbonensis*. *Euphytica*, 85, 181-192.

Saijo Y., Hata S., Kyosuka J., Shimamoto K., Izui K., 2000. Over-expression of a single Ca2+-dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants. *Plant J.*, 23, 319-327.

Salomon J.J. (dir), 1994. *Le risque technologique et la démocratie*. Éd. La Documentation Française.

Savidan Y., 2000. Apomixis : genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews*, 18, 13-86.

Saxena D., Flores S., Stotzky G., 1999. Insecticidal toxin in root exudates from *Bt* corn. *Nature*, 402, 480.

Saxena D., Stotzky G., 2001. *Bt* toxin uptake from soil by plants. *Nature Biotech.*, 19, 199.

Sayanova O., Smith M.A., Lapinskas P., Stobart A.K., Dobson G., Christie W.W., Shewry P.R., Napier J.A., 1997. Expression of borage desaturase cDNA containing an N-terminal cytochrome b5 domain results in the accumulation of high levels of delta6-desaturated fatty acids in transgenic tobacco. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 94, 4211-4216.

Scalla R., 1997. Biotransformation des herbicides par les plantes transgéniques résistantes. *OCL* 2, 113.

Scalla R., 1998. Y a-t-il des risques spécifiques liés à la consommation d'aliments issus de plantes transgéniques ? In *OGM à l'Inra : environnement, agriculture et alimentation*. Doc. Inra, p. 103-106.

Scheid O.M., Jakovleva L., Afsar K., Maluszynska J., Paszkowski J., 1996. A change of ploidy can modify epigenic silencing. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 93, 7114-7119.

Schell J., van Montagu M., Holsters M., Zambryski P., Joos H., Inze D., Herrera-Estrella L., Depicker A., de Block M., Caplan A., Dhaese P., Van Haute E., Hernalsteens J.-P., de Greve H., Leemans J., Deblaere R., Willmitzer L., Schroder J., and Otten L., 1983. The plasmids as experimental gene vectors for plants. *Advances in Gene Technology: Molecular Genetics of Plants and Animals*. Miami Winter Symposia Vol. 20:191-209.

Scott R.K., 1970. The effect of weather on the concentration of pollen within sugar beet crops. *Annals of Appl. Biol.*, 66, 119-127.

Scott S.E., Wilkinson M.J., 1999. Low probability of chloroplast movement from oilseed rape (*Brassica napus*) into wild *Brassica rapa*. *Nature Biotechno.*, 17, 390-392.

Sears E.R., 1981. Transfer of alien genetic material to wheat. In *Wheat science, today and tomorrow*, Evans L.T. and Peacock W. J. ed., Cambridge Univ. Press, 75-89.

Sevenier R., Van der Meer I.M., Bino R., Koops A.J., 2002. Increased production of nutriments by genetically engineered crops. *J. Am. Cool. Nutr.*, 21, 199S-204S.

Shelton A.M., Tang J.D., Roush R.T., Metz T.D., Earle E.D., 2000. Field tests on managing resistance to Bt-engineered plants. *Nature Biotech.*, 18, 339-342.

Shelton A.M., Sears M.K., 2001. The monarch butterfly controversy : scientific interpretations of a phenomenon. *The Plant J*., 27, 483-488.

Shewmaker C.K., Stalker D.M., 1992. Modifying starch biosynthesis with transgenes in potatoes. *Plant Physiol*., 100, 1083-1086.

Shull G.H., 1908. The composition of a field of maize. *Ann. Breeders' Assoc. Rep*., 4, 296-301.

Simpson E.C., Norris C.E., Law J.R., Thomas J.E., Sweet J.B. 1999. Gene flow in genetically modified herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*) in the UK. *In Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops*. Lutman P. ed, BCPC Symposium Proceedings n° 72.

Slovic P., 1987. Perception of risk. *Science*, 236, 280-285.

Smirnoff N., Bryant J.A., 1999. DREB takes the stress out of growing up. *Nature Biotech*., 17, 229-230.

Smith M.W., Feng D.F., Doolittle R.F., 1992. Evolution by acquisition: the case for horizontal gene transfers. *Trends Biochem. Sci.,* 17, 489-493.

Song J.Q., Bradeen J.M., Naess S.K., Raasch J.A., Wielgus S.M., Haberlach G.T., Liu J., Kuang H.H., Austin-Phillips S., Buell C.R., Helgeson J.P., Jiang J.M., 2003. Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci*., 100, 9128-9133.

Song W.Y., Sohn E.J., Martinoia E., Lee Y.J., Yang Y.-Y., Jasinski M., Forestier C., Hwang I., Lee Y., 2003. Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants. *Nature Biotech*., 21, 914-919.

Speyer J.F., Lengyel P., Basilio C., Ochoa S., 1962. Synthetic polynucléotides and the amino acid code. IV. *Proc. Nat. Acad. Sci., Biochemistry*, 48, 441-448.

Spychalla J.P., Kinney A.J., Browse J., 1997. Identification of an animal omega-3 fatty acid desaturase by heterologous expression in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci*., 94, 1142-1147.

Standley-Horn D.E., Dively G.P., Hellmich R.L., Mattila H.R., Sears M/K/, Rose R., Jesse L.C., Losey J.E., Obrycki J.J., Lewis L., 2001. Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc. Nat. Acad. Sci*., 98, 11931-11936.

Stebbins G.L., 1980. Polyploidy in plants: unsolved problems and prospects. In *Polyploidy, Biological relevance*, W.H. Lewis Ed, N.Y., Plenum Press, p. 495-520.

Steidler L., Hans W., Schotte L., Neirynch S., Obermeier F., Falk W., Fiers W., Reamaut E., 2000. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science*, 289, 1352-1355.

Stiegler G., Kresse G.-B., Buckel P., 1997. Production de médicaments par génie génétique. *Pour la Science*, 241, 72-79.

Stöger E., Vaquero C., Torres E., Sack M., Nicholson L., Drossard J., Williams S., Keen D., Perrin Y., Christou P., Fischer R., 2000. Cereal crops as viable production and storage systems for pharmaceutical scFv antibodies. *Plant Mol. Biol*., 42, 583-590.

Stotzsky G., 2000. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thurigiensis* and of bacterial DNA bound on clays ans humic acids. *J. Environ. Qual*., 29, 691-705.

Stringam G.R., Ripley V.L., Love H.K., Mitchell A., 2003. Transgenic herbicide tolerant Canola – The canadian experience. *Crop Sci*., 43, 1590-1593.

Tabashinik B.E., 1997. Seeking the root of insect resistance to transgenic plants. *Proc. Nat. Acad. Sci*., 94, 3488-3490.

Tada Y., Nakase M., Adachi T., Nakamura R., Shimada H., Takahashi M., Fujimura T., Matsuda T., 1996. Reduction of 14-16kD allergenic proteins in transgenic rice plants by antisense gene. *FEBS Letters*, 191, 341-345.

Tapp H., Stotzky G., 1998. Persistence of the insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil. *Soil Biol. Biochem*., 30, 471-476.

Taylor M.R., Tick J.S., 2001. The StarLink® case: issues for the future. A report commissioned by the Pew Initiative on Food and Biotechnology. www.pewagbiotech.org.

Tepfer M., Balazs E., 1997. *Virus resistant transgenic plants: potential ecological impact*. Coéd. Inra – Springer Verlag.

Thompson C.E., Squire G., Mackay G.R., Bradshaw J.E., Crawford J., Ramsey G., 1999. Regional patterns of gene flow and its consequences for GM oilseed rape. In *Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops*. Lutman P. (Ed). BCPC Symposium Proceedings, 72.

Timmons A.M., O'Brien E.T., Charters Y.M., Dubbels S.J., Wilkinson M.J., 1995. Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus*, var *oleifera*. *Euphytica*, 85, 417-423.

Traxler G., Godoy-Avila S., 2004. Transgenic cotton in Mexico. *AgBioForum*, vol 7, article 11.

Trottet M., 2002. Progrès génétique chez le blé. *Le Sélectionneur Français,* 53, 3-18.

Tsuda S., Fukui Y., Nakamura N., Katsumoto Y., Yonekura-Sakabkibura K., Fukuchi-Mizutani M., *et al.,* 2004. Flower color modification of Petunia hybrida commercial varieties by metabolic engineering. *Plant Biotechnology*, 21, 377-386.

Twyman R.M., Stoger E., Schillberg S., Christou P., Fischer R., 2003. Molecular farming in plants: host systems and expression technology. *Trends Biotech*., 21, 570-578.

Valceschini E., 2001. *Programme de recherche Pertinence économique et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM*. Rapports Inra. Programme 1 : Ruffieux B., Robin S. Analyse économique de la propension des consommateurs à acheter des produits garantis sans utilisation d'OGM. Programme 2 : Berheau Y. Élaboration d'un référentiel scientifique et technique permettant de caractériser les produits agricoles et alimentaires garantis sans OGM. Programme 3 : Meynard J.M., Le Bail M. Isolement des collectes et maîtrise des dissémination au champ. Programme 4 : Valceschini E., Avelange I. Analyse économique et réglementaire de l'organisation d'une filière sans OGM. http//www.inra.fr/genomique/communique7.html.

Van Gessel M.J., 2001. Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science*, 49, 703-705.

Van Lerebeke *et al*., 1974. Large plasmid in *Agrobacterium tumefaciens* essential for crown gall-inducing ability. *Nature,* 252, 169-170.

Voelker T.A., Worrell A.C., Anderson L., Bleibaum J., Fan C., Hawkins D.J., Radke S.E., Davies H.M., 1992. Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oilseeds plants. *Science*, 257, 72-74.

Voelker T.A., Hayes T.R., Cranmer A.C., Davies H.M., 1996. Genetic engineering of a quantitative trait: metabolic and genetic parameters influencing the accumulation of laurate in rapeseed. *Plant J*., 9, 229-241.

von Bothmer R., Flink J., Jacobsen N., Kotimaki M., Landstrom T., 1983. Interspecific hybridization with cultivated barley (*Hordeum vulgare*). *Hereditas*, 99, 219-244.

Wall J.M., 1997. Allergénicité des oléagineux génétiquement modifiés. *OCL,* 4, 120-122.

Warwick S., 1998. Le péril écologique des cultures transgéniques. *Pour la Science*, 26, 128-132.

Warwick S.I., Simard M.J., Légère A., Beckie H.J., Braun L., Zhu B., Mason P., Séguin-Swartz G., Stewart Jr C.N., 2003. Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *B. rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz. *Theor. Appl. Genet*., 107, 528-539.

Watson J.D., Crick F., 1953. A structure for dexoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171, 737-738.

Weil A., 1998. La connaissance et l'exploitation des génomes pour les pays du Sud. *O.C.L*, 6, 160-165.

Weil A., 2000. Les OGM dans les pays en développement. *C. R. Acad. Agric. Fr*., 86, 151-166.

Weil A., 2002. Les plantes transgéniques : les pays en développement. *In* Douce R. *Les plantes génétiquement modifiées*. Rapport sur la Science et la Technologie, Acad. Sci., éd. Tec et Doc, Paris, p. 96-115.

Weingartner U., Kaeser O., Long M., Stamp P., 2002. Combining cytoplasmic male sterility and xenia increases grain yield of maize hybrids. *Crop Sci*., 42, 1848-1856.

World Ressources Institute. www.wri.org. http//earthtrends.wri.org/text/agriculture_food/variable_1856.html (consulté le 26/06/2006).

Wright D.A., Townsend J.A., Winfrey R.J., Irwin P.A., Rajagopal J., Lonosky P.M., Hall B.D., Jondle M.D., Voytas D.F., 2005. High-frequency homologous recombination in plants mediated by zinc-finger nucleases. *The Plant Journal*, 44, 693-705.

Wynne B., 1992. Misunderstood misunderstanding: social identities and public uptake of science. *Public understanding of science* 1, 281-304.

Xia J.Y., Cui J.J., Ma L.H., Dong S.X., Cui X.F., 1999. The role of transgenic *Bt* cotton in integrated pest management. *Acta Gossypii Sinica*, 11, 57-64.

Xin Z., Browse J., 1998. Eskimo 1 mutants of *Arabidopsis* are constitutively freezing tolerant. *Proc. Nat. Acad. Sci*., 95, 7799-7804.

Xu D., Duan X., Wang B., Hong B., Ho T.-H.D., Wu R., 1996. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiol*., 110, 249-257.

Yanagisawa S., Akiyama A., Kisaka H., Uchimiya H., Miwa T., 2004. Metabolic engineering with *Dof1* transcription factor in plants: improved nitrogen assimilation and

growth under low-nitrogen conditions. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 101, 7833-7838.

Ye X., Ai-Babili S., Klöti A., Zhang J., Lucca P., Beyer P., Potrykus I., 2000. Engineering the pro-vitamin A (β-caroten) biosynthetic pathway into (carotenoid free) rice endosperm. *Science*, 287, 303-305.

Yoder J.I., Goldsbrough A.P., 1994. Transformation systems for generating marker-free transgenic plants. *Bio/Techn.*, 12, 263-267.

Young N.D., Tanksley S.D., 1989. RFLP analysis of the size of the chromosomal segments reatained around the Tm-2 locus of tomato during back-cross breeding. *Theor. Appl. Genet.*, 77, 353-359.

Yu J., Langridge W., 2003. Expression of rotavirus capsid protein VP6 in transgenic potato and its oral immunogenicity in mice. *Transgenic Res.*, 12, 163-169.

Zhang J., Klueva N.Y., Wang Z., Wu R., David Ho T.-H., Nguyen H.T., 2000. Genetic engineering for abiotic stress resistance in crop plants. *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant*, 36, 108-114.

Zhang H.X., Blumwald E., 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature Biotech.*, 19, 765-768.

Zhang W., Subbarao S., Addae P., Shen A., Armstrong C., Peschke V., Gilbertson L., 2003. Cre/Lox-mediated marker gene excision in transgenic maize (*Zea mays* L.) plants. *Theor. Appl. Genet.*, 107, 1157-1168.

Zhao J.Z., Cao J., LI Y., Collins H.L., Roush R.T., Earle E.D., Shelton A.M., 2003. Transgenic plants expressing two *Bacillus thrurigiensis* toxins delay insect resistance evolution. *Nature Biotech.*, 24, 1493-1497.

Zhao J.Z., Cao J., Collins H.L., Bates S.L., Roush R.T., Earle E.D., Shelton A.M., 2005. Concurrent use of transgenic plants expressing a single and two *Bacillus thurigiensis* genes speeds insect adaptation to pyramided plants. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 102, 8426-8430.

Zhu Q., Maher E.A., Masoud S., Dixon R.A., Lamb C.J., 1994. Enhanced protection against fungal attack by constitutive co-expression of chitinase and glucanase genes in transgenic tobacco. *Bio/Technology*, 12, 807-812.

Zimmermann M.B., Hurrell R.F., 2002. Les aliments enrichis. *Biofutur,* 3, 47-50.

Zoundjihekpon J., Mve Beh J.H., 2002. La piraterie des ressources biologiques ou biopiraterie en Afrique. http ://www.f-i-a.org/environment-gabon/bio_piraterie.htm

Glossaire

Acide aminé : brique élémentaire des protéines dont la synthèse est codée par un triplet de bases nucléotidiques. C'est une molécule organique portant sur un même carbone un radical aminé (NH_2) et un radical carboxyle (COOH). Il y a au total 20 acides aminés.

Acide nucléique : macromolécule linéaire, non ramifiée, issue de la polymérisation de nucléotides. Voir ADN et ARN.

ADN, acide désoxyribonucléique : macromolécule support de l'information génétique, formée de désoxyribonucléotides.

ADNc : ADN résultant de la lecture par une transcriptase réverse d'un ARN ; cela correspond donc à un ADN de gène exprimé, sans introns.

ADN-polymérase : Enzyme qui intervient dans la polymérisation des désoxyribonucléotides en ajoutant des nucléotides à l'extrémité d'un brin d'ADN.

ADN-T : région de l'ADN circulaire d'un plasmide d'*Agrobacterium* qui est insérée dans le génome des plantes. L'ADN-T est encadré par deux séquences de 25 paires de bases appelées bordure droite et bordure gauche.

Allèles : gènes homologues à un locus ayant la même fonction mais avec des effets différents.

Allergène : substances étrangères à l'organisme capable de provoquer une réaction allergique (mobilisation de cellules du système immunitaire).

Allergie : réaction particulière de l'organisme résultant de la mobilisation de cellules du système immunitaire, dirigée contre un allergène.

Angiospermes : embranchement des plantes à fleurs, avec les graines incluses dans un carpelle, qui comprend les monocotylédones et les dicotylédones ; par opposition à gymnospermes qui sont les plantes à graines nues, ou seulement protégées par une écaille (ex. : les conifères).

Allogame, allogamie : système de reproduction à fécondation croisée (ex. : le maïs, le tournesol).

Allopolyploïdie : état d'un génome formé en fait par la juxtaposition de plusieurs génomes diploïdes. Exemple : avec deux génomes, le colza est un allotétraploïde, avec trois génomes le blé est allohexaploïde.

Amylose : polymère du glucose très peu ramifié.

Amylopectine : polymère du glucose très ramifié.

Anticorps : protéines produites par l'organisme pour se défendre contre des corps étrangers.

Apomixie : système de reproduction sans fécondation. C'est le système de reproduction du pissenlit. Voir parthénogenèse.

Apparentement : deux individus sont dits apparentés s'ils ont au moins un ancêtre commun.

ARN : acide ribonucléique.

ARN antisens : ARN dont la séquence est complémentaire au brin d'ARN transcrit. L'ARN antisens en s'hybridant avec l'ARN « normal », inactive l'action du gène.

ARNm ou ARN messager : ARN résultant de la transcription de l'ADN.

ARNr, ARN ribosomique : ensemble des molécules d'ARN présentes dans les ribosomes.

ARNt, ARN de transfert : ARN capable de se charger d'un acide aminé spécifique et de le placer à l'extrémité d'une protéine en cours de synthèse au niveau des ribosomes.

Autofécondation : système de reproduction par lequel une plante se reproduit avec elle-même.

Autogame, autogamie : système de reproduction par autofécondation, ex. : le blé, la tomate, etc.

Autotétraploïdie : état d'un génome formé par la présence de quatre exemplaires d'un même génome haploïde de base. Exemples d'autotétraploïdes naturels : le poireau, la luzerne, le dactyle… On crée aussi des autotétraploïdes par doublement du nombre chromosomique d'un individu diploïde.

Autopolyploïdie : état d'un génome formé par la présence de plusieurs exemplaires d'un même génome haploïde de base. À la méiose, il peut se former des multivalents, ou sinon, s'il ne se forme que des bivalents, ils se forment au hasard. Seuls les nombres pairs permettent une méiose normale. Exemples de plantes naturellement autopolyploïdes : le poireau est autotétraploïde, la fléole des prés est autohexaploïde.

Backcross ou rétrocroisement : opération qui consiste à transférer, par une série de croisements suivis de sélection, un gène d'un génotype dit donneur à un autre génotype dit receveur (voir la description du processus page 37).

Bactérie : micro-organisme généralement unicellulaire, caractérisé par un noyau avec un seul chromosome.

Banques d'ADNc : ensemble de clones d'ADNc, obtenus après transcription réverse des ARN messagers d'un individu ou d'un organe, à un moment donné, dans des conditions déterminées.

Banques génomique : ensemble de clones d'ADN génomique représentatif de la totalité du génome.

Biolistique : technique de transfert direct d'ADN par projection dans les cellules, à très grande vitesse, de micro-billes d'or ou de tungstène enrobées d'ADN, à l'aide d'un canon à particules.

Bordures droite et gauche : séquences répétées de 25 paires de bases qui encadrent l'ADN-T d'*Agrobacterium*. Elles sont reconnues par les protéines de virulence et sont indispensables au transfert de l'ADN-T.

Bt : *Bacillus thurigiensis*, bactérie du sol qui produit des toxines insecticides.

Cal : amas de cellules indifférenciées, obtenues en culture *in vitro* à partir de fragments d'organes, qui peuvent régénérer une plante entière.

Canola : colza de printemps à faible teneur en acide érucique, surtout cultivé au Canada.

Capside : enveloppe protéique d'un virus.

Carte génétique : représentation graphique de l'arrangement des gènes ou des marqueurs moléculaires d'un génome en tenant compte de leur distance génétique. Pour le génome nucléaire, elle représente les groupes de liaison ou chromosomes.

Catalogue officiel des variétés : établi par le Comité technique permanent de la sélection, liste des variétés d'une espèce cultivée qui peuvent être commercialisées en France ou en Europe. Ces variétés satisfont aux critères de DHS et de VAT.

CentiMorgan : unité de mesure de la distance entre deux locus correspondant pour les petites distances au pourcentage de recombinaison.

CGB (Commission de génie biomoléculaire) : commission qui évalue les risques liés à la dissémination volontaires des OGM et à la mise sur le marché des produits issus d'OGM.

CGG (Commission de génie génétique) : commission qui agrée les laboratoires de recherche travaillant sur les OGM en milieu confiné.

Chloroplaste : organite cytoplasmique avec de l'ADN, spécifique aux plantes, qui est le siège de la photosynthèse.

Chromosome : structure nucléoprotéique qui correspond à des gènes liés sur une même molécule d'ADN.

Clone : chez les plantes, copie par multiplication végétative d'un individu ; en biologie moléculaire, copie par duplication d'un gène.

Codon : au niveau de l'ADN, groupe de 3 bases (A, T, G, ou C) codant pour un acide aminé.

Conjugaison : mode de transfert de gènes entre bactéries par contact de cellules à cellules.

Consanguinité : reproduction entre apparentés.

COV (certificat d'obtention végétale) : certificat qui protège l'obtenteur d'une variété, lui permet d'avoir des droits de licence et interdit son utilisation par un tiers sauf comme ressource génétique.

Crossing-over : recombinaison entre deux chromosomes homologues à la méiose.

CTPS (Comité technique permanent de la sélection) : organisme qui sous la tutelle du ministère de l'Agriculture est en particulier chargé de l'inscription des variétés au catalogue officiel français.

Culture *in vitro* : ensemble de méthodes et techniques permettant de « cultiver » au laboratoire, sur un milieu artificiel, d'une part des embryons ou des plantes et d'autre part des méristèmes, des fragments de tissus ou des cellules, souvent dans le but de régénérer des plantes.

CVO (contribution volontaire obligatoire) : taxe payée par l'agriculteur, chez le blé tendre, en cas d'auto-approvisionnement en semences.

Dérive génétique : fluctuation au hasard des fréquences géniques dans les populations de taille limitée.

DHS (distinction, homogénéité, stabilité) : ensemble de critères qui sont étudiés pour l'identification d'une variété et sa protection.

Dicotylédones : plantes formant un sous-embranchement des angiospermes (plantes à fleurs) avec des graines à deux cotylédons et des feuilles à nervation radiale. Cf. Monocotylédones.

Diploïdie : état dû à l'existence chez une espèce de deux génomes homologues qui s'apparient à la méiose ; les chromosomes vont donc par paires et les gamètes d'un individu diploïde sont haploïdes.

Domestication : pour les plantes, adaptation à la culture par l'homme.

Dominance : à un locus, chez un génotype hétérozygote, masquage de l'effet d'un gène par l'effet de l'autre gène (allèle).

Électroporation : technique permettant une transformation génétique par l'application d'un champ électrique à des protoplastes dans un milieu contenant l'ADN à transférer.

Embryogenèse : ensemble des étapes aboutissant à la formation d'un embryon.

Enzyme : protéine qui catalyse une réaction chimique importante pour le métabolisme d'une cellule vivante. La réaction chimique est en général accélérée et peut se dérouler dans des conditions normales de température et de pression.

Enzyme de restriction : enzyme qui reconnaît une courte séquence d'ADN (4 à 6 paires de bases) et effectue au niveau de cette séquence une coupure de l'ADN double brin.

Épigénétique : modifications de l'expression des gènes non codées par la séquence de l'ADN.

Épissage : processus d'élimination des séquences introniques (introns) du transcrit primaire et de jonction des exons entre eux pour former l'ARN messager.

ESB (encéphalopathie spongiforme bovine) : dite maladie de la « vache folle ».

Espèce : unité taxonomique correspondant à des individus qui peuvent naturellement se reproduire entre eux en donnant des descendants fertiles (définition génétique, de plus en plus admise).

EST, *Expressed Sequence Tag* : courte séquence de 300 à 500 nucléotides résultant du séquençage partiel des clones d'une banque d'ADNc.

Eucaryote : organisme supérieur formé de cellules avec un noyau et un cytoplasme séparé par une membrane.

Événement de transformation : un événement de transformation correspond à une intégration d'un transgène particulier dans un site précis du génome. Un même transgène intégré dans deux sites différents conduit à deux événements différents.

Exon : segment de la séquence codante d'un gène qui sera maintenu après maturation du transcrit. Voir intron : partie non codante d'un gène dont le transcrit sera éliminé au cours de la maturation des ARN.

Facteur de transcription : protéine qui intervient dans la transcription d'un gène par l'ARN polymérase.

Focus group : groupe de discussion formé par un ensemble de personnes (6 à 12) profanes choisies pour discuter sur une question qui les concerne directement par leur activité.

Gamète : cellule résultant de la méiose (chez les plantes pollen pour le mâle, ovule pour la femelle) à nombre chromosomique divisé par deux ; chez les organismes diploïdes, les gamètes sont haploïdes.

Gamétophyte : dans le cycle du développement des végétaux, organisme haploïde qui produit les gamètes.

Gène : séquence codante d'ADN correspondant à une unité de fonction, mais aussi unité de ségrégation.

Gène de sélection (ou marqueur de sélection) : gène qui permet d'identifier les individus ayant incorporé le transgène dans leur génome.

Gène de structure : gène dont le produit est selon les cas un ARN, un ARNt, un ARNr, une protéine de structure ou une enzyme.

Gène régulateur : gène dont le produit est une protéine agissant sur le taux de transcription d'un gène de structure (ou plus généralement de tout autre gène).

Gène rapporteur : gène dont l'expression peut être facilement observée au niveau de plantes transformées.

Gène d'intérêt : le gène qui est « manipulé » par transgénèse.

Génétique : science qui étudie les bases de l'hérédité des caractères et leur mécanisme de transmission d'une génération à l'autre.

Génome : au sens restreint, ensemble des gènes d'un individu ; au sens large, ensemble des gènes d'une espèce.

Génomique : science qui étudie l'organisation et le fonctionnement de l'ensemble des gènes au niveau du génome.

Génotype : au sens large, ensemble des gènes d'un individu ; au sens restreint : ensemble des gènes d'un individu à des locus particuliers.

Glycosylation : addition de squelettes carbonés glucidiques à des chaînes protéiques.

Gymnospermes : embranchement des plantes à fleurs, sans carpelles, à graines nues, ou seulement protégées par une écaille (ex. : les conifères).

Haploïdie : niveau de ploïdie des gamètes d'un individu diploïde, correspondant à un seul exemplaire du génome de base.

Haplodiploïdisation : système artificiel de reproduction qui consiste à régénérer un individu à partir de cellules haploïdes (mâles ou femelles) puis à doubler le nombre chromosomique, ce qui conduit à un individu complètement homozygote.

Hémizygotie : état correspondant à la présence d'un seul gène à un locus, au lieu de deux, chez un génome diploïde, ex. : chez les mammifères, le mâle est hémizygote pour le chromosome X. Par extension, on parle aussi d'hémizygotie pour les plantes qui ont intégré le transgène dans un chromosome puisque sur l'autre chromosome homologue, il n'y a rien.

Hétérosis : phénomène de supériorité du produit d'un croisement par rapport à ses parents.

Hétérozygote : état d'un génotype diploïde avec deux allèles à un locus (ex. : *Aa*).

Homologie : peut caractériser des gènes ou des chromosomes. Gènes homologues : gènes qui sont situés au même locus, qui ont donc la même fonction. Chromosomes homologues : chromosomes qui s'apparient au moment de la méiose et qui ont les mêmes locus (définis comme les classes de gènes homologues).

Homozygote : état d'un génotype avec un seul allèle à un locus, ayant deux gènes avec la même fonction (ex. : *AA* ou *aa*).

Hybride : se dit pour une variété, le plus souvent, résultat du croisement de deux lignées non apparentées (F_1) = hybride simple.

Hybride trois voies : résultat du croisement d'un hybride simple et d'une lignée.

Hybride double : résultat du croisement de deux hybrides simples.

IgE : les IgE sont des anticorps spécifiques d'une réaction immunitaire à un allergène, responsables de l'hypersensibilité immédiate.

Introgression : insertion dans un génome d'un gène ou d'un segment chromosomique d'une autre espèce.

Intron : partie non codante d'un gène dont le transcrit sera éliminé au cours de la maturation des ARN. Voir exon.

Isogénicité : terme introduit pour caractériser le retour par le parent récurrent en backcross ; il signifie l'identité des gènes.

Lignée, lignée pure : ensemble d'individus homozygotes à tous ses locus, tous identiques entre eux, et qui par autofécondation se reproduit donc de façon identique à lui-même.

Linkage : liaison physique entre locus (sur un même chromosome).

Linkage drag : phénomène d'entraînement d'un gène lié à un autre gène sélectionné. Phénomène constaté dans le cas du backcross autour du gène introgressé : on introduit non pas le gène, mais tout un fragment chromosomique, plus ou moins long.

Locus : position d'un gène sur le génome ; classe des gènes homologues. À un locus il y a généralement plusieurs allèles.

Marqueur moléculaire : sorte d'étiquette sur la chaîne d'ADN, conséquence de la succession des bases A,T,G,C, qui peut être révélée au laboratoire après extraction de l'ADN et traitement par des outils de la biologie moléculaire (ex. : RFLP, microsatellites).

Maturation : on parle de maturation du transcrit primaire ou maturation post-transcriptionnelle, pour l'ensemble des modifications qui conduisent à l'ARN messager. La maturation post-traductionnelle correspond à l'ensemble des modifications que subit une protéine nouvellement synthétisée (phosphorylation, glycosylation…).

Méiose : division dite réductionnelle des cellules mères des gamètes qui conduit chez les diploïdes à des cellules (les gamètes) avec le nombre haploïde de chromosomes.

Microsatellites : répétitions en tandem de 1, 2, 3, 4 nucléotides (A, T, G, C). La grande variation du nombre de répétitions génère un polymorphisme de longueur importante, ce qui fait des microsatellites des marqueurs moléculaires codominants très polymorphes (les « locus » sont identifiés par les régions flanquantes, et les allèles par la longueur du segment entre ces régions).

Mitochondries : organites cytoplasmiques avec de l'ADN, qui jouent un rôle important dans le contrôle des transports d'énergie dans la cellule.

Mitose : division dite équationnelle d'une cellule qui conduit à deux cellules filles avec le même nombre de chromosomes.

Monocotylédones : plantes formant un sous-embranchement des angiospermes (plantes à fleurs) avec des graines à un seul cotylédon et des feuilles à nervure parallèle, ex. : les graminées.

Mutation : résultat de la mutagénèse.

Mutagénèse : au sens restreint, modification spontanée ou provoquée de la fonction d'un gène par action sur la séquence de bases de l'ADN ; au sens large elle correspond à l'induction de nouveaux caractères pouvant aussi résulter de micro-délétion, d'inversion ou de translocation de segments chromosomiques.

Nucléotide : ester phosphorique d'un nucléoside, complexe d'une base nucléique et d'un sucre.

Oncogène : gène dont l'expression peut conduire à la transformation d'une cellule normale en cellule tumorale.

Organites cytoplasmiques : chez les plantes, chloroplastes et mitochondries.

Origine de réplication : région d'un plasmide bactérien où l'ADN polymérase peut amorcer la synthèse de nouvelles copies de ce plasmide.

Parent donneur : dans le backcross ou rétrocroisement, parent qui est le donneur du gène à transférer.

Parent receveur : dans le backcross ou rétrocroisement, parent qui est le receveur du gène à transférer (on parle aussi de parent récurrent).

Parthénogenèse : reproduction d'un organisme sans intervention de la reproduction sexuée. Voir apomixie.

PCR, *Polymerase Chain Reaction* : enzyme qui permet de recopier un brin d'ADN.

Phénotype : le phénotype d'un individu correspond à ce qui est vu, observé ou mesuré sur cet individu, dans les conditions de milieu où il est, et à un niveau d'observation donné. Pour un caractère donné, le phénotype est le résultat de l'interaction entre le génotype et le milieu.

Plasmide : chez les bactéries, petite molécule d'ADN circulaire, indépendante du génome principal, douée d'une autonomie de réplication, et souvent présente en plusieurs exemplaires.

Plasmide Ti : plasmide d'*Agrobacterium*, avec la zone Ti qui peut s'intégrer au génome des plantes.

Plastome : génome chloroplastique.

Pléiotropie : effet d'un gène sur plusieurs caractères.

Pollen : chez les plantes gamétophyte mâle.

Polyploïdie : état du génome formé la présence de plusieurs exemplaires d'un même génome haploïde de base (on parle d'autopolyploïdie) ou par la juxtaposition de plusieurs génomes diploïdes (on parle d'allopolyploïdie). Voir autopolyploïdie et allopoplyploïdie.

Progrès génétique : en amélioration des plantes, progrès dû à la modification des génotypes, à ne pas confondre avec le progrès agronomique qui intègre à la fois l'amélioration des variétés et l'amélioration des techniques culturales.

Procaryote : organisme dépourvu de compartiment nucléaire (ex. : les bactéries). Voir eucaryotes.

Promoteur : séquence nucléotidique qui contrôle la transcription d'un gène ; point de départ de la lecture, mais aussi contrôle du lieu (organe) et moment d'expression du gène.

Protéine recombinante : protéine obtenue par génie génétique.

Protoplaste : cellule végétale sans ses parois pectino-cellulosiques (digérées).

QTL, *Quantitative Trait Loci* : locus impliqué dans la variation d'un caractère quantitatif.

Recombinaison homologue : mécanisme par lequel un segment d'ADN peut remplacer un segment homologue de la chaîne d'ADN. Ce mécanisme est absent chez les plantes. Il permettrait de remplacer un gène par un autre gène.

Réplication : duplication d'une molécule d'ADN.

Répresseur : protéine qui, en se liant à une région de régulation, bloque le processus de transcription.

Rétrocroisement ou backcross : recroisement d'un individu issu de croisement avec l'un de ses parents.

Rétrotransposons : éléments transposables apparentés aux rétrovirus des vertébrés. Ils forment les éléments transposables les plus fréquents chez les plantes. Voir transposons.

RFLP ou *Restriction Fragment Length Polymorphism* : Polymorphisme de longueur de fragments de restriction de l'ADN, révélé après digestion de l'ADN par des enzymes de restriction, électrophorèse et hybridation avec une sonde d'ADN dénaturé, monobrin. Ce polymorphisme pour une combinaison sonde × enzyme peut être utilisé comme marqueurs.

Ribonucléase : enzyme qui hydrolyse les fonctions phosphodiesters de l'ARN.

Ribosomes : complexe cytoplasmique ribonucléoprotéique qui permet la traduction de l'ARNm en une chaîne polypeptidique (protéines).

Ribozymes : molécule d'ARN capable d'une activité enzymatique d'hydrolyse sur une molécule d'ARN.

RNAi, RNA interference : inactivation post-traductionnelle d'un gène par introduction d'un ARN double-brin homologue à la séquence codante du gène (il y a dégradation des ARNm). Si l'ARN correspond à la séquence promotrice, il y a blocage de la transcription.

Sélection assistée par marqueurs : toute forme de sélection qui fait intervenir au cours de son application les marqueurs moléculaires. Les principales applications des marqueurs en sélection sont le marquage des gènes ou le marquage de segments chromosomiques.

Sélection généalogique : le plus souvent à partir d'une population résultant du croisement de deux lignées, sélection en même temps que l'autofécondation dans le but de créer une nouvelle lignée.

Sélection récurrente : au sens restreint, sélection au niveau de populations, basée sur des cycles courts de sélection suivie d'intercroisement des individus sélectionnés. Au sens large, toute forme de sélection, à cycle assez court avec réintroduction systématique dans le matériel de départ de matériel résultant de sélection.

Semences de base : semences mères des semences certifiées.

Semences certifiées : semences vendues à l'agriculteur pour la culture de consommation. Elles répondent à certaines normes de pureté génétique et de qualité sanitaire et germinative, certifiées par le Service officiel de contrôle (SOC).

Sonde : fragment d'ADN ou d'ARN marqué soit par un élément radioactif (sonde chaude) ou par un élément chimique ou physique (sonde froide), utilisé *in vitro* pour repérer une séquence nucléotidique complémentaire (par hybridation).

Sporophyte : dans le cycle de développement des végétaux, organisme issu de la fusion de deux gamètes et producteur de spores, à l'origine du gamétophyte.

Surexpression : stimulation de la production d'ARN au moment de la transcription d'un gène, ce qui conduit aussi à une surproduction de protéines. Cette stimulation se fait en plaçant le gène sous le contrôle d'un promoteur dit « fort ».

Synténie : correspondance entre l'ordre des gènes d'une espèce à l'autre, sur un segment chromosomique plus ou moins long.

Symbiose : association à bénéfices réciproques, exemple la symbiose plante-bactérie pour la fixation de l'azote. La plante apporte à la bactérie l'énergie dont elle a besoin et « en retour » elle bénéficie de l'azote atmosphérique fixé par la bactérie.

Système binaire : système de transformation par *Agrobacterium* avec deux plasmides, l'un porte le transgène et l'autre dit « assistant » permet le transfert du transgène.

TATA box : séquence d'ADN au niveau du promoteur qui intervient dans l'initiation de la transcription (positionnement de l'ARN polymérase).

Terminateur : séquence d'un gène qui donne le signal de fin de la transcription.

Traduction : synthèse d'une protéine à partir d'un ARN messager.

Transcriptase reverse : enzyme qui synthétise de l'ADN (dit ADNc) à partir de l'ARN.

Transcription : lecture de l'ADN par l'intervention d'une transcriptase, qui conduit à l'ARN.

Transcrit : ARN issu de la transcription de l'ADN.

Transplastomique : transgénèse au niveau du chloroplaste.

Transposon : séquence d'ADN capable de se déplacer au niveau du génome sous l'action d'une enzyme, la transposase.

Transposition : changement de place de transposons (certains transposons « bougent » en permanence, d'autres ne bougent que sous l'action de certains facteurs (choc thermique,…).

Variété (au sens du généticien sélectionneur) : population artificielle, à base génétique plus ou moins étroite, reproductible et de caractéristiques agronomiques bien définies. Ex. : lignées chez les plantes autogames, hybrides ou variétés synthétiques chez les plantes allogames.

Variété synthétique : population artificielle résultant de la multiplication pendant un nombre déterminé de générations de la descendance du croisement naturel d'un nombre limité de plantes sélectionnées. Type de variétés développé chez les plantes allogames pour lesquelles il n'est pas possible de contrôler l'hybridation à grande échelle pour produire des variétés hybrides.

VAT (valeur agronomique et technologique) : ensemble de caractères d'intérêt agronomique et technologiques qui sont étudiés pour l'inscription d'une variété au catalogue officiel français et européen.

Vecteur : plasmide dans lequel on peut introduire une séquence d'ADN.

Abréviations

A	adénine (base purique)
ADN	acide désoxyribonucléique
ADNc	ADN complémentaire
AGPM	Association générale des producteurs de maïs
ARN	acide ribonucléique
Afssa	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
Bp	Paires de bases
Bt	*Bacillus thurigiensis*
C	cytosine
CAD	alcool cinnamylique déshydrogénase
CE	Communauté européenne
CGB	Commission de génie biomoléculaire
CGG	Commission de génie génétique
Cetiom	Centre technique interprofessionnel des oléagineux métropolitains
Cimmyt	Centre international d'amélioration du maïs et du blé (Mexico)
Cirad	Centre international de recherche agronomique pour le développement
COV	Certificat d'obtention végétale
CVO	Contribution volontaire obligatoire
CTPS	Comité technique permanent de la sélection
CPOV	Comité pour les protections des obtentions végétales (France)
DGAL	Direction générale de l'alimentation au ministère de l'agriculture
DHS	distinction, homogénéité, stabilité
EEA	*European Environmental Agency*
EEC	*European Economic Communauty*
EPA	*Environmental Protection Agency*
FAO	*Food and Agriculture Organisation*
FSA	*Food Standard Agency* (UK)
G	guanine
Geves	Groupe d'études des variétés et des semences
Inra	Institut national de la recherche agronomique
Irri	*International Rice Research Center*
kDa	kilodalton

mM	millimole
NCFAP	*National Center for Food & Agricultural Policy* (États-Unis)
OGM	organisme génétiquement modifié
OPECST	Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques
P35S	promoteur 35S
PAC	politique agricole commune
PCR	*Polymerase Chain Reaction*
PEPC	phospho-enol-pyruvate-carboxylase
PVD	Pays en voie de développement
QTL	*Quantitatif Trait Loci*
RFLP	*Restriction Fragment Length Polymorphism*
RH	résistance à l'herbicide
RI	résistance aux insectes
RR	*Roundup Ready*
SAR	*Systematically Acquired Resistance*
T	thymine
U	uracyle
UPOV	Union pour la protection des obtentions végétales (international)
USDA	*United States Department of Agriculture*
VAT	valeur agronomique et technologique
VT	variété transgénique

Index

A

abeilles 146, 166, 167
acide érucique 33, 39, 118, 129, 130, 161
acide laurique 118, 119, 129, 130
acide oléique 117-119
acides aminés 57, 58, 59, 67, 73, 96, 107, 115, 116, 117, 127, 140, 175, 178
acides gras 117-119, 129, 178, 230
ADN égoïste 60, 61
ADN répété 61
ADNc 66, 67, 269, 270, 272, 277
Afssa 86, 96, 117, 177, 179, 187, 190, 193, 199, 201, 202, 220, 228, 233, 239
agriculture biologique 95, 123, 163, 208, 230
agriculture durable 33, 114, 138, 140, 187, 219, 236, 246, 247
agrobacterium 53, 55, 65, 69, 70, 71, 72, 75, 76, 96, 169, 173, 206
alicaments 83, 126, 138
allèles 6, 56
allergie 87, 135, 140, 175, 176, 177, 179, 199, 220, 225
allogamie, allogame 7, 26, 35, 145, 146, 147, 149, 150, 154, 155, 209
allopolyploïdie 269, 275
amidon 21, 22, 120, 129, 131, 140, 161, 233
anémophilie (anémophiles) 7, 166
antibiotiques 170, 175, 181, 199
anticorps 124, 125, 172, 200
anti-oxydants 119
apomixie 43, 270
ARN messager 57, 58, 79, 133, 277
autogamie, autogame 7, 26, 35, 145, 147, 150, 154, 209
auto-incompatibilité 7, 27, 155
autopolyploïdie 270, 275
azote 33, 106-108, 114

B

Bacillus thurigiensis 87
backcross 37, 52-54, 81, 89
balance bénéfices/risques 3, 4, 218, 221, 228, 242
bases puriques 56
basta 97, 133, 182
betterave 16, 27, 40, 44, 95, 96, 102, 115, 148, 149, 154-159, 162
bilan économique 13, 85, 91, 93, 94, 101
bio 22, 90, 123, 144, 156, 161, 212, 230, 239
biocarburants 131, 141
biodiversité 139, 172, 174
biolistique 72, 75, 77, 78
biologie florale 7, 146
biomatériaux 131
biovigilance 158, 202, 203
brevet 17, 123, 150, 183-187, 228, 229, 231, 235

C

canola 14, 100-101, 117-119
carie du blé 113
CGB 75, 102, 146, 148, 155, 167, 170, 172, 177, 181, 192-195, 198, 199, 201-203, 220, 221, 228, 232, 233, 239, 241-243
CGG 59, 192, 193, 233, 242
chloroplastes 47-49, 56, 78, 79
chromosomes 5, 46, 50, 51, 56, 60, 61, 64, 68, 77, 151, 152, 153
chrysomèle 86, 90, 168, 171
cléistogamie 145, 150
clones 66, 67, 108, 114, 149
code génétique 55, 57, 59, 63, 78

colza 88, 96, 97, 98, 100, 101, 109, 116-118, 129, 130, 131, 140, 145-148, 150, 151-161, 166, 182, 183
communication et information 217, 218, 219, 223, 224, 225, 226, 228, 233, 237, 242, 243
complexe d'espèces 31, 32
concentration des entreprises 144, 174, 183, 185, 186, 228, 229
conférence de citoyens 238, 239, 240, 242
consanguinité 26, 28, 35
coût des semences 86, 92, 93, 94
COV 183, 184, 185, 186
Cre/Lox 75, 76
création de variétés 25, 29, 30, 34, 43, 45, 54, 106, 114, 217, 218, 219
croisement interspécifique 44, 45
crossing-over 5, 30, 46, 61
CTPS 193-195, 198
culture d'embryons 46
culture *in vitro* 34, 46, 68, 69, 81

D

désherbage 13, 15, 84, 95, 96, 97, 99, 100, 101, 102, 103, 133, 140, 159, 174
destruction des essais 179, 232, 233, 239, 243
digestibilité des fourrages 127
distances d'isolement 148, 208, 209
domestication 25, 26, 29, 31, 34, 149, 174
dominance 165
doublement chromosomique 34, 44, 45, 46, 74

E

effet d'entraînement 38, 81, 99
élimination des marqueurs 75
encapsidation 111, 162
entomophilie (entomophiles) 7, 146
entreprises de sélection 16, 82, 184-186, 228, 229, 235
environnement 33, 54, 85, 88, 89, 95, 96, 97, 102, 103, 109, 114, 130, 131, 140, 141, 144, 162, 163, 171, 172, 175, 190-195, 198, 201, 202, 203, 218, 219, 221, 230
épissage 58
étiquetage 20, 189, 191, 192, 204, 205, 207, 223, 225, 237, 239
exon 58, 73
expression d'un transgène 65
exsudats racinaires 172

F

familles de gènes 61
filières OGM / non OGM 149, 207, 208, 210
fixation de l'azote 108
flux de gènes 146, 147, 149, 150, 155, 156, 158, 179, 241
flux de pollen 131, 144-146, 149, 150, 154, 179, 202
froid 33, 54, 64, 83, 103-106, 158
fruits climactériques 120
fumonisine 89, 90, 123, 230
Fusarium 89, 113, 172
fusion de protoplastes 113

G

gène régulateur 107, 112
génomique 53
glucides 115
glufosinate 97, 160, 161, 178
glutamine synthétase 97, 107
glyphosate 96, 97, 99, 100, 160, 161, 172, 178

H

haplodiploïdisation 45
hétéroencapsidation 162
hétérosis 134
hybride 90, 95, 111, 113, 133, 148, 150, 152-155, 159, 160
hybride simple 90, 134

I

inhibiteur de protéase 166
insecticides 86-90, 93, 94, 95, 111, 140, 141, 163, 165-169, 173, 174
insuline 124, 126, 127
intron 169
inuline 115
invasivité, plante invasive 156, 157

L

lectine 87, 168, 178, 179

Liberty Link 97, 101
lignées pures 150
lignine 127, 130, 141
linkage drag 38, 40, 98
lipase gastrique 161, 179, 180
lipides 118, 129, 178

M

maïs, maïs *Bt* 2, 3, 10, 18, 84, 86, 88-91, 93-97, 101, 102, 103, 104, 107, 110, 113, 116, 122, 123, 125, 127, 128, 129, 132, 134, 140, 145-149, 154, 156-160, 161, 164-168, 171, 218, 224
marqueur de clonage 169, 170
marqueur moléculaire 49, 50-52
métaux lourds 109, 110, 141
méthionine 116, 117, 127
micro-organismes 114, 123
mildiou 113
Monarque (papillon) 166-167, 225
multiplication végétative 111
mutagénèse 96, 118
mycotoxines 89, 113, 123, 140

N

nitrate réductase 107, 108

P

papaye 111
pays en voie de développement 9, 84, 135, 183, 230-231
phénotype 6, 37, 49, 63, 162
photosynthèse 47, 65, 80, 106, 107, 110
phytase 128, 141
phytoremédiation 109
plante de la résurrection 104
plantes pharmaceutiques 123
plasmide 55, 66-72, 76-78
plastique 129, 131, 141
poirier 113
pollen 5, 7, 45, 78, 87, 125, 131-135, 144-157, 161, 166, 167, 179, 180, 200, 202, 207-209
pollution du sol 171
pomme de terre transgénique 168, 170, 225
principe de précaution 143, 189-192, 202, 218, 220-222, 234, 236, 242
progrès agronomique 32
progrès génétique 28, 30, 32-34, 36, 43, 132, 134, 184, 185, 226, 229
promoteur 62, 65-68, 75, 76, 79, 80, 87, 88, 96, 104-106, 108, 113, 116, 117, 119, 120, 128, 129, 133, 150, 151, 167, 169, 170, 171, 179, 206
protéines 42, 43, 57, 58, 62, 67, 73, 78-80, 104, 105, 115, 116, 124, 125, 127, 171, 172, 175-177, 179, 180, 199, 200, 204, 206, 207
pro-vitamine A 121, 122
Pusztai 178, 179, 181, 225,
pyrale 1, 2, 13, 18, 19, 75, 86, 88-91, 93, 139, 163, 164, 167, 168, 195, 203

Q

qualité des fruits 219
qualité esthétique 120
qualité nutritionnelle 115, 158, 219

R

recombinaison 5, 22, 30, 37, 39, 40, 41, 46, 47, 49, 50, 52-54, 64, 67, 73, 76, 78, 81, 152, 162, 170, 185, 190, 234
refuges 93, 164, 165
réglementation 3, 19, 184, 191, 192, 198, 203, 224, 225, 233
régulateur 62, 106, 107, 112
renouvellement des semences 8, 26, 132, 184
résistance au froid 15, 105, 106
résistance au sel 105
résistance aux antibiotiques 75, 169, 170, 220, 227, 239
résistance aux herbicides 13-15, 63, 83, 95, 140, 150, 157, 159, 177, 218
résistance aux insectes 1, 9, 13, 14, 15, 52, 63, 80, 83, 85, 86, 140, 144, 158, 163, 166, 173, 178, 179, 218, 231
résistance aux maladies 34, 50, 52, 61, 83, 84, 110, 113, 119, 138, 140, 144, 231
ressources génétiques 30, 31, 41, 42, 139, 185, 229
rétrocroisement 37-39, 48, 52, 73, 81, 98, 113
rhizosphère 108, 114, 173

ribosomes 57
risque 73-75, 78, 86, 124-126, 143-187, 189, 190, 199, 200, 201-205, 207-210, 220-222, 230, 231, 233, 238, 239, 241, 242
riz doré 121-123, 126, 138
riz transgénique 14, 122, 126, 231
rotations 149
Roundup® 2, 18, 21, 96, 97, 182

S

sécheresse 15, 33, 54, 64, 83, 86, 103-106, 137, 138, 158, 231
sel 103-106, 109, 158
sélection assistée par marqueurs 50, 53, 81
sélection cumulative 41
sélection généalogique 26, 28, 35-37, 40, 41, 54
sélection naturelle 26, 61
sélection récurrente 40-43, 52, 54, 185
séparation des filières 95, 207, 214, 220, 222, 225
soja 1, 2, 9, 10, 12-16, 20, 21, 27, 91, 93, 96-99, 100, 103, 117, 118, 123, 139, 145, 154, 159, 175-177, 178, 199, 200, 204, 209, 210, 212-214, 225
sol 96, 97, 102-105, 107, 109, 110, 114, 144, 147, 156, 159, 168, 169, 170-172
stérilité mâle nucléo-cytoplasmique 47, 132, 133, 155
stratégie antisens 118, 120, 123, 129, 130, 241
surexpression 67, 79, 97, 104, 105-109, 112, 119, 121, 124, 234
synténie 58, 60, 62
synthèse d'espèce 44
système binaire 71, 76, 77
systèmes de reproduction 7, 30

T

taille du génome 61, 62
terminateur 65, 66, 206
terminator 150, 151, 184, 225, 226
thérapie génique 65
tolérance (facteur d'adaptation) 103-106, 109, 138, 158, 213
tolérance (seuil de) 205, 207, 208, 211, 212
tomate transgénique 1, 2, 120
toxicité 79, 131, 167, 171, 175, 177, 179, 201, 202, 220, 228
traçabilité 191, 192, 203, 205, 208, 211-213, 225, 239
traduction 58, 65, 67, 104, 112
transcription 57, 62, 65, 67, 104-107
transfert de gènes 173, 192, 195
transfert horizontal 145, 169, 170, 181
transplastomique 78, 170
transposition 53, 60, 76
transposon, transposition 60, 61, 67, 74, 76
tréhalose 104
tryptophane 59, 87, 96, 116, 127, 180

V

vaccins 23, 125, 126, 141, 172, 220
valeur sélective 156, 157
variétés clones 8
variétés hybrides 8, 27, 28, 29, 48, 64, 75, 81, 131, 134, 149, 151, 184
variétés lignées 8, 148
variétés populations 7, 28, 29
variétés synthétiques 8, 28
vigne transgénique 238, 240

X

xénie 161

Z

zone refuge 164, 165

Les plantes transgéniques sont maintenant cultivées dans plus de 100 millions d'hectares dans le monde, mais leur développement est bloqué en Europe. En France, elles sont l'objet de débats fréquents, passionnés, polémiques et de prises de position politiques. En conséquence, il n'est pas toujours facile de bien cerner toutes les facettes de ce dossier.

Cet ouvrage rassemble des informations permettant de mieux comprendre les objets des débats en s'appuyant, pour chacun d'eux, sur des références précises. Qu'est-ce que la transgénèse, que peut-elle apporter ? Quels sont les risques éventuels pour la santé et pour l'environnement, comment sont-ils ou peuvent-ils être gérés ? Les raisons du refus des plantes transgéniques sont-elles de nature scientifique, économique, éthique ou politique et quelles en sont les conséquences ?

Les auteurs ont examiné la balance bénéfices/risques des plantes transgéniques en considérant les points de vue techniques, scientifiques, économiques et sociétaux.

Cet ouvrage s'adresse aux étudiants et aux enseignants en biologie végétale ou en agronomie, aux chercheurs et ingénieurs de la sélection végétale, aux décideurs et à tout citoyen s'intéressant à ce sujet de société.

André Gallais, ingénieur agronome, docteur ès sciences, a été professeur de génétique évolutive et d'amélioration des plantes à l'Ina P-G de 1982 à 2005 et responsable de programmes de génétique et d'amélioration du maïs à la station de génétique végétale du Moulon (Inra - université Paris Sud - CNRS - Ina P-G). Il est spécialiste de la génétique quantitative et des méthodes d'amélioration des plantes et membre de l'Académie d'agriculture de France.

Agnès Ricroch, docteur en sciences, est maître de conférences en génétique évolutive et amélioration des plantes à l'Ina P-G depuis 1998. Chercheur au laboratoire d'écologie, systématique et évolution de l'université Paris Sud-CNRS, elle étudie les risques des plantes transgéniques sur la biodiversité. Membre du groupe de travail en éthique et philosophie des sciences au Collège de France, elle examine les questions éthiques liées au développement des biotechnologies.

En couverture : Champ de colza en fleurs en Eure-et-Loir. Cliché Jean Weber © Inra.

éditions Quæ

Éditions Cemagref, Cirad, Ifremer, Inra
www.quae.com

ISBN (10) : 2-7592-0001-9
ISSN : 1777-4624
Réf. : 2002

Prix TTC : 34 €

9 782759 200016