

Transformation génétique des arbres tropicaux fixateurs d'azote de la famille des casuarinacées

C. FRANCHE, ET AL.

Les arbres tropicaux de la famille des casuarinacées sont capables d'établir une symbiose avec un actinomycète du sol, *Frankia*. La relation plante-micro-organisme se traduit par la différenciation de nodules racinaires qui ont la propriété de fixer l'azote atmosphérique. Grâce à leurs faibles exigences nutritionnelles et à leur remarquable tolérance à la sécheresse, ces arbres jouent un rôle important dans les régions tropicales, à la fois pour la protection des sols et la production de bois ou de biomasse.

L'utilisation d'un vecteur biologique naturel, *Agrobacterium tumefaciens*, a permis la mise au point d'une technique de transformation génétique chez deux espèces de casuarinacées : *Allocasuarina verticillata* et *Casuarina glauca*. Des plantes transgéniques ont été régénérées, caractérisées et leur aptitude à développer des nodules fonctionnels après inoculation par *Frankia* a été montrée.

La maîtrise d'une technique de transfert génétique, alliée à l'utilisation des outils de la biologie moléculaire, permettra d'obtenir de nombreuses informations sur les échanges moléculaires entre *Casuarina* et *Frankia*, et d'améliorer les performances de ce système symbiotique. Par une bonne connaissance des mécanismes contribuant à la régulation de l'expression chez *Casuarina*, l'introduction de gènes d'intérêt dans ces ligneux tropicaux peut être envisagée et devrait contribuer à accélérer les programmes d'amélioration génétique de ces arbres.

Genetic transformation of tropical nitrogen-fixing Casuarinaceae tree species

C. FRANCHE, ET AL.

Tropical trees of the Casuarinaceae family develop a symbiotic association with a soil actinomycete (*Frankia*) that fixes nitrogen in root nodules. Based on this symbiotic association and their natural drought tolerance, Casuarinaceae species are multipurpose pioneer trees - they are currently used in tropical and subtropical areas with poor forest resources for sand stabilization, soil rehabilitation, fuelwood and timber production, shelter belts and field crop protection. The biological vector *Agrobacterium tumefaciens* was used to develop a genetic transformation procedure for two species, *Allocasuarina verticillata* and *Casuarina glauca*. Transgenic trees were regenerated, characterized, and their ability to develop nitrogen-fixing nodules was demonstrated.

A. verticillata and *C. glauca* are the first actinorhizal trees ever to have been genetically transformed. It is quite likely that transgenic Casuarinaceae will provide a major tool for investigating regulatory mechanisms that control actinorhizal gene expression and for comparison of legume and actinorhizal symbiotic genes. A better understanding of gene expression in these tropical trees will also pave the way to the introduction of agronomically useful traits.

Cahiers Agricultures 1998 ; 7 : 536-41.

Plantes transgéniques : de l'estimation à la gestion des risques

Fabrice D. Pessel, Jane Lecomte, Pierre-Henri Gouyon

Cadre et contexte des études sur les risques

Le génie génétique est une technologie qui, 15 ans après les premiers travaux expérimentaux en laboratoire, trouve des applications dans divers domaines, en particulier celui de l'amélioration des plantes cultivées. Aujourd'hui, les grandes firmes semencières disposent d'une large gamme d'espèces végétales transgéniques d'intérêts économiques exprimant différents caractères comme des tolérances aux herbicides, aux ravageurs (insectes, nématodes), aux pathogènes (virus, champignons) ou présentant de nouvelles caractéristiques alimentaires (production d'acides aminés ou d'acides gras spécifiques), ornementales (couleur des fleurs) voire pharmaceutiques (production de lipase, albumine, hémoglobine).

Articles de presse polémiques, publicités provoquantes, prises de position politiques contradictoires, manifestations violentes, publications pseudo-scientifiques, mise en place de débats parlementaires, d'une Conférence de Citoyens, d'un Comité de Biovigilance, proposition de moratoire... tout est dit, tout est entrepris aujourd'hui lorsqu'il est question des plantes génétiquement modifiées, ou plus largement d'organismes génétiquement modifiés. Ainsi, au nom de la « transparence », voulue par tous, mais bien souvent pour servir des intérêts divergents, ce dossier déjà difficile à appréhender à la base ne cesse de se

complexifier aux yeux du grand public alors que, parallèlement, les connaissances scientifiques et techniques progressent, même si cette progression est lente et que plus les connaissances s'affinent, plus les inconnues s'accumulent.

Cet étonnant paradoxe trouve en partie son explication dans le contexte social actuel. Les affaires du sang contaminé et de la vache folle, pour ne citer que les plus voyantes, remettent aujourd'hui en cause la confiance que pouvait accorder notre société au système de décision [1], en particulier celui chargé d'autoriser la dissémination des plantes transgéniques. De plus, dès que se sont mis en place les protocoles d'estimation *a priori* des impacts potentiels de ces nouveaux organismes sur notre environnement, nous avons très rapidement constaté que la diversité, à la fois des caractères introduits et des espèces modifiées par transgénèse, rendait impossible une évaluation globale de ces risques. Seules des études au cas par cas pouvaient être mises en place, pour une espèce donnée, pour un caractère donné et dans un environnement donné. Il semble que le caractère non généralisable du discours ait été très mal perçu par la société qui s'accommode plus volontiers de concepts globalisants et normatifs : « c'est tout bien ou tout mal ». Cet aspect relatif des réponses scientifiques s'accompagne souvent d'un discours complexe et technique qui contribue au rejet des biotechnologies, plus souvent par incompréhension (parfois justifiée d'ailleurs) qu'en réelle connaissance de cause. Le recours à l'irrationnel est alors un mécanisme de défense très efficace qui, relayé par les médias porte-parole de l'opinion, l'emporte bien souvent sur le discours rationnel des scientifiques. Ces comportements irrationnels sont légitimes et ne peuvent être condamnés tant qu'ils demeurent individuels et

F.D. Pessel, J. Lecomte, P.-H. Gouyon : Laboratoire Évolution et Systématique, CNRS-URA 2154, Bâtiment 362, Université Paris XI-Orsay, 91405 Orsay cedex, France.

Tirés à part : F.D. Pessel

Transgénèse et estimation des risques

n'engagent pas l'ensemble de la société. Or, dans le cas des plantes transgéniques, c'est bien d'un progrès dont il est question, un progrès dont les retombées, positives comme négatives, se feront sur l'ensemble de la population. De ce fait, si des avis à titre individuel peuvent être émis, il est de notre rôle de scientifiques, dans nos domaines respectifs de compétences, de fournir des éléments rationnels aux commissions d'experts chargées d'évaluer les risques dans leur ensemble. Il faut garder à l'esprit que c'est ensuite aux instances politiques, issues du système démocratique, de prendre une décision *in fine* en opposant risques attendus et bénéfices escomptés sachant qu'aucune avancée technologique ne peut se faire à risque zéro. Dans ce cadre, l'information des citoyens est une nécessité et nous espérons, par nos propos, fournir aux lecteurs un aperçu des moyens permettant d'appréhender et d'estimer les risques écologiques, en insistant sur les contraintes afférentes aux différentes approches.

Démarche scientifique particulière

Dans une démarche scientifique classique, on observe des phénomènes, on émet des hypothèses sur les processus en jeu et on essaye de les tester. Dans le cas des études de risques la démarche est tout autre, car il s'agit de prévoir un phénomène en supposant les processus connus et sans observation possible. Ceci est loin d'être évident, en particulier lorsque l'on s'intéresse à des processus biologiques complexes dépendant de multiples paramètres. Ainsi, s'il est souvent question de nouveauté technologique lorsque l'on fait référence au génie génétique, les études d'impacts sur l'environnement de l'introduction de plantes transgéniques constituent également une nouveauté en termes de démarche scientifique. Face à cette nouveauté et à cette complexité, il est important de s'accorder sur une formalisation du risque, ce qui a également pour intérêt d'éviter le flou entretenu par le langage parlé. Ainsi, en s'appuyant sur la représentation « fréquence x dommage » [2] on peut définir une catégorie de risques écologiques comme le produit de trois composantes :

- le transfert ou la probabilité qu'un transgène présent dans une variété cultivée se retrouve dans un environnement autre que la culture (repassage hors champ et/ou

- hybridations avec des espèces sauvages apparentées ; transferts horizontaux aux bactéries du sol) ;

- le devenir du transgène au sein de son nouvel environnement lorsqu'il est soumis aux forces évolutives (sélection, migration, dérive) ;

- l'impact ou les conséquences écologiques de l'expression de ce transgène dans son nouvel environnement sur la stabilité des écosystèmes et sur la biodiversité.

Il s'agit ensuite de déterminer quels sont les paramètres biologiques à considérer afin d'estimer au mieux ces différentes composantes (*tableau*). À partir des connaissances acquises dans différents domaines comme la génétique fondamentale, l'amélioration des plantes, la génétique et la dynamique des populations, la malherbologie, il est possible de poser des hypothèses *a priori* sur l'importance de tel ou tel paramètre sur les différents processus biologiques considérés. Une fois établie, cette hiérarchie orientera les recherches expérimentales et théoriques permettant d'estimer plus précisément ces différents paramètres. Il peut sembler trivial de tenir ce genre de discours, mais il nous semble important de rappeler que, même si des zones d'ombre subsistent autour de ce sujet complexe, les études le concernant se fondent sur des connaissances qui ne cessent de s'accumuler, ce qui répond indirectement aux attaques lancées contre les scientifiques qualifiés ici et là « d'apprentis sorciers » ou de « bricoleurs de la Nature ».

Acquisition de données

La mise en place d'expérimentations visant à quantifier les différents paramètres jugés pertinents nécessite des démarches particulières lorsqu'il s'agit de travailler directement sur du matériel modifié par transgénèse. Dans le cas d'expériences en milieux clos (serres et laboratoires), les structures expérimentales doivent répondre à des critères imposés par la Commission du génie génétique. Leur accès est alors réglementé, ce qui a souvent pour conséquences de rendre le travail scientifique plus laborieux. Lorsqu'il s'agit de mettre des plantes transgéniques au champ (milieux ouverts), un dossier doit être déposé devant la Commission du génie biomoléculaire. Ces expérimentations doivent être isolées afin de limiter au maximum les disséminations non contrôlées d'OGM (flux de pollen et de graines). Les parcelles expérimentales ne dépassent que rarement 1 ou 2 ha et ne sont généralement cultivées que sur une génération de plantes transgéniques. Après le déroulement de l'étude, les plantes doi-

vent être détruites et les parcelles surveillées pendant 2 à 3 ans pour contrôler les éventuelles repousses transgéniques indésirables. Ainsi, la législation impose un certain nombre de contraintes, certes nécessaires, mais qui, dans certains cas, ne sont pas sans répercussions sur les résultats des recherches. La mise en place et le suivi de ces expériences sur matériels transgéniques demandent un investissement important, aussi bien en temps qu'en personnel. Ceci n'est pas toujours compatible avec les budgets des laboratoires de recherche publics ni avec les délais imposés par les instances décisionnelles. Les différences d'échelles spatiale et temporelle entre ces expérimentations et des situations commerciales réelles envisageables sont des contraintes fortes qui pèsent sur l'approche expérimentale des risques. Ces expérimentations sur matériels transgéniques sont nécessaires, en particulier lorsqu'il s'agit d'identifier l'effet du transgène sur le comportement propre de la plante (coût d'expression du transgène [4, 5], modification de valeur sélective [6]) ou sur son environnement direct (par exemple les pollinisateurs [7]). De plus, on constate que le matériel transgénique s'impose comme un très bon support pour étudier les flux de gènes qu'ils soient intraspécifiques (distances de dispersion) ou interspécifiques (croisements espèces cultivées x espèces sauvages). En effet, codant généralement pour une tolérance, voire une résistance, à une pression de sélection (herbicides, antibiotiques...), il est facile de mettre en évidence le transgène en appliquant le traitement sélectif sur la descendance des plantes soumises à des flux de pollen transgénique [8-13]. Ainsi, il est possible de traiter le très grand nombre de plantes nécessaire pour mettre en évidence des événements se produisant à faible fréquence (migrations à longue distance, hybridations interspécifiques rares). Par ailleurs, la nature exacte du transgène étant connue, il est aisé de confirmer sa présence au moyen de techniques moléculaires dans la descendance [13-15] comme dans des résidus végétaux du sol [16]. Les études mises en place pour tenter d'estimer la courbe de dispersion pollinique d'un colza résistant au Basta® illustrent les contraintes imposées par le cadre expérimental. Alors qu'en 1990, les chercheurs n'observaient que 0,00034 % de colza résistants à 47 mètres de la source de transgène [9], en 1992, ces mêmes auteurs en recensaient 10 fois plus dans des blocs situés cette fois-ci à 400 mètres [8]. Les expérimentations réalisées dans le cadre du programme européen Bridge ont fourni des résultats similaires. Pour un même dis-

Tableau

Liste des paramètres biologiques intervenant dans l'estimation des composantes du risque écologique de dissémination volontaire de cultures transgéniques dans l'environnement (d'après Arnould *et al.* [3])

			Composantes du risque		
			Transfert	Devenir	Impact
Biologie des espèces cultivées et sauvages	Régime de reproduction	Autogamie	√	√	
		Homogamie	√	√	
	Possibilités de croisements entre espèces cultivées et sauvages	Barrières à l'hybridation	√		
		Décalage de floraison	√		
Comportement des types sauvage, hybride ou cultivé	Distance entre plantes et populations	√	√		
	Distance et mode de dissémination du pollen et des graines	√	√		
Introduction et expression du ou des gènes	Paramètres génétiques	Aptitude compétitive		√	√
		Survie dans les différents milieux (« coût de la domestication »)		√	√
Paramètres de l'environnement	Expression du nouveau caractère	Hérédité		√	
		Stabilité dans le nouveau génome		√	√
Paramètres de l'environnement	Pression de sélection sur le caractère	Liaison génétique avec d'autres gènes		√	√
		Récessif ou dominant		√	
Paramètres de l'environnement	Techniques culturales	Conséquence sur la valeur sélective		√	√
		Structuration temporelle		√	
	Techniques culturales	Structuration spatiale		√	
		Pourcentage de récolte des différents types sauvage, hybride ou cultivé		√	
		Rotation des cultures		√	
		Travail du sol		√	

List of biological parameters involved in the assessment of ecological risk components of deliberate release of transgenic crops

positif expérimental, alors qu'en 1989 des colzas résistants avaient été trouvés en fréquence non négligeable à 50 mètres de la source, leur fréquence était quasi nulle à 24 mètres l'année suivante [17]. On constate donc que les résultats dépendent non seulement des conditions du milieu, mais aussi et surtout des dispositifs expérimentaux choisis. Dans toutes ces études, la décroissance du nombre de descendants exprimant le caractère transgénique est très rapide au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la source. Malgré cela, on retrouve systématiquement des individus exprimant le transgène dans la descendance des plantes situées en bordure d'expérimentation. Certes ces plantes s'observent à des fréquences très faibles, mais il faut garder à l'esprit que :

- un événement rare au niveau d'une parcelle expérimentale peut devenir fréquent à l'échelle d'une région agricole ;
- un génotype produit en faible proportion peut très bien envahir une population s'il est favorisé par la sélection naturelle. On ne peut donc négliger ces phénomènes se produisant à faible fréquence, dans une étude exhaustive des risques associés aux cultures transgéniques. Cela ne veut pas dire pour

autant que ces événements influenceront de manière significative la dynamique de dispersion d'un transgène dans un environnement donné. Seule leur prise en compte dans des modèles de simulation peut permettre de répondre à cette question. Les expérimentations en cours et les estimations de courbes de dispersion pollinique pour le colza [18, 19] ne cessent de s'affiner et devraient fournir rapidement des données quantitatives solides pour faire fonctionner les modèles de simulation. Bien entendu, un certain nombre d'expérimentations peuvent être menées sur du matériel non transgénique. En effet, lorsque le transgène introduit ne modifie pas la valeur sélective de la plante modifiée ou lorsque la modification génétique n'affecte pas *a priori* les processus biologiques que l'on cherche à quantifier, il est alors possible d'extrapoler des données obtenues sur des génotypes non transgéniques. C'est par exemple le cas de beaucoup d'études sur les potentialités d'hybridations entre plantes cultivées et plantes sauvages [12, 20-26], sur la survie ou la dormance des graines des différentes formes sauvages, hybrides et cultivées [5, 27, 28], ou sur leurs aptitudes

compétitives [4, 29]. S'il est possible d'affirmer que telle espèce peut ou ne peut pas s'hybrider avec telle autre, il est plus difficile d'estimer précisément et globalement ce taux d'hybridation. En effet, la probabilité de croisement interspécifique peut dépendre des génotypes considérés, comme par exemple dans le cas du colza et de la ravenelle [13], et il se peut même que ces taux soient plus élevés en conditions naturelles que lors des croisements dirigés en serre (Chevre, com. pers.). Il est donc délicat dans certains cas d'extrapoler des résultats expérimentaux en conditions contrôlées en vue de prédire avec certitude leurs impacts éventuels à une échelle commerciale de culture. Dans certains cas très rares, il est possible d'étudier des situations en vraie grandeur, proches de ce qui pourrait se passer lors de l'introduction de plantes transgéniques en culture. On peut citer par exemple le travail réalisé par une équipe américano-écossaise sur la culture de la framboise (*Rubus idaeus*) en Écosse [30]. Se fondant sur deux caractères phénotypiques facilement identifiables et spécifiques des variétés cultivées (gros fruit, allèle L1 et fermeté de la tige, allèles), ces chercheurs ont mis en évidence des

Transgénèse et estimation des risques

échanges génétiques entre populations cultivées et sauvages à l'échelle de la région d'exploitation (2 000 ha). Malgré deux décennies de cultures de variétés à tiges fermes, l'allèle *s* ne se retrouve qu'à de très faibles fréquences dans les populations spontanées de *Rubus* (en moyenne 0,4 %). Ainsi, dans le cas de la culture de la framboise en Écosse, les instances décisionnelles disposent de résultats scientifiques probants pour gérer une éventuelle demande de commercialisation de variétés transgéniques exprimant des caractères contre-sélectionnés dans des environnements naturels. Ces situations sont toutefois exceptionnelles et ne peuvent être extrapolées ni à d'autres cultures ni à des caractères augmentant, même très faiblement, la valeur sélective des individus dans un environnement non anthropisé, comme par exemple le cas de la résistance aux insectes chez le colza [6]. Lorsqu'elles sont possibles, de telles études sont cependant très intéressantes et souvent moins coûteuses à la fois en temps et en argent [31].

Sur la base de la formalisation du risque (*transfert* \times *devenir* \times *impact*) de nombreuses données permettent d'estimer la première composante du risque, c'est-à-dire la probabilité de transfert du transgène. Concernant les transferts horizontaux (*via* les bactéries du sol), on ne dispose d'aucune donnée vraiment fiable si ce n'est entre une pomme de terre transgénique (*Solanum tuberosum*) et une bactérie pathogène (*Erwinia chrysanthemi*) [32]. La probabilité de ce type d'événement est estimée à $2 \cdot 10^{-17}$ en conditions naturelles, c'est-à-dire à un risque quasi nul, ce qui peut toutefois se discuter étant donné les effectifs très importants des populations bactériennes (environ 10^8 bactéries/g de sol [33]). Dans certains cas, quelques données existent quant au devenir du transgène dans son nouvel environnement (survie des graines et aptitudes compétitives des hybrides). Il est important d'ailleurs de différencier une plante hybride (qui est relativement instable, donc « temporaire ») d'une plante introgressée, dans laquelle le transgène est intégré « définitivement » ou tout du moins de manière plus stable. Jusqu'à présent la seule étude permettant d'estimer ce taux d'introgression a été réalisée sur le colza et la ravenelle [34]. Après trois générations de rétrocroisements, les auteurs observent des plantes présentant des phénotypes de ravenelle et exprimant le caractère transgénique du colza. Dans tous les cas, il s'agit d'un ajout d'un ou de plusieurs chromosomes de colza qui tendent à être éliminés au cours des générations de rétrocroisements. Pour l'instant, aucune forme introgressée par

réarrangement chromosomique n'a donc été observée entre ces deux espèces. Pour ce qui est de l'impact à moyen et long termes, les données sont quasi inexistantes. Dans le cas du colza transgénique résistant aux insectes, la toxine produite ne semble pas perturber le comportement des abeilles pollinisatrices [6]. Dans celui du maïs transgénique résistant à la pyrale, aucune résistance des insectes cibles n'a été observée après 26 générations de sélections [35].

Extrapolation des données

Lorsque, au niveau expérimental, on établit qu'un transgène ne modifie pas le comportement des plantes (comme c'est le cas pour le colza résistant à l'herbicide Basta® [4]), il est alors possible d'extrapoler les observations faites en conditions naturelles à ce qui se produirait lors de son introduction à l'échelle agricole [36]. Dans tous les autres cas, cette démarche est impossible et il est donc absolument nécessaire de s'affranchir des limites de temps et d'espace afin de prédire à moyen et long termes le devenir et l'impact d'un transgène. Pour ce faire, la modélisation mathématique et les simulations informatiques sont des outils théoriques puissants, permettant à la fois de synthétiser les résultats d'expérimentations et les observations de terrain, mais également de les extrapoler à des échelles spatiales et temporelles plus proches de situations réelles. Pour cela on dispose de deux grandes catégories de modèles : les modèles mathématiques et les simulations informatiques. Les premiers sont faciles à mettre en œuvre et le champ des paramètres est rapidement explorable lorsque les processus modélisés ne sont pas, ou que peu, spatialisés. Lorsque la spatialisation se complique, les simulations deviennent plus appropriées. Un modèle, par définition, est une formalisation de processus (biologiques dans le cas présent) fondée sur des approximations que l'on considère appropriées pour décrire une partie de la réalité. De ce fait, il n'est ni réaliste ni envisageable de prendre en compte dans ce type d'approche l'ensemble des paramètres listés précédemment. Comme dans le cas des expérimentations, on pose consciemment, en modélisation, des hypothèses *a priori* sur l'importance de tel ou tel paramètre. Cette approche par modélisation a rapidement évolué. Les premiers modèles développés furent des modèles déterministes de génétique ou de dynamique des populations dans lesquels la dimension spatiale était peu présente [37-41]. Ces modèles ont permis soit de confirmer des raisonnements empiriques (comme dans le cas de l'apomixie), soit de mettre en évidence certains

phénomènes comme des discontinuités dans les fréquences de fixation d'un transgène. Ces derniers résultats, que seule la modélisation pouvait révéler, sont très intéressants dans la mesure où ils montrent clairement qu'il serait faux de considérer des taux moyens et de ne pas tenir compte de leur variance. En effet, pour deux événements d'intensité très proches (par exemple deux événements ponctuels de forte migration), les états d'équilibre peuvent être très différents : soit un envahissement de la population par le transgène, soit le maintien à une fréquence d'équilibre inférieure à 1 [39]. Aujourd'hui, afin d'affiner leurs prédictions, les modèles s'orientent davantage vers une prise en compte de la dimension spatiale et en particulier de son hétérogénéité. Nous avons par exemple montré qu'il est possible de définir une distance seuil au-delà de laquelle un transgène de résistance à un herbicide ne se propage plus dans un système linéaire de populations interconnectées par des flux de gènes (non publié). En fait, l'objectif, à moyen terme, est de coupler ces modèles métapopulationnels spatialisés aux modèles agronomiques décrivant avec précision ce qui se passe au niveau de la parcelle en fonction des itinéraires techniques employés (rotation, travail du sol, traitements chimiques...).

Bien entendu, la fiabilité des modèles dépend directement de l'estimation des paramètres que l'on y introduit et, de ce fait, ils sont indissociables des expérimentations. Ceci est d'autant plus vrai dans le cas particulier de l'estimation des risques puisque nous ne disposons pas d'observations pour valider leurs prédictions. Ainsi, nous pouvons tout au plus aujourd'hui proposer différents scénarios suivant les conditions initiales, le type de transgène et la nature de la plante modifiée. Toutefois, il n'est pas envisageable d'écarter ce type d'approche eu égard à l'incapacité technique de réaliser des expérimentations dans toute la gamme d'environnements possibles.

Vers une gestion des risques

Nous espérons avoir montré toute la complexité des recherches sur l'estimation des risques mais également comment la communauté scientifique tente de donner une réponse aux questions adressées par les instances politiques mais aussi par la société. La première Conférence de Citoyens vient de rendre son avis en France sur les plantes transgéniques et il apparaît que ce discours a été bien compris et surtout bien perçu par les représentants de notre société. Si

pour l'instant nous n'avons que peu de certitudes, il est essentiel de poursuivre sereinement les études scientifiques. Pour cela il semble important que la recherche publique s'investisse d'avantage dans ce type de recherche, ce qui nécessite des moyens aussi bien en temps que financiers. Ce sont pour ces raisons que nous défendons l'idée d'un moratoire et le principe de biovigilance suite à l'introduction en culture du maïs résistant à la pyrale, sans cautionner pour autant les discours pseudo-scientifiques de certains qui défendent l'idée d'un moratoire au nom de « La Bonne Mère Nature » ou en agitant les vieux démons de « on ne peut prédire ce que l'on ne connaît pas » [42]. La sélection naturelle est impitoyable pour les organismes mal adaptés, qu'ils soient de jolies fleurs ou de vilains virus, et les processus biologiques connus sont suffisamment complexes pour qu'il ne soit pas nécessaire d'invoquer des facteurs dont l'existence n'a jamais été établie. On constate aujourd'hui que le pouvoir politique tient, après plusieurs hésitations, compte des avis donnés par les experts scientifiques en France où le maïs ne présente ni potentialités invasives hors champs, ni possibilités d'hybridation avec des plantes sauvages. Les experts ont conclu au risque écologique nul dans l'état actuel des connaissances et le gouvernement français a donc autorisé sa culture en novembre 1997, en précisant toutefois que cette autorisation était réversible et qu'un suivi devait être réalisé (création du Comité de biovigilance). De plus, face aux incertitudes persistantes dans le cas de la culture du colza (potentialités invasives et transfert aux plantes sauvages certain), aucune autorisation n'a été délivrée. Nous ne pouvons que nous réjouir de la cohérence récente de ces prises de décision et souhaiter que la gestion des risques se fasse dans ce même état d'esprit □

Références

1. Biotechnology and the European Public Concerted Action group. Europe ambivalent on biotechnology. *Nature* 1997 ; 387 : 845-7.
2. McKenzie DR, Henry SC. Toward a consensus. In : McKenzie DR, Henry SC, eds. *Kiawah Island Conference : Biological monitoring of genetically engineered plants and microbes*. Bethesda : Agriculture Research Institute, 1990 : 273-83.
3. Arnould J, Gouyon PH, Lavigne C, Reboud X. OGM : une théorie pour les risques. *Biofutur* 1993 ; juin : 45-50.
4. Crawley MJ, Hails RS, Rees M, Kohn D, Buxton J. Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature* 1993 ; 363 : 620-3.
5. Hails RS, Rees M, Kohn DD, Crawley MJ. Burial and seed survival in *Brassica napus* subsp. *oleifera* and *Sinapis arvensis* including a comparison of transgenic and non-transgenic lines of the crop. *P Roy Soc Lond B* 1997 ; 264 : 1-7.

6. Stewart CN Jr, All JN, Raymer PL, Ramachandran S. Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. *Mol Ecol* 1997 ; 6 : 773-9.
7. Picart-Nizou AL, Pham-Delegue MH, Kerguelen V, et al. Foraging behaviour of honey bees (*Apis mellifera* L.) on transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). *Transgenic Res* 1995 ; 4 : 270-6.
8. Scheffler JA, Parkinson R, Dale PJ. Evaluating the effectiveness of isolation distances for field plots of oilseed rape (*Brassica napus*) using a herbicide-resistance transgene as a selectable marker. *Plant Breeding* 1995 ; 114 : 317-21.
9. Scheffler JA, Parkinson R, Dale PJ. Frequency and distance dispersal from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*). *Transgenic Res* 1993 ; 2 : 356-64.
10. Paul EM, Thompson C, Dunwell JM. Gene dispersal from genetically modified oilseed rape in the field. *Euphytica* 1995 ; 81 : 283-9.
11. Mikkelsen RT, Andersen B, Jorgensen RB. The risk of crop transgene spread. *Nature* 1996 ; 380 : 31.
12. Darmency H, Fleury A, Lefol E. Effect of transgenic release on weed biodiversity oilseed rape and wild radish. In : *Brighton Crop Protection Conference-Weeds*. Brighton, 1996.
13. Baranger A, Chevre AM, Eber F, Renard M. Effect of oilseed rape genotype on spontaneous hybridization rate with a weedy species : an assessment of transgene dispersal. *Theor Appl Genet* 1995 ; 91 : 956-63.
14. Frello S, Hansen KR, Jensen J, Jorgensen RB. Inheritance of rapeseed (*Brassica napus*)-specific RAPD markers and a transgene in the cross *B. juncea* x (*B. juncea* x *B. napus*). *Theor Appl Genet* 1995 ; 91 : 236-41.
15. Skogsmyr I. Gene dispersal from transgenic potatoes to conspecifics : a field trial. *Theor Appl Genet* 1994 ; 88 : 770-4.
16. Widmer F, Seidler RJ, Donegan KK, Reed GL. Quantification of transgenic plant marker gene persistence in the field. *Mol Ecol* 1997 ; 6 : 1-7.
17. BRIDGE. Safety assessment of the deliberate release of two model transgenic crop plants, oilseed rape and sugar beet. 1994 : Final report.
18. Lavigne C, Klein EK, Vallee P, Pierre J, Godelle B, Renard M. A pollen dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant into a field. *Theor Appl Genet* 1998 ; 96 : 886-96.
19. Lavigne C, Godelle B, Reboud X, Gouyon PH. A method to determine the mean pollen dispersal of individual plants growing within a large pollen source. *Theor Appl Genet* 1996 ; 93 : 1319-26.
20. Bing DJ, Downey RK, Rakow GFW. An evaluation of the potential of intergeneric gene transfer between *Brassica napus* and *Sinapis arvensis*. *Plant Breeding* 1995 ; 114 : 481-4.
21. Chevre AM, Eber F, Margale E, et al. Comparison of somatic and sexual *Brassica napus*-*Sinapis alba* hybrids and their progeny by cytogenetic studies and molecular characterization. *Genome* 1994 ; 37 : 367-74.
22. Eber F, Chevre AM, Baranger A, Vallee P, Tanguy X, Renard M. Spontaneous hybridization between a male-sterile oilseed rape and two weeds. *Theor Appl Genet* 1994 ; 88 : 362-8.
23. Jandurova OM, Dolezel J. Cytological study of interspecific hybrid between *Brassica campestris* x *B. hirta* (*Sinapis alba*). *Sex Plant Reprod* 1995 ; 8 : 37-43.
24. Jorgensen RB, Andersen B. Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (*Brassicaceae*) : a risk of

- growing genetically modified oilseed rape. *Am J Bot* 1994 ; 81 : 1620-6.
25. Langevin SA, Clay K, Grace JB. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed red rice (*Oryza sativa* L.). *Evolution* 1990 ; 44 : 1000-8.
26. Till-Bottraud I, Reboud X, Brabant P, et al. Outcrossing and hybridization in wild and cultivated foxtail millets : consequences for the release of transgenic crops. *Theor Appl Genet* 1992 ; 83 : 940-6.
27. Chadoeuf R, Darmency H, Maillet J, Renard M. Survival of buried seeds of interspecific hybrids between oilseed rape, hoary mustard and wild radish. *Field Crops Res* 1998 ; 58 : 197-204.
28. Adler LS, Wikler K, Wyndham FS, Linder CR, Schmitt J. Potential for persistence of genes escaped from canola : germination cues in crop, wild, and crop-wild hybrid *Brassica napus*. *Funct Ecol* 1993 ; 7 : 736-45.
29. Lefol E, Danielou V, Darmency H, Boucher F, Maillet J, Renard M. Gene dispersal from transgenic crops. 1. growth of interspecific hybrids between oilseed rape and the wild hoary mustard. *J Appl Ecol* 1995 ; 32 : 803-8.
30. Luby JJ, McNicol RJ. Gene flow from cultivated to wild raspberries in Scotland : developing a basis for risk assessment for testing and deployment of transgenic cultivars. *Theor Appl Genet* 1995 ; 90 : 1133-7.
31. Gliddon C. The impact of hybrids between genetically modified crop plants and their related species : biological models and theoretical perspectives. *Mol Ecol* 1994 ; 3 : 41-4.
32. Schlüter K, Fütterer J, Potrykus I. « Horizontal » gene transfer from transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs - if at all - at an extremely low frequency. *Biotechnol* 1995 ; 13 : 1094-8.
33. Paul EA, Clark FE. *Soil microbiology and biochemistry*. San Diego, Academic Press Inc, 1992 ; 275 p.
34. Chevre AM, Eber F, Baranger A, et al. Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oilseed rape-wild radish F1 interspecific hybrids : an assessment of transgene dispersal. *Theor Appl Genet* 1998 ; 97 : 90-8.
35. Riba G, Chauvaux J. Le maïs transgénique résistant à la pyrale favorise-t-il l'apparition de résistances chez les insectes ? In : *Organismes génétiquement modifiés à l'INRA. Environnement, agriculture et alimentation*. Dossiers INRA, 1998 : 71-3.
36. Crawley MJ, Brown SL. Seed limitation and the dynamics of feral oilseed rape on the M25 motorway. *P Roy Soc Lond B* 1995 ; 259 : 49-54.
37. Van Raamsdonk LWD, Schouten HJ. Gene flow and establishment of transgenes in natural plant populations. *Acta Bot Neerl* 1997 ; 46 : 69-84.
38. Reboud X. Les risques associés aux manipulations génétiques : le cas de la résistance aux herbicides. *Thèse de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon*, 1992 ; 58 p.
39. Lavigne C. *Les risques associés à la culture de plantes transgéniques résistantes aux herbicides*. Thèse de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, 1994 ; 115 p.
40. Andow DA. Community response to transgenic plant release : using mathematical theory to predict effects of transgenic plants. *Mol Ecol* 1994 ; 3 : 65-70.
41. Kareiva P, Morris W, Jacobi CM. Studying and managing the risk of cross-fertilization between transgenic crops and wild relatives. *Mol Ecol* 1994 ; 3 : 15-21.
42. Pelt JM. *Plantes et aliments transgéniques*. Paris : Fayard, 1998 ; 169 p.

Résumé **Plantes transgéniques : de l'estimation à la gestion des risques**

F.D. PESSEL, ET AL.

Le génie génétique, véritable révolution technologique de cette fin de siècle, divise largement l'opinion, en particulier lorsqu'il est question d'introduire des plantes transgéniques dans notre environnement. Dans un contexte social difficile et alors que le maïs transgénique Novartis résistant à la pyrale est aujourd'hui cultivé en France, un grand débat de société s'instaure autour des organismes génétiquement modifiés (voir la Conférence de Citoyens). Dans ce cadre, où les interactions entre citoyens, industriels et pouvoir politique demeurent complexes, la communauté scientifique est amenée à donner des avis sur un certain nombre de dossiers. Nous présentons ici les moyens actuels pour estimer les risques écologiques de la mise en culture de variétés transgéniques ainsi que les difficultés auxquelles nous restons confrontés. D'une estimation complexe à une gestion qui débute (mise en place du Comité de biovigilance, les risques sont au cœur de tous les débats, qui s'écartent bien souvent de réalités déjà loin d'être simples...

Summary **Transgenic crops: assessment to risk management**

F.D. PESSEL, ET AL.

The deliberate release of transgenic crops into our environment is widely debated in France today. For the first time, French public opinion was explored by politicians during the "Conférence de Citoyens" in June 1998. There are currently many conflicts concerning this complex subject and some very irrational positions are held by some members of the public. Within this context of complex interactions between citizens, industrialists and politicians, the scientific community has been asked to quantify the risks associated with the release of different transgenic crops. However, every transgene introduced in each crop species is unique and we consider that it is impossible to formulate a general opinion or establish general guidelines for all transgenic plants. There are many potential risks with respect to ecological impact assessments. Here we concentrated on three major risk components: (i) the probability of transgene transfer from a crop to the natural environment (via seeds, pollen flow or horizontal transfer); (ii) the success of this transgene in a natural uncultivated environment; and (iii) its effect on ecosystem stability and biodiversity (plants, animals, bacteria and virus communities). It seems therefore important to identify the biological processes and list the parameters that could influence these three components (Table) in order to assess the ecological risks. Then experiments must subsequently be carried out to quantify each relevant parameter. When the insertion of a transgene does not increase a plant's survival or fecundity in the natural envi-

ronment (e.g. herbicide tolerant oilseed rape does not differ from non-transgenic rapeseed in the absence of herbicide treatment [4]), experiments on non-transgenic material can be conducted and the results extrapolated to transgenic plants [34]. In all other cases (e.g. transgenic insecticidal rapeseed, which benefits from insecticides in natural populations [6]), experiments are necessary to investigate the ecological behaviour of new transgenic plants. However, French laws regarding the deliberate release of experimental transgenic crops limit the area and number of generations of transgenic plants cropped. Consequently, results are obtained on a local spatiotemporal scale and cannot be directly extrapolated to commercial-scale cropping. Mathematical models and computer simulations could therefore be useful tools for assessing risks on broad spatiotemporal scales. This means that scientific investigations of risk assessment are not usual, since observations of real situations are impossible and mathematical model simulations cannot be validated. Within this context, the accuracy of predictions depends largely on both the modelling assumptions and the accuracy of biological parameter estimates.

Concerning transgenic maize cropping (insect-resistant variety produced by Novartis), which represents the first commercial release in France, we now have an opportunity to set up observation and monitoring schemes for potential large-scale releases.

For all of the above-mentioned reasons and in view of variations between the many different crop/transgene combinations, appropriate scientific investigations will require more time and resources to adequately assess the ecological risks of transgenic crop release.

Cahiers Agricultures 1998 ; 7 : 541-6.

Risques liés à la commercialisation des plantes transgéniques ?

Éric Lainé, Robert Haïcour

La transgénèse végétale réalisée par l'homme est une technique récente. On peut faire remonter ses balbutiements à 1983 environ avec les premières utilisations d'*Agrobacterium tumefaciens*, tandis que ses premiers produits

étaient commercialisés en 1994, telle la tomate à maturation retardée aux États-Unis. Des milliers d'essais au champ de plantes transgéniques ont été autorisés : plus de 3 600, avec 48 espèces différentes rien qu'aux États-Unis [1]. Ils concernent pour la plupart des plantes de grande culture et sont réalisés par des compagnies privées, plus des trois quarts concernant les plantes suivantes : colza, tabac, tomate, pomme de terre, maïs, tournesol, soja, coton, luzerne, betterave sucrière, courgette et melon. Des plantes transgéniques portant simultanément deux caractères nouveaux apparaissent : il y aura bientôt des pommes de terre résistant à la fois à un insecte et à un virus. Aux États-Unis, la

part des surfaces dévolues à la culture de plantes transgéniques (12 millions d'hectares en 1997) devient significative : en 1998 elle représente 15 % des surfaces pour le maïs (contre 6 % en 1997) et jusqu'à 40 % pour le soja. Colza et coton transgéniques sont également très largement cultivés. Les gènes introduits jusqu'à présent ne sont guère variés, la plupart codant pour des résistances à des agents pathogènes, à des insectes ou à des herbicides. La maturation ou la sénescence retardée ou modifiée est également au point pour plusieurs espèces comme la tomate ou l'œillet. La gamme des promoteurs utilisés est encore plus réduite, la plupart des réalisations employant des promoteurs viraux constitutifs.

É. Lainé : Laboratoire de biotechnologies et physiologie végétales, UFR Sciences, Université de Picardie, 33, rue Saint-Leu, 80039 Amiens cedex, France.

R. Haïcour : Laboratoire de morphogénèse expérimentale végétale, bâtiment 360, Université Paris-XI, 91405 Orsay cedex, France.

Tirés à part : É. Lainé