République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel
Faculté des Sciences

Département de Biochimie et Microbiologie

BC.18/06

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme des études Supérieures en Biologie Moléculaire et cellulaire

Option : Biochimie

Sujet :

Les organismes génétiquement modifiés, une biotechnologie très prometteuse dont les applications sont multiples et à double tranchant

Présenté par :

NEDJAR Hayet
BOUKAKA Chafia

مكتبة الكلية

Membres de jury :

BEN GUEDOUAR Lamia, Présidente
HIRECHE Saliha, Examinatrice
Dr RECHRECHE Hocine, Encadreur

Année 2005/06

Remerciements

Nous tenons à remercier tout particuliérement, notre encadreur, Dr. RECHRECHE Hocine pour nous avoir confié un sujet si interressant, touchant le domaine de la Biologie moléculaire. Nous lui sommes extrêmement reconnaissant pour l'aide, les encouragements et les conseils qui nous sans cesse prodigués. Qu'il trouve, ici, l'expression de notre profond respect et notre sincère gratitude.

Nous tenons à remercier vivement tous les membres du jury ainsi que l'ensemble de nos enseignants du département de Biochimie et Microbiologie.

Nos remerciements s'adressent également à tous les amis qui ont contribué de prés ou de loin pour réaliser ce travail et créer une ambiance d'étude.

Enfin, nos remerciements vont aux membres de nos familles respectives pour leurs patiance et encouragements indéfectibles de au long de nos parcours estudiantins.

HAYET et CHAFIA

Sommaire

Chapitre I :

Introduction.....1

Chapitre II : Organismes génétiquement modifiés « OGMs »

II-1. Obtention des plantes GM..... 6

II-1.1.Transformation par Agrobactériume.....7

II-1.2.Transformation directe de gènes..... 8

II-1.2.1.Transformation de protoplastes.....8

II-1.2.2. Transformation directe de cellules, de tissus, ou d'organes.....9

II-2. Obtention des animaux GM..... 11

II-2.1. Addition de gènes..... 11

II-2.2. Remplacement de gènes..... 12

II-2.2.1. Utilisation de cellules totipotentes (animaux chimères)..... 13

II-2.2.2. Utilisation de cellules multipotentes ou somatiques (animaux clonés).....14

Chapitre III : Applications des OGMs

III-1. Applications des VGM.....15

III-1.1. Agriculture.....15

III-1.1.1. Résistance aux insectes et aux virus, tolérance aux herbicides..... 15

III-1.1.2. Tolérance aux stress environnement.....15

III-1.2. Alimentation.....16

III-1.2.1. Aliments plus nutritifs..... 16

III-1.2.2. Aliments fonctionnels..... 17

III-1.2.3. Aliments hypoallergènes..... 17

III-1.3. Moléculture végétale.....17

III-1.4. Environnement.....18

III-1.5. Horticulture et autre applications..... 18

III-1.6. Solutions futuristes..... 19

III-1.6.1. Des arbres pour les pâtes et papier.....19

III-1.6.2. Des fruits et légumes à durée prolongée.....19

III-1.6.3. Des plantes comme carburant.....19

III-2. Applications des animaux GM.....20

III-2.1.Recherche fondamentale.....20

III-2.2. Elevage d'animaux GM.....21

III-2.2.1. Elevage du poisson GM.....21
III-2.2.2. Élevage du bétail et volaille GM.....22
III-2.3. Alimentation..... 24
III-2.4. Moléculture animale.....25
III-2.4.1. Production de l α-antitrypsine dans le lait de brebis.....25
III-2.4.2. Production de protéines dans le liquide séminal.....25
III-2.5. Environnement.....26
III-3. Applications des microorganismes GM.....26
III-3.1. Alimentation.....26
III-3.2.Médecine.....27
III-3.3.Technologie de la chimie verte et la bioremédiation.....29
Chapitre IV : Diffusion et risques des OGMs
IV-1. Diffusion des OGMs dans le monde..... 30
IV-2. Risques des OGMs.....32
IV-2.1. Risques sanitaires 32
IV-2.1.1. Développement de résistance aux antibiotiques..... 32
IV-2.1.2. Diminution de la valeur nutritive de certains aliments.....33
IV-2.1.3. Risques liés à la consommation de produits dérivés d'animaux nourris aux OGMs..... 34
IV-2.1.4.Toxicité et allergies liées à la présence du gène inséré..... .34
IV-2.2. Risques environnementaux..... 35
IV-2.2.1. Toxicité pour les insectes.....35
IV-2.2.2. Insectes résistants.....36
IV-2.2.3. Dispersion de gènes.....36
IV-2.2.4. Mauvaises herbes tolérantes.....37
IV-2.2.5. Risques environnementaux potentiels associés aux poissons GM.....38
IV-2.3. Risques liés à l'appropriation du vivant.....38
Chapitre V: Réglementation et détection des OGMs
V-1. Réglementation.....40
V-1.1. Historique.....40
V-1.2. Cadre juridique et techniques de l'évaluation.....43
V-1.3. OGMs importés ou cultivés.....43
V-1.4. Etiquetage et la traçabilité des OGMs.....44
V-2. Détection des OGMs.....45
V-2.1. Détection de produit de la modification.....45

V-2.1.1. Tests immunologiques.....45
V-2.1.2. Tests phénotypiques.....46
V-2.2. Détection la modification au niveau de l'ADN.....46
V-2.2.1. Tests qualitatifs.....46
V-2.2.2. Tests quantitatifs.....47
Chapitre VI : Conclusion et perspectives.....49

de

Liste des abréviations

OGM : Organismes génétiquement modifiés

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNc : ADN complementaire

ARN : Acide ribonucléique

PEG : Polyéthylène glycol

CES : Cellules embryonnaires souches

PGC : Cellules primordiales germinales

CEG : Cellules embryonnaires germinales

Bt : Bacillus thuringiensis

VGM : Végétaux vivants génétiquement modifiés

MGM : Micro-organismes vivants génétiquement modifiés

AGM : Aliments génétiquement modifiés

CE : Communauté européenne

PCR : Polymerase Chain Reaction

UE : Union européenne

FAO : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

R&D : Recherche et développement

Liste des figures

Figure 1. Structure moléculaire de l'ADN.
Figure 2. Isolement des gènes d'intérêt.
Figure 3. Construction des cassettes.
Figure 4. Multiplication des cassettes.
Figure 5. Intégration des gènes d'intérêt dans le génome de la plante.
Figure 6. Sélection des plantes transgéniques.
Figure 7. Le plasmide pTi.
Figure 8. Transfèrt d'ADN-T dans le génome d'une plante par Agrobacterium.
Figure 9. Infection d'une plante par Agrobacterium et développement d'une galle.
Figure 10. Remplacement d'ADN-T par un gène d'intérêt dans le plasmide pTi. Figure 11. Etapes de construction d'une plante transgénique en utilisant Agrobacterium tumefaciens.
Figure 12. Micro-injection de gènes dans les embryons.
Figure 13. Etapes de construction d'un animal transgénique (souris) grâce à la microinjection de gènes.
Figure 14. Micro-injection de milliers de copies du transgenre dans le pronucléus mâle d'un ovocyte de lapin.
Figure 15. Injection de cellules ES de souris modifiées dans la cavité d'un blastocyste de souris.
Figure 16. Maïs résistant à la pyrale.
Figure 17. Animaux transgéniques produisant des protéines dans leur lait.
Figure 18.Transfert de gène chez *E. Coli*.
Figure 19. Production de plantes GM par pays (soja, mais, coton).
Figure 20.Types de cultures transgéniques en 2004.
Figure 21. Importance des principales cultures GM dans le monde en 2005.
Figure 22. Caractéristiques des superficies (en million d'hectares) ensemencées en OGMs dans le monde en 2005.
Figure 23. Evolution des surfaces de cultures OGMs dans le monde entre 1996 et 2005.
Figure 24. Production d'OGMs dans le monde.

Liste des tableaux

Tableau 1. Exemples d'espèces transformées par biolistique.

Tableau 2. Quelques plantes cultivées transformées agronomiquement intéressantes.

Tableau 3. Applications en oenologie et en brasserie.

Tableau 4. Cultures d'OGMs en 2005.

Tableau 5. Surfaces plantées d'OGMs dans l'ensemble du monde, en millions d'hectares et en pourcentages des surfaces cultivées.

Tableau 6. Études sur l'effet de l'alimentation contenant des OGMs sur les animaux et le lait de vache.

Chapitre I :

Introduction

L'amélioration des plantes a été amorçée depuis des centaines de milliers d'années, par une domestication inconsciente d'abord, jardinage, échanges et codification de l'agronomie en suite. Dés le début de l'humanité, l'homme maîtrisait les techniques de sélection classique. Ainsi, il croisait les individus mâles et femelles d'une espèce végétale ou animal donnée et sélectionnait dans la descendance les individus ayant les caractères recherchés. Aussi, les conditions climatiques ont aidés à la sélection des premières souches sauvages de blé qui possédaient des tiges très fragiles. Les cultures étaient facilement détruites par les intempéries et seul demeuraient les plantes à tiges les plus résistantes porteuses de grains que l'agriculteur pouvait replanter réalisant ainsi la sélection naturelle d'un nouveau type de céréales. Ceci est l'un des premiers exemples de sélection de caractère génétique favorable. En agroalimentaire primitif, les égyptiens et sumériens connaissaient les techniques de fermentation permettant de fabriquer du fromage, de la bière et du vin.

Dans l'absolu, il existait une continuité entre la pratique de sélection empirique par nos ancêtres et celle développée aujourd'hui par les laboratoires les plus performants, à ceci prés que les outils modernes ont modifié la donne. Le terme génétique fut inventé, en 1906, par le biologiste britannique William Bateson. C'est en effet au début du siècle que naquit cette science, avec des chercheurs tels que Hugo De Vires, Coréens et Bateson, qui redécouvrirent indépendamment, en 1900, les travaux du botaniste autrichien Gregor Mendel. Ce dernier décrivait les modalités de transmission de sept paires de caractères distincts sur des petits pois. Il avait constaté que ces caractères étaient transmis par les parents comme des unités séparées et que chacune d'elles était transmise, ces unités furent plus tard appelées gènes.

Peu après la redécouverte des travaux de Mendel, W. S. Sauton et R. Boveri firent le rapprochement entre les modes de transmission héréditaire et le déplacement des chromosomes au cours de la division cellulaire. Ils supposèrent donc que les entités de l'hérédité mendélienne, ou gènes, étaient portées par les chromosomes. Cette hypothèse déclencha des études intensives sur la division cellulaire et la transmission des caractères.

On savait que les chromosomes sont constitués de deux espèces chimiques, des protéines et des acides nucléiques. Les protéines furent tout d'abord considérées comme les substances fondamentales déterminant l'hérédité, mais, en 1944, le bactériologiste canadien Oswald Theodore Avery a démontré que le support matériel de

l'hérédité est en fait l'acide désoxyribonucléique (ADN). Pour cela, il isola l'ADN d'une souche de bactéries et l'introduisait dans une autre qui, non seulement, a acquit les caractéristiques de la première souche, mais les transmettait aux générations suivantes.

A cette époque, on savait également que l'ADN est constitué d'unités appelées nucléotides et chaque nucléotide contient un phosphate, un sucre appelé désoxyribose et l'une des quatre bases azotées suivantes : adénine (A), thymine (T), guanine (G) et cytosine (C). En 1953, les généticiens James Watson et Francis Crick déterminèrent la structure spatiale, en double hélice, de l'ADN (fig. 1). Cette découverte a permis enfin de comprendre comment l'ADN et l'information génétique sont répliqués lors des divisions cellulaires. En effet, l'ADN est composé de deux longs brins formant une double hélice, semblable à une longue échelle en spirale. Pour créer une réplique identique de la molécule d'ADN, les deux brins se déroulent, puis se séparent au niveau des liaisons hydrogènes qui relient les bases en vis-à-vis (les barreaux de l'échelle). Par l'action d'enzymes spécifiques, les bases contenues dans le cytoplasme de la cellule s'associent alors aux bases libres des deux brins pour former deux nouvelles hélices d'ADN. Un chromosome étant une longue molécule d'ADN double brin, la production de deux doubles hélices identiques conduit à la formation de deux chromosomes identiques. Cette découverte marqua l'une des mutations les plus spectaculaires de la Biologie, l'hérédité étant désormais considérée au niveau de ses mécanismes les plus fins, marquant ainsi la naissance de la génétique moléculaire, et, de façon plus générale, celle de la biologie moléculaire [1].

Dans la seconde moitie du XX^{ème} siècle la Biologie a connu deux révolutions, la Biochimie des protéines suivie de la Biologie Moléculaire des gènes; aux répercussions majeures, aussi bien sur la recherche fondamentale qu'appliquée. Le développement de la Biochimie des protéines a permis la purification de nombreuses protéines et l'obtention de leurs structures tridimensionnelles par cristalographie ainsi que leurs séquences en acides aminés. L'étude de mutations, notamment faux-sens a permis de définir une relation causale exhaustive entre chaque mutation, son effet moléculaire et ses conséquences cellulaires, tissulaires et cliniques dans de très nombreuses pathologies.

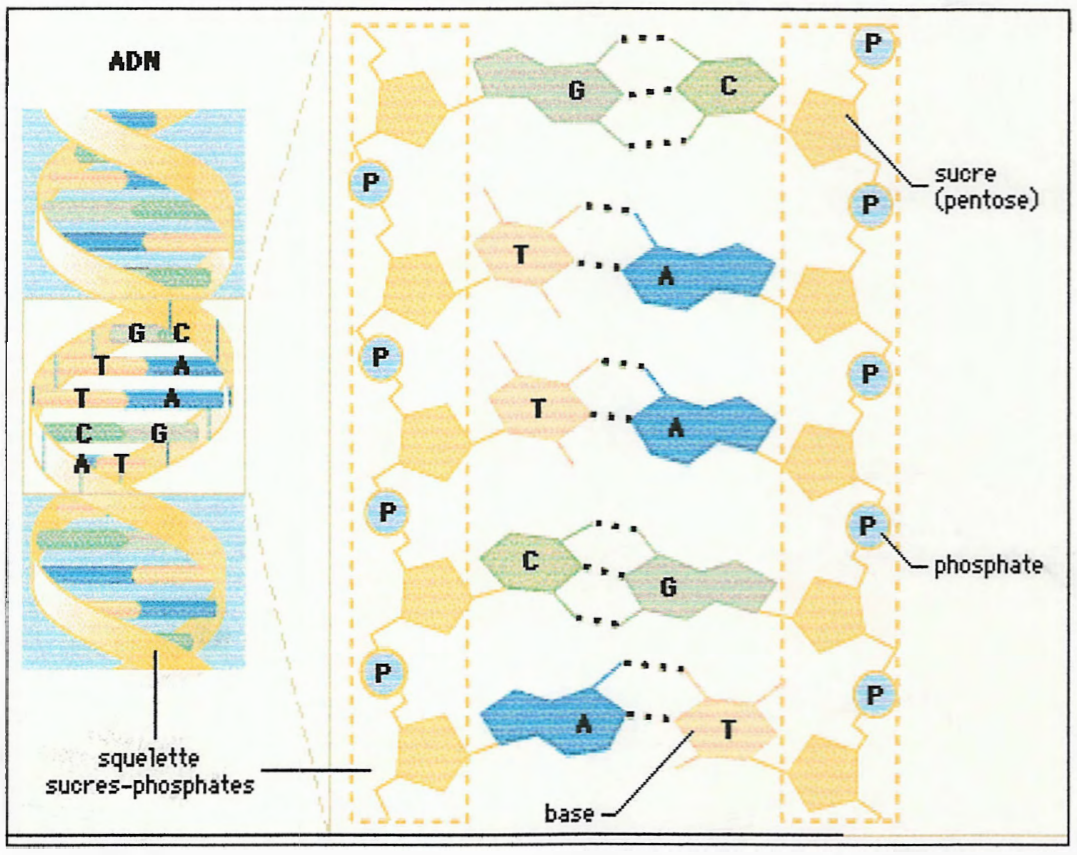

Fig 1. Structure moléculaire de l'ADN

La Biologie Moléculaire des gènes a eu des conséquences beaucoup plus importantes, car elle a donné un accès direct aux gènes qui pilotent les phénomènes biologiques alors qu'auparavant on n'avait accès au mieux qu'à leurs produits, ou simplement aux perturbations phénotypiques des phénomènes résultants des mutations. Au début des années 1970, la découverte des enzymes de restriction qui sont capables de reconnaître des séquences précises au niveau de l'ADN et de couper la molécule. Ainsi, des techniques ont été mises au point, elles permettaient de transférer n'importe quel fragment d'ADN d'un organisme dans un autre, c'est le début du Génie Génétique.

Il est donc possible, d'isoler des gènes, de connaître parfaitement leurs séquences, de couper l'ADN de manière extrêmement précise pour générer des fragments qui peuvent alors être insérés dans un vecteur 'ADN capable de s'autorépliquer' pour produire la protéine désirée. La Génétique est devenue moléculaire, elle fait partie intégrante de l'ensemble de la plupart des disciplines de la Biologie telles quel la Physiologie, l'Embryologie, la Cancérologie et l'Ecologie. Les phénomènes biologiques sont associés avec l'expression de gènes spécifiques, qu'il est désormais possible de localiser, d'identifier, de cloner et de modifier par mutagenèse dirigée, et dont les effets peuvent être étudiés dans un contexte choisi, *in vitro* ou *in vivo* [2].

A présent, les Biotechnologies se développent à grand pas et la littérature biologique s'est enrichie d'une quantité de termes nouveaux tels que manipulation génétique, nouveaux aliments et organismes génétiquement modifiés. En effet, les progrès de la biologie moléculaire au cours des années 1970 et 1980 ont débouché sur des méthodes plus directes d'analyse des séquences géniques et ont permis d'identifier les marqueurs génétiques des caractères recherchés. Ces méthodes de sélection au moyen de marqueurs génétiques sont à la base d'un certain nombre de stratégies classiques de sélection actuellement en usage. Si les méthodes modernes d'amélioration génétique ont permis d'accroître sensiblement le rendement des cultures au cours des cinquante dernières années, leurs possibilités de développement futur sont entravées par le fait que la diversité naturelle des génotypes responsables des traits recherchés est limitée à l'intérieur d'une même espèce végétale, ainsi que par la compatibilité sexuelle des divers types de plantes cultivées. Pour tourner ces difficultés, un certain nombre de groupes appartenant aux milieux concernés étudient depuis les

années 1980 la possibilité de recourir à d'autres moyens pour augmenter les rendements, mettre en place des systèmes agricoles durables et améliorer la santé humaine et animale tout en préservant l'environnement. Ils consistent notamment à utiliser des méthodes plus modernes pour conférer de nouveaux caractères aux plantes cultivées tels que la tolérance à la sécheresse ou à la salinité ou encore la résistance aux ravageurs. Pour atteindre ces objectifs, divers programmes de recherche publics et, plus récemment, privés s'efforcent de parvenir à une meilleure compréhension des liens qui existent entre le rendement d'une culture et les facteurs génétiques au niveau moléculaire. La mise au point des techniques de recombinaison de l'ADN et leur utilisation au cours des années 1980 a fourni aux chercheurs un outil qui leur permet de s'affranchir de l'incompatibilité des espèces. La biotechnologie moderne utilise des techniques moléculaires pour identifier, sélectionner et modifier une séquence de l'ADN codant pour un caractère ou trait génétique déterminé provenant d'un organisme donneur (micro-organisme, plante ou animal) et la transférer ensuite dans l'organisme receveur de manière à ce qu'il exprime ce trait. Permettant ainsi la mise au point d'organismes génétiquement modifiés porteurs de caractères qui se sont affranchis de la barrière des espèces. La modification génétique est souvent plus rapide que les techniques traditionnelles d'amélioration génétique, car il faut beaucoup moins de générations pour que le trait recherché s'exprime de façon stable. Elle permet également de modifier l'organisme receveur de façon plus précise que les méthodes classiques, car elle permet de sélectionner et de transférer le gène voulu et lui seul [3].Cependant, Les crises successives vécues récemment dans le domaine de l'alimentation : vache folle, amiante, sang contaminé... ont eu pour effet d'ébranler la confiance de la population. Ne sachant plus qui croire ni où obtenir de l'information, les consommateurs, soucieux d'une bonne santé et d'une saine alimentation, expriment leur méfiance envers la nouveauté et surtout face à l'inconnu. Il n'est donc pas étonnant de constater que les organismes génétiquement modifiés (OGM) sont devenus un objet de préoccupations pour un grand nombre et soulèvent des interrogations au sein de notre société. Sans avoir eu le temps d'y être vraiment préparés, les consommateurs doivent désormais faire face à l'inconnu. Le contenu de leur assiette est devenu l'une de leurs principales préoccupations. Les aliments consommés au quotidien contiennent-ils vraiment des OGM? Qu'est-ce qu'un OGM ? Quelles sont leurs répercussions sur notre vie? Les risques sont-ils réels, ou bien le génie génétique, comme toute révolution technologique, suscite-t-il des peurs parfois irraisonnée ?

Biotechnologie

Nous ne prétendons pas en ces quelques pages de ce rapport répondre à toutes les questions que pose cette technique. Notre intention se limite à établir un constat, et à tenter d'apporter le plus objectivement possible, des éléments de réponse. Notre travail est organisé en six chapitres qui s'intitulent successivement : introduction, production des OGMs, leurs applications, leurs risques et leur distribution dans le monde, réglementation et leur détection et enfin une conclusion et perspectives.

Chapitre II :

Organismes génétiquement modifiés 'OGMs'

production des OGMs
Obtention des OGMs

Un OGM est un organisme dont le matériel génétique a été obtenu autrement que par multiplication et /ou par recombinaison naturelle. Il est donc un produit du génie génétique qui a permis d'intégrer dans son patrimoine génétique un ou plusieurs gènes pouvant modifier, supprimer ou introduire certains caractères. Les gènes introduits (transgènes), notamment du fait de l'universalité du code génétique, peuvent provenir de n'importe quel organisme : virus, levure, champignon, plante ou animal [2]. Un OGM est produit par transgénèse qui consiste à enlever, à déplacer ou à modifier un gène existant ou, encore à insérer un gène nouveau associé aux caractéristiques recherchées. Dans ce dernier cas, il est même possible de franchir la barrière des règnes. La transgénèse peut être appliquée aux microorganismes, aux végétaux et aux animaux [4].

II-1. Obtention des plantes GM

Les éléments génétiques utilisés pour la transgénèse, appelés cassettes, sont constitués d'un promoteur, d'un gène d'intérêt (fig. 2) et d'un terminateur. Ils sont prélevés à partir d'être vivant complètement différent, ainsi, le promoteur le plus utilisé provient du virus de la mosaïque du choufleur (CAMV 35S), le gène codant pour l'insecticide provient d'une bactérie mortelle pour certains insectes, tandis que le terminateur le plus employé est issu d'une autre Bactérie du sol (terminateur NOS). En fait, un transgène comporte non pas une, mais deux cassettes, car il faut pouvoir distinguer rapidement et facilement les plantes Modifiés. Le criblage est réalisé grâce à l'ajout d'un gène dit "de sélection" qui compose la deuxième cassette du transgène et qui rend les plantes transformées résistantes à un antibiotique ou à un herbicide (fig. 3). En effet, il est important de savoir si la transgénèse a fonctionné ou pas et de pouvoir déterminer l'endroit exact de l'insertion du transgène dans le génome. Une fois le transgène préparé, celui-ci est intégré dans une entité génétique autonome comme un plasmide qui a la capacité de s'autorépliquer en même temps que la division bactérienne, en multipliant ainsi le transgène intégré. Avant l'intégration de ce dernier, le plasmide est préalablement coupé par une enzyme de restriction appropriée (fig. 4). En suite, plusieurs méthodes permettent de l'intégrer dans le génome des plantes peuvent être employées (fig. 5). Après sélection des cellules transformées, les plantes sont régénérées, caractérisées et évaluées d'un point de vue valeur agronomique pour ensuite constituer, le plus souvent une lignée mère utilisée dans les croisements avec une variété élite (fig. 6) [5].

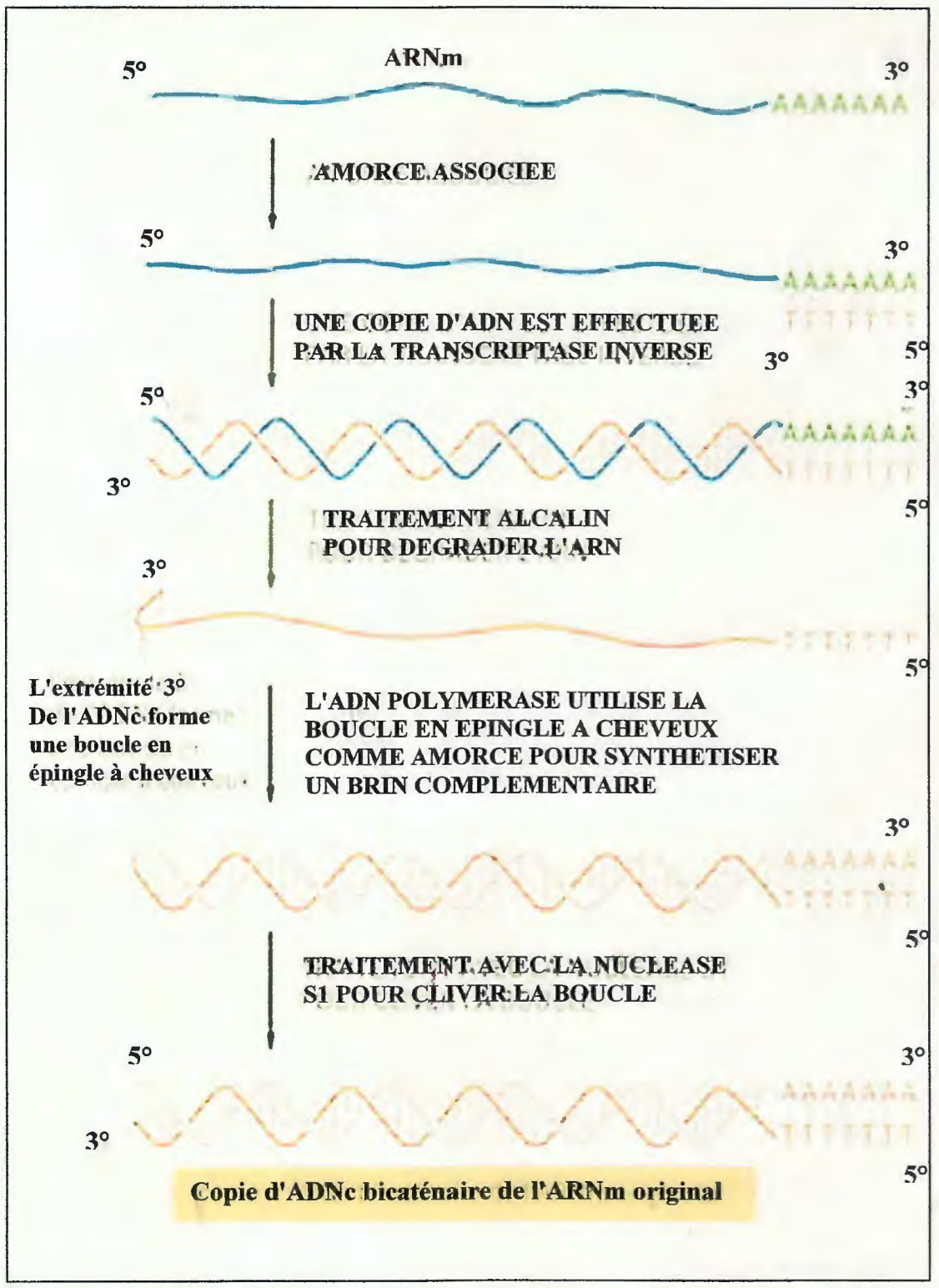

Fig 2. Isolement des gènes d'intérêt

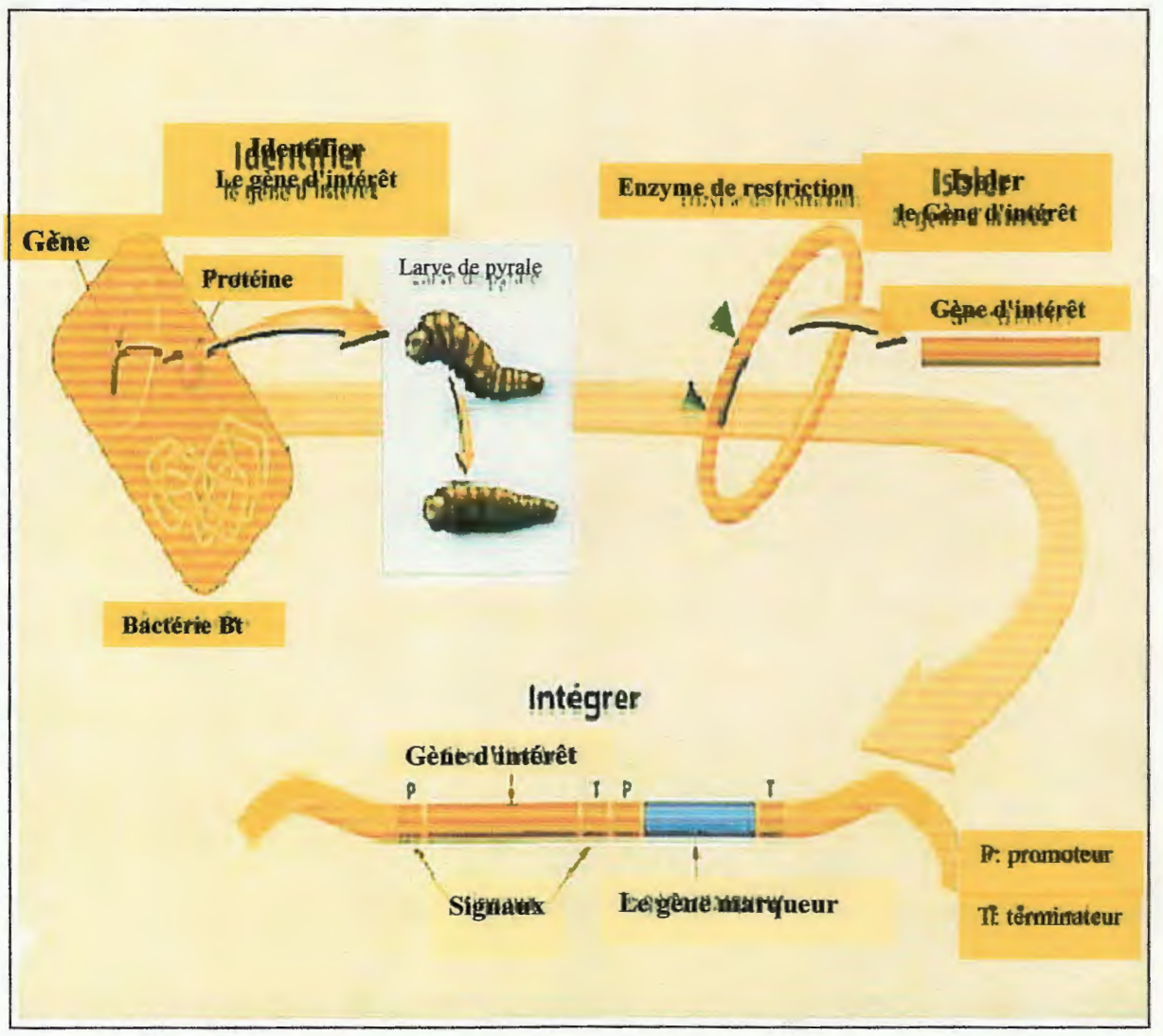

Fig 3. Construction des cassettes

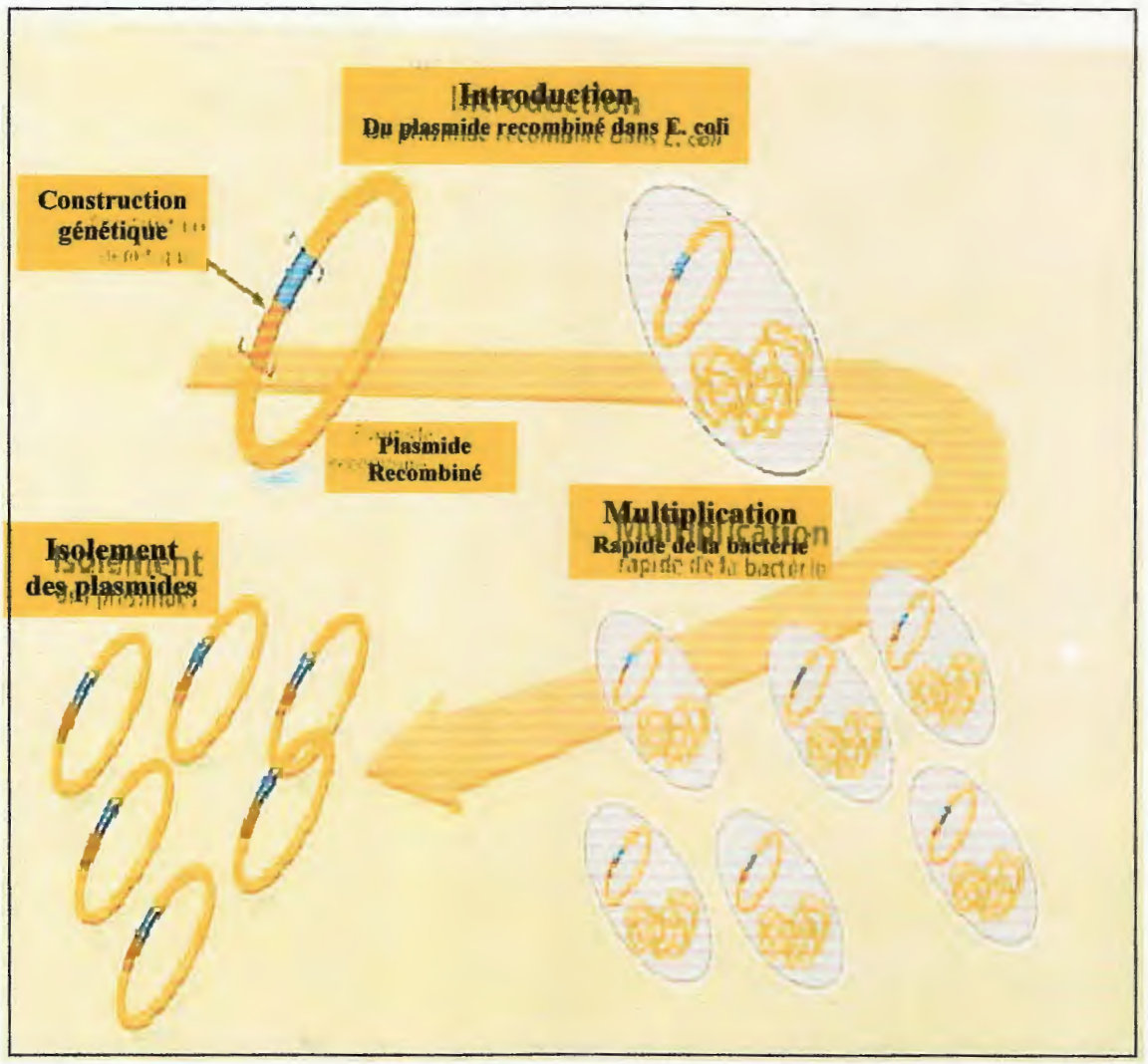

Fig 4. Multiplication des cassettes

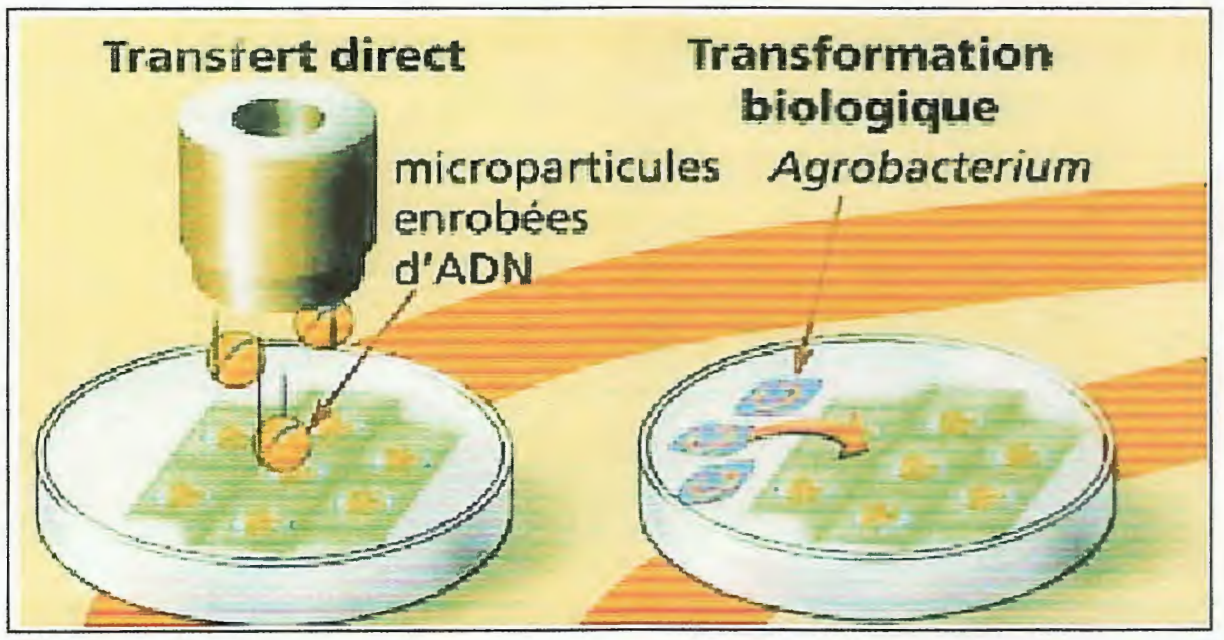

Fig 5. Intégration des gènes d'intérêt dans le génome de la plante

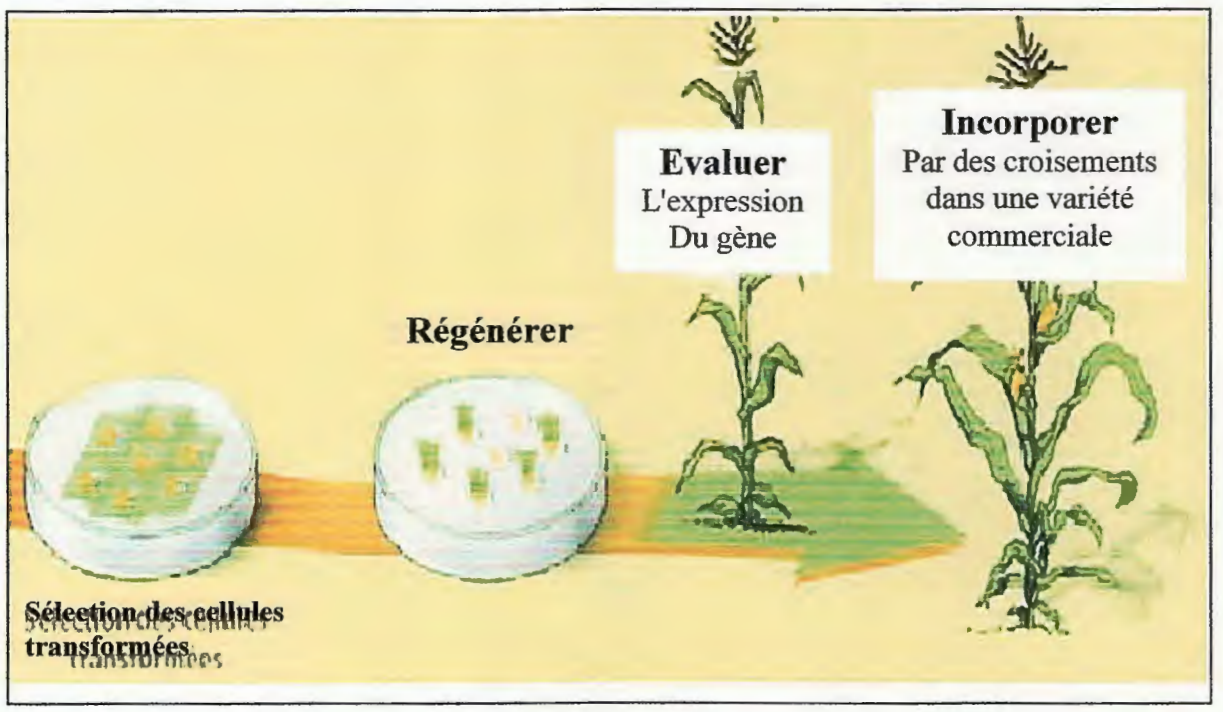

Fig 6. Sélection des plantes transgéniques

Contrairement aux cellules animales, les cellules végétales sont entourées d'une paroi pectocellulosique qui s'oppose au passage des macromolécules comme l'ADN, ce qui rend le transfert plus difficile. Par contre, elles présentent, dans de nombreuses espèces, le caractère particulier de totipotence. Il est ainsi possible, pour un nombre croissant d'espèces végétales, par culture sur des milieux nutritifs et application de traitement hormonaux appropriés, d'obtenir la différenciation des cellules d'un organe (feuille, tige, racine par exemple) et d'orienter leur multiplication vers la régénération en plante entiére. Dés lors si, grâce aux techniques de transfert de gènes on parvient à intégrer une information génétique dans une cellule, on pourra par reformation d'une plante entiére à partir d'elle obtenir un individu dont toutes les cellules, dérivant de celle modifiées à l'origine, possèdent et expriment cette information.

Actuellement la transformation des cellules végétales est réalisable par deux familles de techniques, l'une consiste à utiliser les propriétés des bactéries du sol, du genre Agrobacterium, l'autre fait intervenir des méthodes physiques ou chimiques plus ou moins sophistiquées qui permettent de forcer la pénétration de l'ADN dans les cellules [6].

II-1.1.Transformation par Agrobacterium

Ces bactéries du sol transfèrent naturellement une partie de leur ADN dans les cellules de certaines plantes et provoque ainsi la prolifération de cellules (apparition de galles ou de chevelu racinaire) ; on remplace dans ces bactéries les gènes responsables de la maladie par les gènes que l'on veut transférer. Il existe plusieurs souches d'agrobactéries dont les deux plus connues sont : *Agrobacterium tumefaciens* qui héberge le plasmide T_i (pour tumor inducing), responsable de la galle du collet (fig. 7, 8, 9, 10), et *Agrobacterium rhizogenes* qui provoque un développement pathologique de formation racinaire, dites hairy root sur les tissus qu'il infecte [7]. L'idée de réaliser des infections par A tumefaciens *in situ* et de rechercher directement dans la descendance des plantes ainsi infectées les individus transformés a été couronnée de succès pour la première fois chez *Arabidopsis thaliana* [8] (fig. 11).

On peut alors utiliser la voie de transfert d'information héréditaire très naturelle qu'est le tube pollinique. Ce dernier, en effet, porte jusqu'aux noyaux de sac embryonnaire les deux spermatozoïdes du grain de pollen ; il est également transporteur d'organites cytoplasmiques. Divers auteurs ont utilisés avec succès cette voie pour transporter

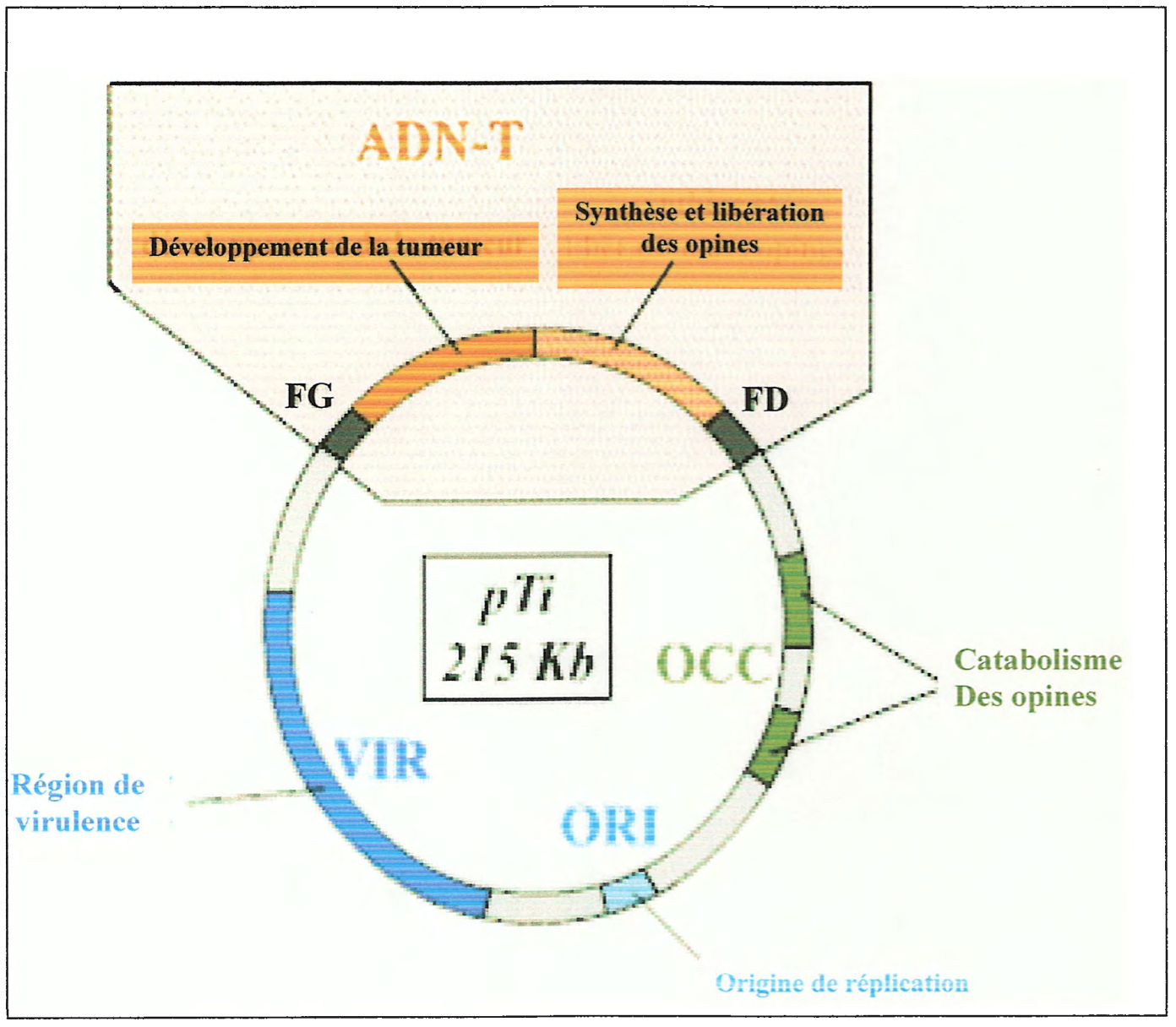

Fig 7. Le plasmide pTi

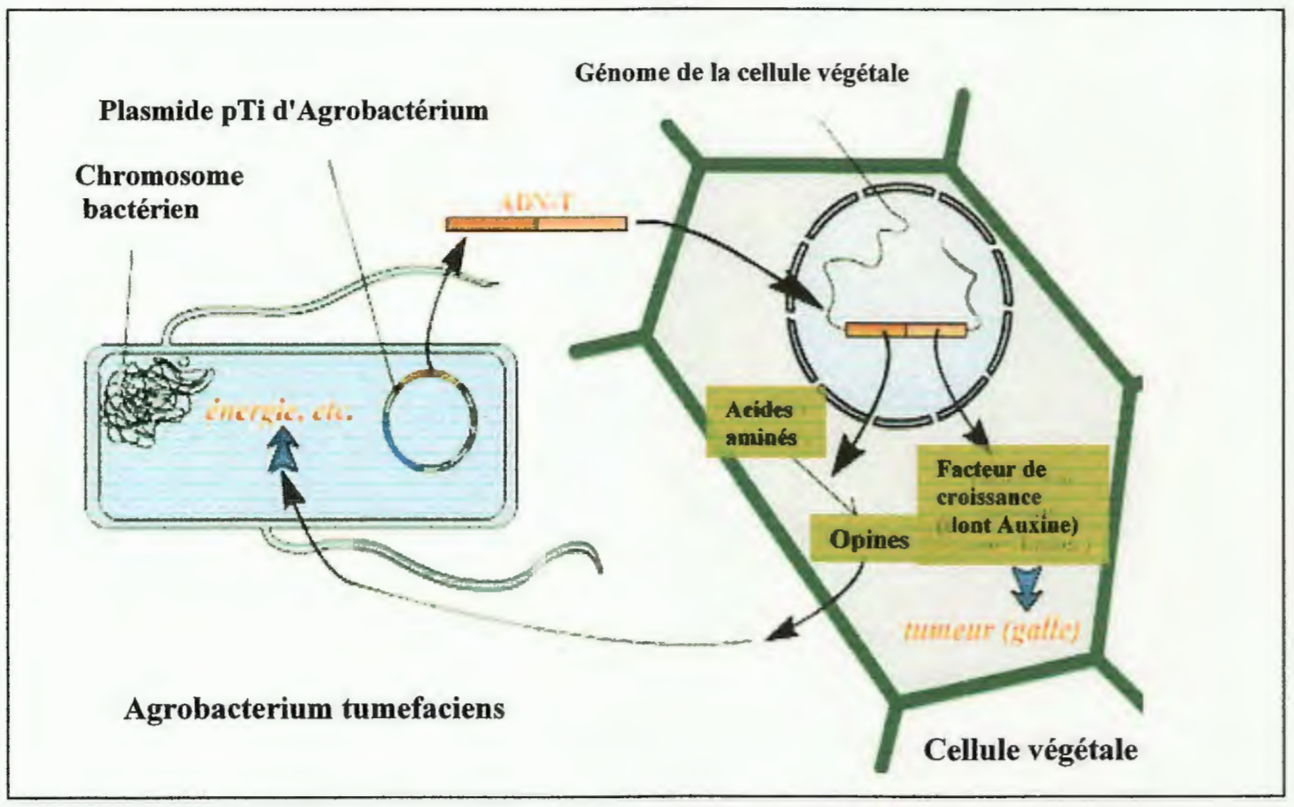

Fig 8. Transfert de l'ADN-T dans le génome d'une plante par Agrobacterium

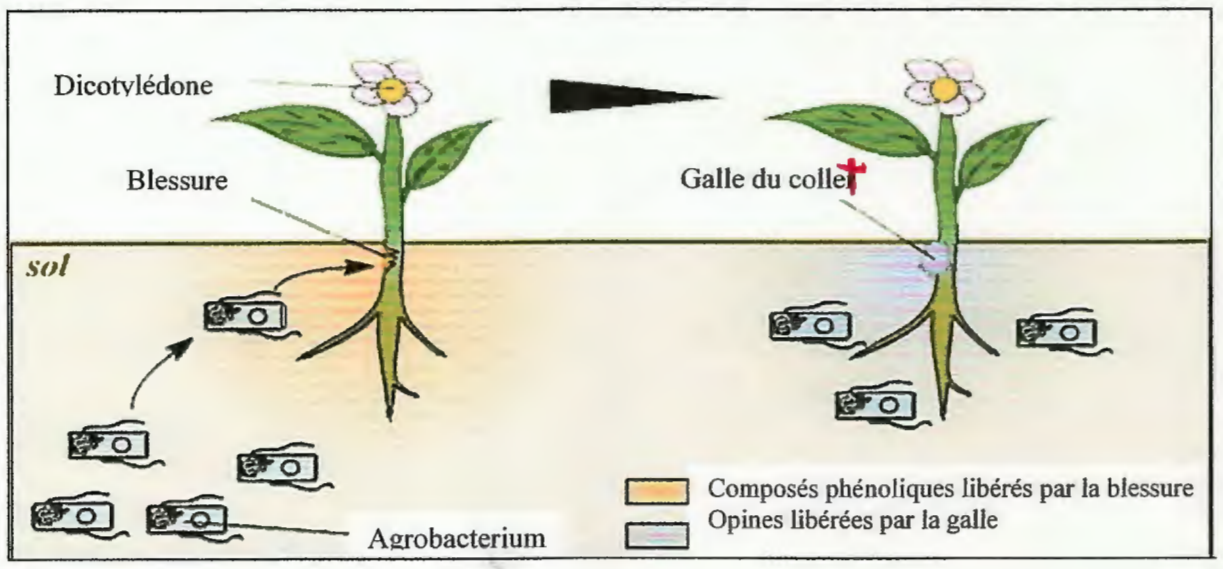

Fig. 9. Infection d'une plante par Agrobacterium et développement d'une galle

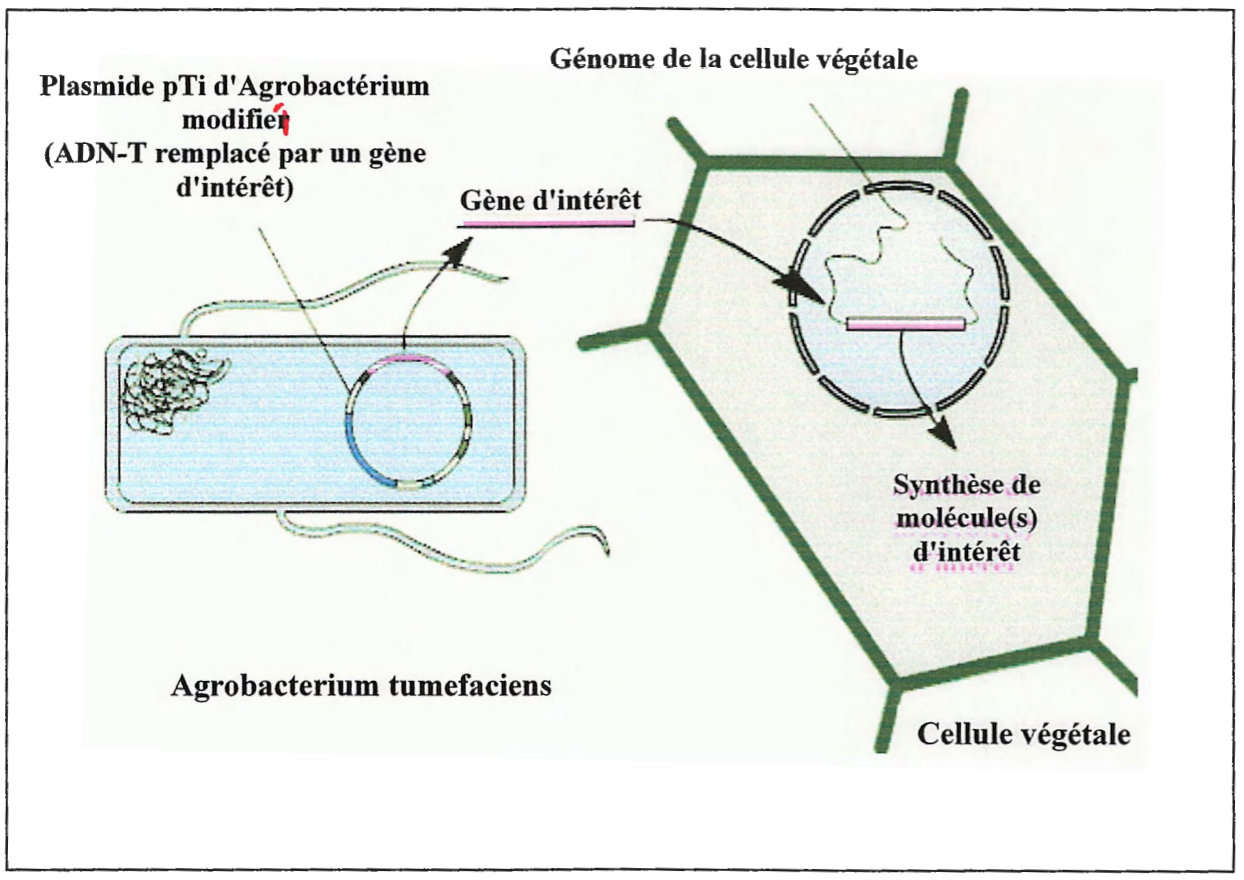

Fig 10. Remplacement d'ADN-T par un gène d'intérêt dans le plasmide pTi

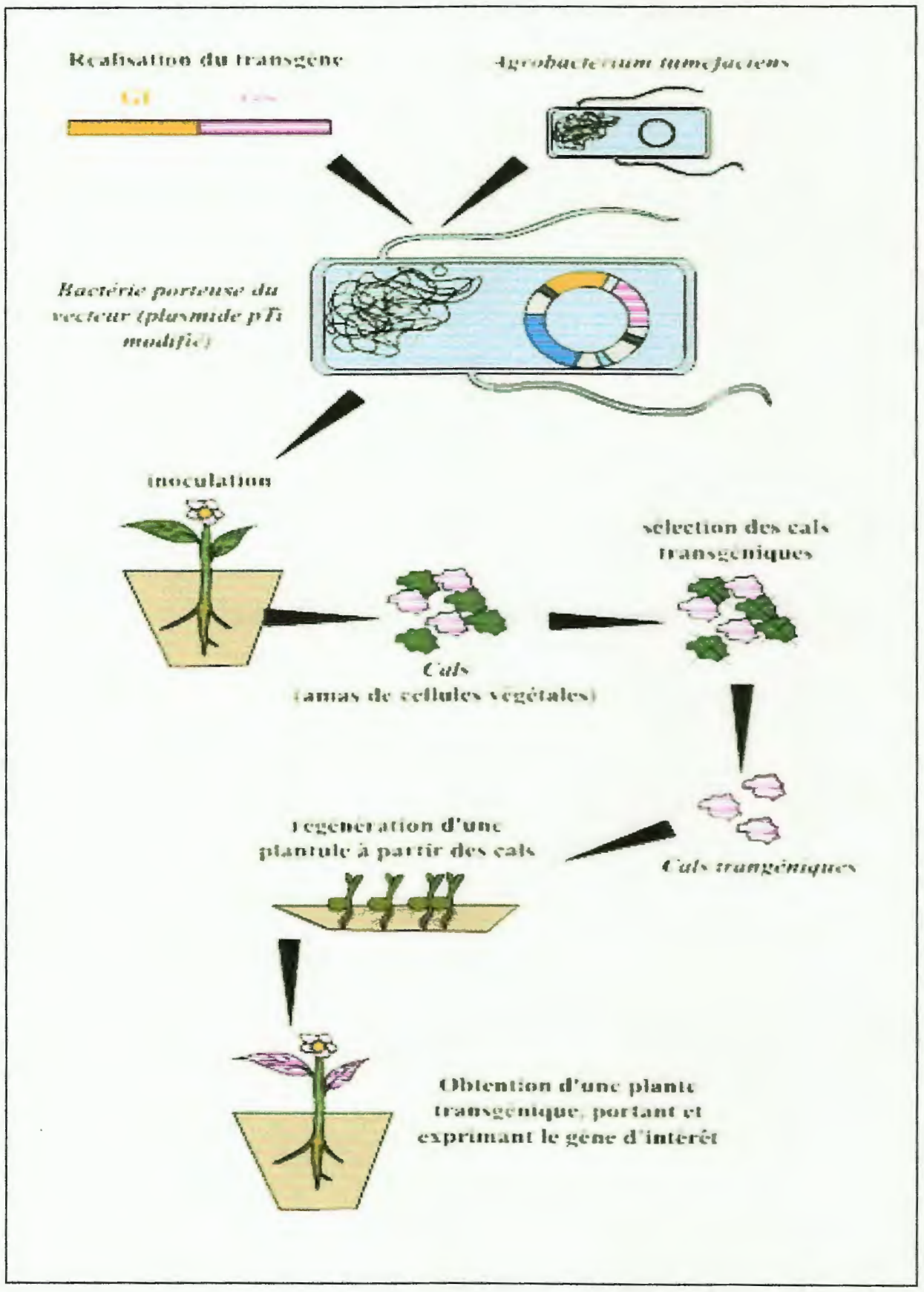

Fig 11. Etapes de construction d'une plante transgénique en utilisant *Agrobacterium tumefaciens*

physiquement soit de l'ADN nu, soit des plasmides Ti recombinés jusqu'au noyau de l'oosphère qui donnera alors un embryon transgénique

Les expériences portant sur l'ADN globale d'un donneur, bien qu'apportant indiscutablement des transformations, sont d'interprétation difficile. En revanche, les expériences portant sur le transfert de plasmide recombiné, via la pénétration du tube pollinique, sont très récentes mais apportent incontestablement une voie nouvelle. Certaines importantes familles de végétaux, comme les monocotylédones, sont plus ou moins résistantes au crown-galle, il est donc important d'ouvrir d'autres technologies pour ces espèces [9].

II-1.2. Transformation directe de gènes

Si la démonstration de l'aptitude d'Agrobacterium à transférer un fragment de son ADN à une plante a constitué une étape majeure dans le développement des biotechnologies végétales, il s'est avéré que cette méthode n'était pas universelle. En effet, malgré les nombreux avantages d'*Agrobacterium,* deux limites importantes sont apparues. Tout d'abord, toutes les familles de plantes ne sont pas également sensibles aux agrobactéries, en particulier les monocotylédones, parmi lesquelles on compte nombre de plantes d'intérêt agronomique, sont extrêmement récalcitrantes à l'infection par Agrobacterium, encore que ce verrou ait été récemment levé sur le riz notamment [10] et le mais [11]. De plus, chez les dicotylédones, des spécificités hôte-bactérie assez strictes restreignent le champ d'application de ces techniques. Enfin, l'obligation de passer par la culture de tissus et la régénération de plantes *in vitro* représentent une contrainte importante dans les groupes d'espèces où ces méthodes sont difficiles à maîtriser comme les légumineuses à grosses grains par exemple.

Pour toutes ces raisons, des stratégies alternatives dites de transfert direct ont été développées dés l'année 1985. Ces techniques consistent à forcer l'entrée massive d'ADN dans la cellule végétale, suite à cet événement les cellules intègrent dans leur génome des fragments de cet ADN étranger.

II-1.2.1. Transformation de protoplastes

Un protoplaste végétal est une cellule végétale dont on a artificiellement retiré l'essentiel de sa paroi. Ce retrait peut être mécanique ou enzymatique et la cellule végétale se trouve dans une situation assez proche de la cellule animale, séparée du

milieu extérieur par sa membrane plasmique intacte et recouverte d'un feutrage polysaccharidique qui la reliait à la paroi disparue. Il est possible d'effectuer un cycle de culture complet, c'est-à-dire d'obtenir la régénération de plantes entières fertiles à partir de ces protoplastes cultivés *in vitro*. Les techniques de transformation préalablement mises au point sur les cellules animales ont pu être appliquées avec succès à ces protoplastes. On a tout d'abord utilisé le polyéthylène glycol (PEG), une molécule non toxique capable de déstabiliser la membrane cytoplasmique ce qui permet le transfert de l'ADN. Les molécules d'ADN peuvent alors migrer jusqu'au noyau, où certaines d'entre elles, avec une efficacité plus ou moins grande, sont susceptibles de s'intégrer dans les chromosomes. Si cette information génétique est correctement exprimée elle confère au protoplaste un caractère sélectionnable (résistance à un antibiotique ou un herbicide), il est alors possible, après mise en culture sur un milieu sélectif des protoplastes traités, de régénérer des plantes transformées exprimant ce nouveau caractère. Les gènes transférés, doivent contenir les éléments de régulation permettant une expression dans les cellules eucaryotes végétales.

Une autre technique de transformation de protoplastes a été mise au point par une fusion entre les protoplastes et des liposomes grâce à la similitude de leur nature membranaire, en présence de PEG. Enfin, une technique simple et plus efficace a été mise au point récemment, c'est l'élctroporation de protoplasmes. Elle consiste à soumettre un mélange de protoplastes et d'ADN à une série de chocs électriques de courte durée et de tension élevée. Le champ électrique provoque la déstabilisation de la membrane plasmique par polarisation des phospholipides et induit alors la formation de pores au travers des quels les molécules d'ADN peuvent transiter.

Malgré, leur efficacité, les techniques de protoplastes demeurent assez délicates à mettre en œuvre et sont encore inapplicables aux nombreuses espèces végétales. C'est néanmoins grâce à l'utilisation de ces techniques que des céréales de grande culture, tel que le riz ou le maïs ont été transformées pour la première fois [6].

II-1.2.2. Transformation directe de cellules, de tissus ou d'organes

Il s'agit, dans ces différent cas, de forcer la pénétration de l'ADN à travers la paroi pectocellulosique des cellules végétales. La seule technique qui permet de réaliser un tel phénomène de façon reproductible est la biolistique [6]. Cette dernière

est une méthode physique qui a été initialement développée par des chercheurs de l'Université de Cornell, en utilisant des microbilles enrobées d'ADN [12]. L'efficacité de ce transfert a été mise en évidence pour la première fois dans des cellules d'oignon (Allium cepa) par analyse de l'expression transitoire d'un gène rapporteur ainsi transféré [13].

Le principe de la technique est d'enrober des billes de métal avec l'ADN puis de projeter ces billes sur l'explant avec suffisamment d'énergie. La petite taille des billes (0,4 à 1,6 mm) assure l'absence de dommages irréversibles à la cellule. Les processus d'intégration dans le génome sont probablement analogues à ce qui est observé lors de la transformation de protoplastes mais restent encore mal élucidés. Seule l'utilisation d'un canon à particules permet d'obtenir un tel résultat. Différents types de canons ont été mis au point, qui varient essentiellement par le mode de propulsion des particules : cartouche de poudre, détente de gaz et vaporisation de gouttelette d'eau. De nombreuses équipes ont rapidement adoptés cette technique qui présente des avantages certains par rapport à la transformation par *Agrobacterium* ou par transfert direct dans des protoplastes. Il y a une grande gamme de choix des tissus cibles qui constitue un atout majeur de cette méthode (tableau 1). Grâce au bombardement, des difficultés majeures comme la sensibilité aux *Agrobactéries* et à la maitrise de régénération ont été contournés.

En pratique, certains paramètres identifiés pourraient être importants pour l'efficacité du transfert. Par exemple, la masse des particules doit être élevée pour une pénétration efficace et sans dommage et cela a conduit à l'utilisation de métaux comme l'or, le tungstène et l'iridium. De même, la forme régulière ou non, et la taille des billes ainsi que le protocole de précipitation de l'ADN sur les billes, avec ou sans spermidine, plus ou moins concentré sont à prendre en compte mais il y a assez peu d'études exhaustives dans ce domaine. On soulignera également l'importance de l'état physiologique de l'explant. Enfin, le type de canon peut éventuellement jouer sur la profondeur des assises cellulaires touchées, et par là influer sur le taux de succès de l'expérience [15].

Cette technique est relativement simple à mettre en œuvre et présente plusieurs avantages par rapport à celles faisant appel aux protoplastes. Il n'est plus besoin de maitriser l'obtention et la culture de protoplastes, car il est possible de travailler

Tableau 1. Exemples d'espèces transformées par biolistique [14].

Plantes	Tissus cibles
Soja	Méristèmes
Arachide	Méristèmes
Haricot	Méristèmes
Mais	Suspensions cellulaires Suspensions cellulaires Embryons immatures
Riz	Embryons immatures
Blé	Embryons immatures et cals embryogènes Embryons immatures
Orge	Embryons immatures et cals embryogènes
avoine	Cals embryogènes
Canne à sucre	Cals embryogènes
coton	Méristèmes
airelle	Fragments de tiges
peuplier	Suspension cellulaire Embryogenènes
Epicea	Cals embryogènes
tournesol	Méristèmes apicaux
Tabac	Feuilles, suspensions cellulaires
papaye	Embryons, hypocotyles

directement sur des cellules ou des tissus en culture. La méthode a fait ses prouves comme l'atteste le succès d'expériences réalisées sur de nombreuses espèces tels que le soja, le coton, le riz, le mais ou plus récemment le blé [6].

II-2. Obtention des animaux GM

En 1982, des chercheurs américains ont réussi, pour la première fois, d'obtenir des souris transgéniques exprimant le gène codant pour l'hormone de croissance de rat [16]. Il y a différents types de transgénèses chez les animaux :

II-2.1. Addition de gènes

Les spermatozoïdes mis au contact d'une solution d'ADN, puis utilisés pour réaliser des fécondations peuvent véhiculer les gènes au future embryon et permettre l'obtention d'animaux transgéniques. Cette approche s'est avérée possible chez le poulet, le poisson zèbre ainsi que chez la vache et le porc. Toutefois, les taux d'animaux transgéniques obtenus étaient faibles, voire très faibles, et la majorité des transgènes étaient profondément remaniés [17], à l'exception des spermatozoïdes de mouton qui avaient un rendement relativement élevé et sans remaniement apparent des transgènes. Par ailleurs, Il a été récemment montré que des cellules précurseurs des spermatozoïdes, isolées à partir de testicules de souris et même de rat, pouvaient achever leur maturation dans des testicules adoptifs de souris jusqu'à devenir parfaitement fonctionnels [18]. Il est par conséquent, possible de procéder avec succès à des fécondations *in vitro,* en injectant les cellules précurseurs des spermatozoïdes, les spermatocytes dans le cytoplasme d'ovocytes. Il est parfaitement concevable de transférer des gènes, y compris par recombinaison homologue, pendant la culture des cellules précurseurs des spermatozoïdes. Ceci nécessite toutefois la maîtrise de culture cellulaire, ce qui n'est pas le cas actuellement.

La technique de transfert de gènes la plus utilisée est la microinjection directe du gène étranger dans les pronoyaux des embryons au stade de la cellule unique (mammifères) ou dans le cytoplasme (vertébrés inférieurs et les invertébrés). La microinjection directe de gènes reste peu efficace et donc très onéreuse chez les gros animaux. Actuellement, il est possible de produire *in vitro*, à un coût réduit, des embryons au stade de la cellule unique, à partir d'ovocytes isolés d'ovaires (vache, mouton et chèvre), collectés dans les abattoirs [19]. Les embryons peuvent alors subir

la microinjection de gènes, puis être cultivés *in vitro* jusqu'au stade du blastocyste, pour être ensuite transférés dans des femelles adoptives (fig. 12, 13,14). La maîtrise de ces techniques contribue à améliorer la reproduction des animaux et à rendre plus aisée la transgénèse. Des travaux récents autorisent à penser que l'ensemble de ces techniques peuvent maintenant être également appliquées au porc.

Les vecteurs viraux qui sont en cours de mise au point pour la thérapie génique appliquée à l'espèce humaine sont susceptibles de transférer des gènes dans les embryons. En effet, les rétrovirus ont cette propriété, mais leur utilisation relativement délicate ne paraît justifiée que pour les oiseaux chez lesquels la microinjection est généralement très difficile à mettre en œuvre [20] Néanmoins, des mises au point récentes indiquent que la microinjection d'ADN dans les embryons précoces de poulet suivie d'un développement ex vivo, permettent d'obtenir un rendement très acceptable d'animaux transgéniques.

Les vecteurs adénoviraux sont connus pour infecter efficacement la plupart des cellules, même au repos. Cependant, ces génomes viraux sont normalement maintenus à l'état autonome dans leurs cellules hôtes. Un travail récent vient de montrer que des embryons de souris débarrassés de leur zone pellucide sont infectables par les adénovirus qui s'intègrent ensuite avec une fréquence relativement élevée de l'ordre de 20 % [21]. L'utilisation des adénovirus est dores et déjà maîtrisée chez les animaux domestiques ce qui ouvre des perspectives intéressantes [22].

II-2.2. Remplacement de gènes

Lorsqu'un fragment d'ADN est introduit dans une cellule, il peut se recombiner très précisément avec un gène de l'hôte à condition que de longs segments du gène étranger et du gène ciblé aient une séquence identique. Ce processus de recombinaison homologue qui conduit en pratique au remplacement d'un gène cellulaire par un gène étranger est un phénomène rare dans les cellules de mammifères (0,1 % maximum). Il fait appel à un processus naturel de réparation de l'ADN et il ne peut se produire que si l'ADN cellulaire se réplique et donc seulement dans des cellules en division. Par ailleurs, le remplacement de gène par un gène étranger au niveau d'un animal entier n'est possible que si les cellules qui ont subi le processus de recombinaison homologue peuvent être utilisées pour engendrer un organisme entier et donc donner naissance à un animal dans des conditions normales.

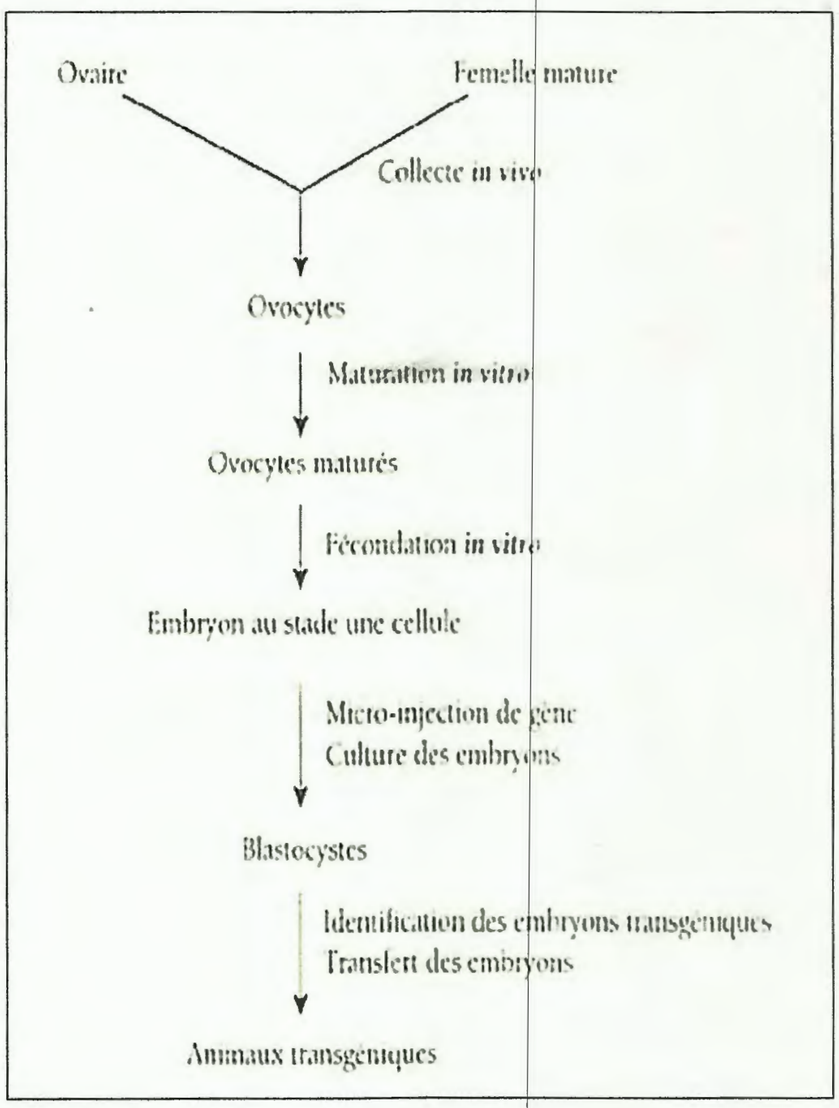

Fig12. Micro-injection de gènes dans les embryons

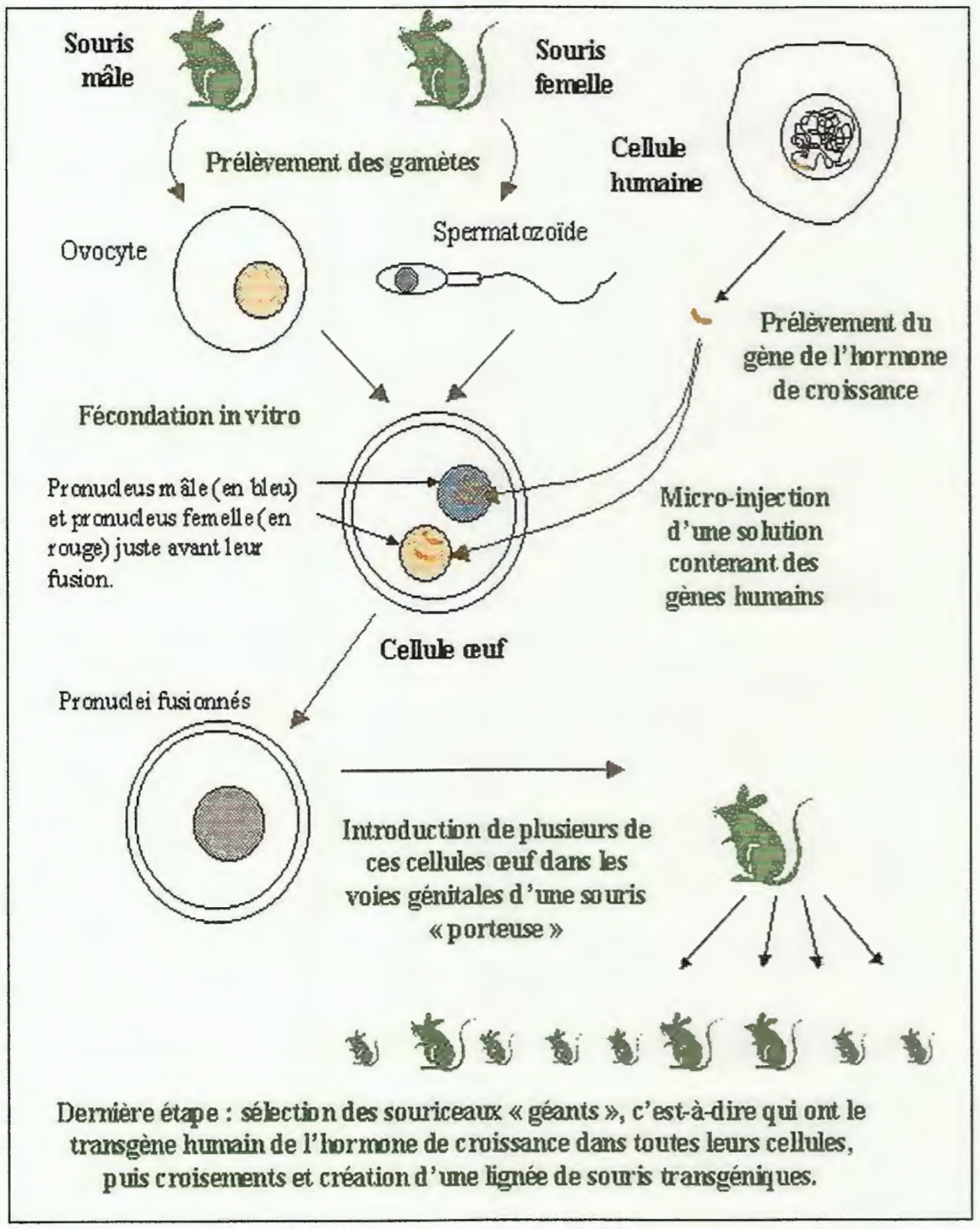

Fig 13. Étapes de construction d'un animal transgénique (souris), grâce à la microinjection de gènes

Deux approches pour procéder à un remplacement de gène sont actuellement employées [22].

II-2.2.1. Utilisation de cellules totipotentes (animaux chimères)

L'une de ces approches consiste à utiliser des cellules totipotentes qui, après avoir été introduites dans un embryon précoce, peuvent participer à son développement complet. L'animal obtenu est alors une chimère puisqu'il est formé à partir des cellules provenant de deux animaux différents. Dans le meilleur des cas, les cellules ajoutées à l'embryon et ayant subi au préalable la modification génétique, participent à la formation des gamètes. La modification génétique est alors transmise à la descendance qui est homogène pour la mutation. Des lignées de cellules totipotentes peuvent être obtenues à partir des embryons précoces, on les appelle alors des cellules ES (embryonnaires souches). D'autres lignées ayant des caractéristiques à peu près semblables peuvent être obtenues à partir des cellules primordiales germinales (PGC) ou cellules EG (embryonnaires germinales).

Chez la souris, plusieurs lignées de cellules ES ont été établies et jusqu'à ce jour l'utilisation de cellules ES, et donc le remplacement d'un gène, n'est possible que chez la souris (fig.15). En effet, pour des raisons inconnues chez les autres espèces, les cellules embryonnaires cultivées se différencient rapidement et deviennent incapables de participer à la formation de chimères germinales. Chez les oiseaux, il a été possible d'obtenir des chimères porteuses de gènes étrangers à partir de cellules embryonnaires [23]. Des expériences récentes montrent également que des lignées de cellules totipotentes fonctionnelles ont pu être utilisées avec succès chez le poulet [24].

Plusieurs publications ont montré que les cellules EG pouvaient être cultivées sous forme de lignées et participer au développement d'animaux chimères [25]. La manipulation de ces cellules n'est pas aisée et elle se pratiquait essentiellement chez la souris. Toutefois, des cellules ES ainsi que des cellules EG ont été obtenues récemment chez le porc et ont permis la naissance d'animaux chimères. La transmission germinale du nouveau génome ainsi acquis n'a pas été démontrée à ce jour.

II-2.2.2. Utilisation de cellules multipotentes ou somatiques (animaux clonés)

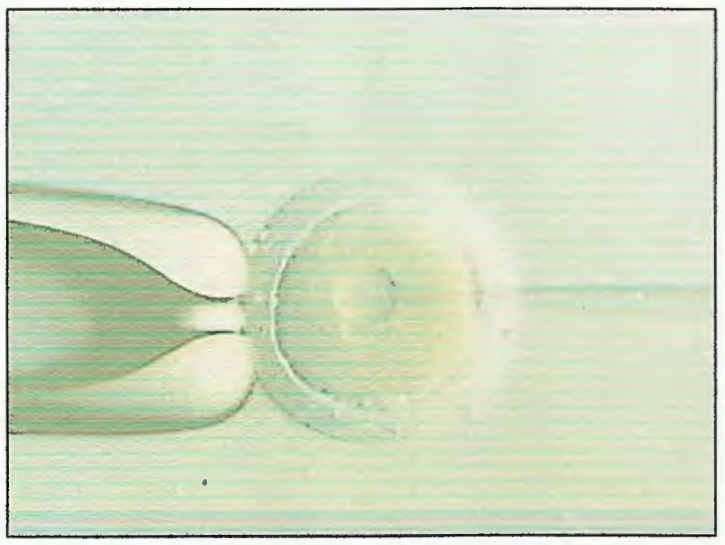

Fig 14. Microinjection de milliers de copies du transgéne dans le pronucléus mâle d'un ovocyte de lapin

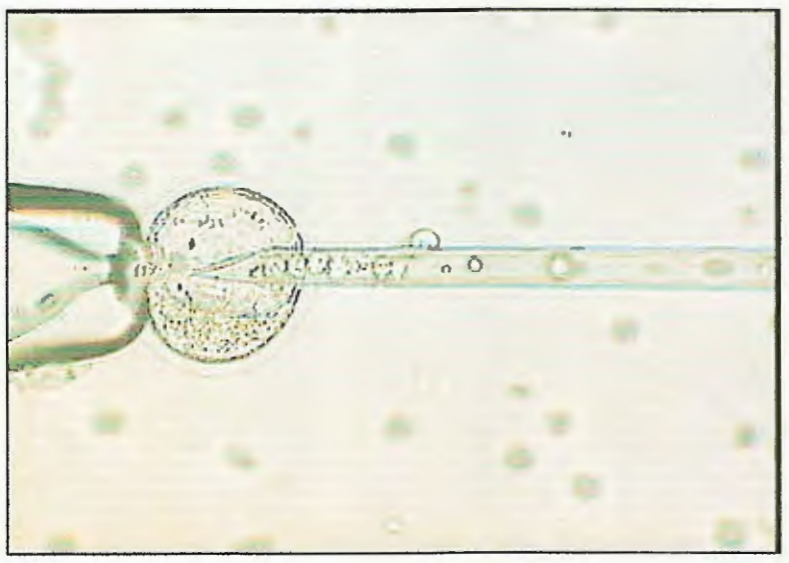

Fig 15. Injection de cellules ES de souris modifiées dans la cavité d'un blastocyste de souris

Chez la plupart des espèces, les cellules embryonnaires cultivées pendant plusieurs semaines perdaient leur totipotence. Elles sont partiellement différenciées et qualifiées de multipotentes, elles sont devenues progressivement incapables de participer au développement d'embryons chimères.

Le clonage des animaux dans sa version classique consiste à introduire un noyau de cellule embryonnaire non cultivée dans le cytoplasme d'un ovocyte énucléé. Il est généralement admis que les cellules embryonnaires cultivées et devenues multipotentes et, a fortiori, les cellules somatiques différenciées ne peuvent assurer le développement complet d'un embryon reconstitué par transfert de noyau. Une étude systématique a démontré que des cellules multipotentes de mouton maintenues à l'état de quiescence en retirant le sérum de leur milieu de culture sont capables de donner naissance à des agneaux après transfert dans le cytoplasme d'ovocytes énuclées [26]. La même approche expérimentale a également démontré que des cellules fœtales ainsi que des cellules somatiques prélevées chez des animaux adultes peuvent donner naissance à des agneaux. Le laboratoire d'Edimbourg qui a mis au point ces techniques a récemment démontré que des fibroblastes fœtaux de moutons ayant reçu *in vitro* un gène étranger par les techniques classiques de transfection peuvent donner ainsi naissance à des agneaux transgéniques. Le rendement de la technique de clonage utilisée est relativement faible. Toutefois, il apparaît d'ores et déjà que l'addition de gènes est plus facile par ce procédé que par la technique classique de microinjection dans les pronuclei des embryons. Cet ensemble de techniques doit pouvoir être étendu rapidement aux autres ruminants domestiques ainsi qu'au lapin et au porc. Le remplacement de gènes par recombinaison homologue peut avoir lieu dans n'importe quel type de cellules cultivées. Le transfert du noyau de ces cellules doit donc permettre de remplacer des gènes très spécifiquement chez toutes les espèces dans lesquelles le clonage à partir de cellules somatiques est possible [22].

Chapitre III :

Applications des OGMs

III-1. Applications des VGMs

III-1.1. Agriculture

Les biotechnologies de l'ADN recombinant permettent d'exprimer des gènes de façon contrôlée. En effet, les plantes qui ont fait l'objet de manipulation génétique sont infiniment mieux contrôlées que celles issus de croisements et de sélections. On peut donc raisonnablement envisager un développement de la démarche biotechnologique en recherche agronomique avec le triple objectif d'une agriculture plus productive, moins coûteuse et plus respectueuse de l'environnement.

III-1.1.1. Tolérance aux herbicides, résistance aux insectes et aux virus

Certains types de plantes GM, comme le maïs, le soja ou le canola, ont été génétiquement modifiées afin de les rendre tolérantes aux herbicides et/ou résistantes aux insectes (fig.16) ou aux virus [27]. Ces caractéristiques ont été développées en vue, notamment, de réduire les coûts de la production agricole. Bien que certaines applications soient déjà commercialisées, ces types de modifications génétiques des plantes font encore l'objet de nombreux travaux de recherche, particulièrement dans le développement de résistances aux maladies virales. Ces infections virales sont très problématiques pour les cultures, car, il existe présentement peu de produits qui éliminent les virus. Le développement de plantes GM résistantes aux virus est considéré comme une solution de remplacement à l'utilisation de produits toxiques contre les virus (viricides).

Actuellement il existe dans différentes régions du monde des essais de plein champ sur la résistance aux virus des cultures suivantes : patate douce (virus spumeux de la tache de la patate douce); maïs (virus de la striure du maïs) et manioc (virus de la mosaïque du manioc africain). Ces cultures pourraient être commercialisées d'ici 3 à 5 ans. Les travaux sur le blé résistant au virus de la jaunisse nanisante de l'orge ont peu progressé en raison de la complexité de son génome et les recherches en laboratoire se poursuivent [28] (tableau2).

III-1.1.2. Tolérance aux stress environnement

Le développement de plantes GM tolérantes aux différents stress environnementaux, tel que le gel, pourrait avoir des impacts économiques dans certaines régions nordiques [29].En effet, l'un des facteurs limitant de la production

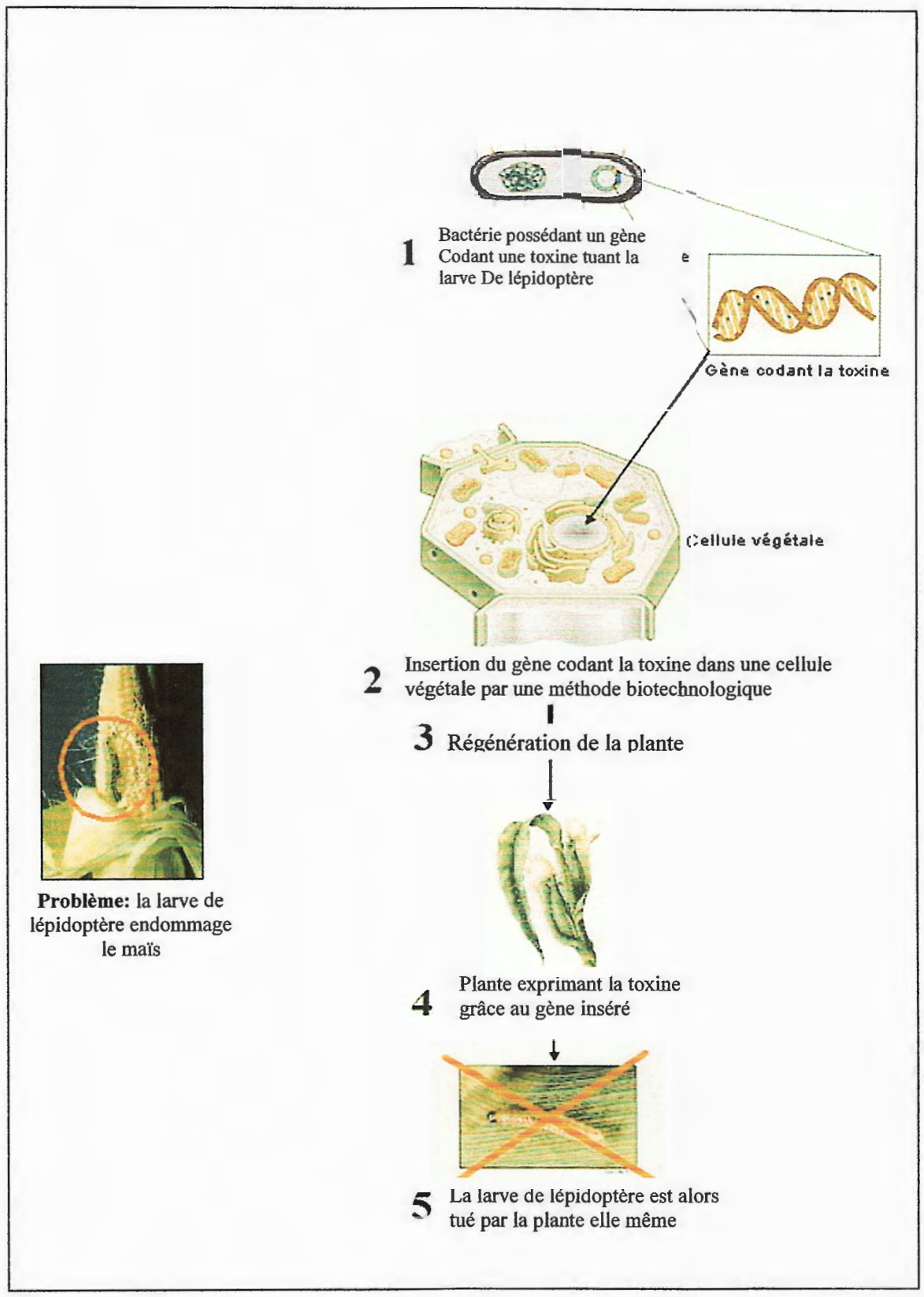

Fig 16. Maïs résistant à la pyrale

Tableau 2. Exemples de plantes cultivées et transformées agronomiquement intéressantes [6].

Types de cultures	Espèces transformées	Caractères introduits
céréales	Riz	Résistance aux virus
	Mais	Résistance aux insectes, aux herbicides et aux virus ; stérilité mâle nucléaire : modification de la composition en acides aminés (lysine et tryptophane)
	blé	Résistance aux insecticides
fibres	coton	Résistance aux insectes et aux herbicides
Protéo-oléagineux	Colza	Résistance aux herbicides ; modification de la composition en acides aminés (méthionine, lysine) ; stérilité mâle nucléaire ; production d'enképhaline
	Tournesol	Modification de la composition en acide aminés (méthionine, cystéine) ; résistance aux herbicides
	soja	Résistance aux herbicides ; modification de la composition en acides aminés (méthionine, cystéine)
Autres cultures	Betterave	Résistance aux herbicides et aux virus
	Pomme de terre	Résistance aux insectes, aux virus et aux herbicides ; Augmentation de la teneur en amidon ; production de Sérumalbumine humain
potagères	tomate	Résistance aux insectes et aux virus ; maturation retardée

Suite du tableau 2

potagères	Laitue Concombre Melon	Résistance aux virus Résistances aux virus Résistance aux virus et aux herbicides ; maturation retardée
Horticoles	Chrysanthème Rosier	Changement de coloration des pétales Idem
Divers	Tabac Luzerne	Résistance aux insectes, aux herbicides et aux virus ; production d'immunoglobuline Résistance aux virus ; modification de la composition en acides aminés (méthionine)
ligneuse	peuplier	Résistance aux herbicides

agricole dans ces régions est la brièveté de la saison de croissance. Dans cette optique, des travaux sont en cours pour développer, par exemple, des fraises résistantes aux gelées hâtives de l'automne. Ces fraises ne sont pas encore commercialisées. Par ailleurs, des chercheurs ont étudié la production de plantes GM qui supporteraient mieux la sécheresse. Ces plantes qui nécessitent moins d'eau pour leur croissance ou tolèrent une salinité élevée du sol pourraient présenter un avantage certain dans les régions où ces caractéristiques sont des contraintes pour la production agricole [30].

III-1.2. Alimentation

Les utilisations potentielles des plantes GM destinées à l'alimentation seraient variées. Alors que certaines plantes GM enrichies d'éléments essentiels à la santé pourraient être destinées aux pays où sévissent la famine et les carences alimentaires, d'autres seraient plutôt destinées aux consommateurs des pays développés. C'est le cas, par exemple, des aliments hypoallergènes et de certains aliments dits « fonctionnels ».

III-1.2.1. Aliments plus nutritifs : le riz transgénique enrichi en β-carotènes

La transgénèse appliquée aux plantes destinées à l'alimentation pourrait permettre la production d'aliments plus riches en éléments essentiels à la santé [31]. Par exemple, le riz et le blé peuvent être enrichis en fer et en zinc [32] et le maïs, en vitamine E [33]. D'autres modifications sont également testées en vue d'augmenter le contenu des plantes en protéines [34]. L'enrichissement du riz en β-carotènes est l'une des applications qui pourrait être commercialisée sous peu en vue de la mise en marché d'un riz GM appelé 'riz doré'. La β carotène, un précurseur de la vitamine A qui est un élément essentiel à la santé. L'intérêt du riz GM réside dans son utilisation dans les pays où sévit la malnutrition à afin d'enrayer les problèmes de santé résultant de la carence alimentaire en vitamine A tel que la cécité. Ce riz GM a été conçu par des chercheurs Suisses et Allemands, au terme de 10 années de travail [35]. La technique génétique consiste à insérer dans les grains de riz des gènes codant pour la β-carotène qui donne au riz une couleur jaune foncé d'où son nom 'riz doré' ou Golden rice.

Par ailleurs, l'effort de recherche porte actuellement sur la production d'un riz dont la vitamine A est plus efficacement absorbé par l'appareil digestif humain. Ainsi,

une ration de 300 g de ce riz transgénique permettrait une partie appréciable des besoins journaliers de l'organisme humain en vitamine A.

III-1.2.2. Aliments fonctionnels

Un aliment dit fonctionnel est un aliment qui contient de façon naturelle un composé considéré comme ayant des vertus curatives ou préventives en matière de santé; ce composé pourrait, par exemple, prévenir certains cancers ou encore contribuer à la longévité. Il possède donc une autre fonction qui s'ajoute à leur fonction de nutrition. La transgénèse permet de modifier une plante afin d'augmenter sa teneur en composés utiles. Des études sont en cours, notamment, pour augmenter la concentration en lycopène présent dans la tomate qui pourrait être associé à la réduction du risque de cancer de la prostate chez les hommes [36].

III-1.2.3. Aliments hypoallergènes

Les allergies alimentaires sont souvent déclenchées par la présence d'une protéine particulière dans un aliment. Des recherches sont en cours pour développer des arachides, du soja et du riz hypoallergènes dépourvus de protéines allergènes [37], en bloquant l'expression des gènes codant pour ces protéines. Ainsi, des plantes GM hypoallergènes dont le contenu en protéines allergènes est diminue telles que le riz et le soja ont été obtenues, cependant, elles ne sont pas commercialisées. Des recherches sont également en cours pour tenter de réduire l'allergénicité du blé [38]. Ces travaux consistent à insérer un gène qui commande la biosynthèse de la thiorédoxine afin de provoquer la rupture des ponts disulfure dans la protéine nocive, sans altérer pour autant la fonctionnalité des protéines du blé.

Enfin, devant l'accroissement du risque de maladies cardio-vasculaires, notamment chez les Nord-Américains, de nombreuses recherches sont en cours en vue de modifier certaines plantes et d'en extraire des huiles moins saturées ou contenant davantage de 'bon gras' comme les omega-3 [39].

III-1.3. Moléculture végétale

Le développement de plantes GM en vue d'une production à grande échelle de composés utiles est un sujet de recherche de pointe dans le domaine de la transgénèse végétale. Le terme 'moléculture' ou agriculture moléculaire, vient de la combinaison des

mots bien connus molécule et culture, elle signifie donc la culture de molécules. Ce mode de production vise l'obtention de composés qui pourraient éventuellement être intégrés dans la fabrication de produits pharmaceutiques (vaccins, médicaments,...) et de matériaux divers. La moléculture végétale pourrait, entre autres, permettre une réduction importante du coût de production, en utilisant des bioréacteurs industriels. Le tabac, le maïs et la pomme de terre sont parmi les espèces actuellement utilisées pour des fins de la recherche en moléculture. Une fois modifiés, ces végétaux seraient capables de produire facilement de nombreuses molécules complexes. Les molécules produites sont le plus souvent des protéines (anticorps et l'interleukine humaine) destinées principalement à un usage pharmaceutique [40].Certaines agissent contre le cancer [41] alors que d'autres serviront de biomatériaux, d'huiles industrielles et de plastiques biodégradables. À court terme, c'est la production d'anticorps qui devrait susciter la plus forte demande.

مكتبة الكلية

III-1.4. Environnement

Certaines plantes sont en mesure de décontaminer des sols contenant des composés toxiques, soit de façon naturelle ou par l'addition de cette propriété par une modification génétique [42].La phytorémédiation est la correction d'un problème de contamination environnementale par l'utilisation de plantes. Plusieurs plantes GM sont en cours de développement en ce sens. Ces plantes permettraient d'éliminer du sol certains résidus toxiques comme les résidus de trinitrotoluène (TNT) et de mercure [43], les surplus de plomb [44], d'arsenic [45] ou de métaux lourds [46]. Certains bénéfices pourraient alors être récoltés de cette technologie.

III-1.5. Horticulture et autre applications

L'une des premières fleurs GM a été développée au début des années 90, ainsi, une variété de chrysanthème de couleur rose a été convertie en une variété de couleur blanche. Les fleurs GM pourraient avoir une durée de vie plus longue une fois coupées et offrir de nouvelles variétés de couleur, de forme, de taille, de parfum et d'une meilleure résistance à des maladies ou à des insectes [47]. Enfin, certaines plantes contiennent, à l'état naturel, des composés moins désirés par certains consommateurs, comme la caféine ou polyphénase oxydase, une enzyme responsable du brunissement de la pomme de terre. Il serait donc possible de produire des plantes qui ne contiendraient pas de caféine, évitant ainsi d'avoir à décaféiner le café [48], ou encore

de diminuer la quantité de cette enzyme responsable du brunissement de la pomme de terre [49].

III-1.6. Solutions futuristes

Les scientifiques évaluent actuellement la possibilité d'utiliser des organismes génétiquement modifiés (OGM) en vue, notamment, d'apporter des solutions à divers problèmes actuellement à l'étude, on trouve :

III-1.6.1. Des arbres pour les pâtes et papier

La lignine contenue dans les arbres nuit au processus de fabrication du papier. Elle doit donc être séparée de la cellulose, une molécule qui constitue la paroi des cellules végétales, par des produits chimiques alcalins durs et une forte chaleur. La commercialisation d'arbres GM à faible teneur en lignine aurait plusieurs avantages : diminution substantielle de l'utilisation de produits chimiques servant à séparer la lignine de la cellulose et amélioration de la santé des travailleurs agricoles et industriels actuellement en contact avec les produits chimiques nocifs[50] ;Par exemple, des trembles (Populus tremuloides) ont été génétiquement modifiés afin que leur contenu en lignine soit réduit, leur concentration en cellulose, plus grande et leur croissance, plus rapide que les trembles traditionnels. Des essais en champs effectués sur une période de quatre ans, en Angleterre et en France, n'ont pas permis de relever d'impacts environnementaux négatifs [51].

III-1.6.2. Des fruits et légumes à durée prolongée

La modification génétique des fruits et des légumes permettrait d'augmenter leur durée de stockage et de retarder leur détérioration. Le développement de tel OGM pourrait élargir les possibilités de commerce et empêcher les gaspillages massifs qui ont lieu durant le transport et l'approvisionnement [50].

III-1.6.3. Des plantes comme carburant

Le carburant issu du matériel végétal ou de la biomasse est connu pour son énorme potentiel énergétique. Par exemple, les résidus de canne à sucre ou de sorgho fournissent de l'énergie, en particulier dans les zones rurales dans les pays qui en produisent. Au moyen de la transgénèse, la matière organique pourrait être modifiée en

vue de fournir de l'énergie. Des plantes pourraient être reproduites dans ce but spécifique [50].

III-2. Applications des animaux GM

La possibilité d'ajouter, de muter ou de retirer un gène dans un animal entier offre aux expérimentateurs des possibilités sans précédent. Les animaux transgéniques sont devenus des outils irremplaçables pour étudier le fonctionnement des gènes et les mécanismes qui gouvernent les fonctions biologiques. Il est même parfois judicieux de créer des animaux spécifiquement pour des études particulières, L'amélioration des fonctions biologiques essentielles (reproduction, croissance musculaire, etc) peut évidement en principe être obtenue par la transgénèse. La méconnaissance des gènes impliqués et le coût de la transgénèse limitent encore la mise en oeuvre de tels projets.

III-2.1. Recherche fondamentale

Des succès très importants de la transgénèse concernent actuellement la recherche fondamentale. Cette méthode permet d'aborder d'une manière nouvelle et particulièrement efficace l'étude des régions régulatrices des gènes, de leur rôle dans le développement embryonnaire, dans la différenciation cellulaire, dans la cancérogenèse, etc. De nombreuses maladies d'origine génétique sont dues à un ou plusieurs défauts dans un seul gène. Afin d'envisager des traitements par thérapie génique (ou transgénèse somatique), un grand nombre de modèles de maladies expérimentales sont crées chez les souris transgéniques : hypertension, diabète insulinodépendant, hypercholestérolémie, mucoviscidose, hémophilies, emphysème, anémie. Certaines souris transgéniques permettent également d'étudier de multiples cancers : tumeurs mammaires, lymphomes B, mélanome, tumeur du pancréas exocrine, cancer de l'estomac, tumeur de cristallin, etc. Les modèles sont devenus innombrables, mais d'un intérêt certain pour la mise au point de nouvelles thérapeutiques. De plus en plus souvent des lapins et des porcs sont utilisés comme modèles pour les études biomédicales : des lapins pour l'athérosclérose, pour l'infection par l'HIV (virus d'immunodéficience humaine), pour la mucoviscidose ; des porcs pour xénotransplantation [52].

III-2.2. Elevage d'animaux GM

III-2.2.1. Elevage du poisson GM

À ce jour, plusieurs travaux de recherche portent sur la transgénèse appliquée aux poissons destinés à l'élevage tels que le tilapia, le saumon de l'Atlantique et certaines espèces de saumon du Pacifique. La transgénèse vise l'augmentation de la vitesse de croissance des poissons par une modification génétique au niveau d'une hormone de croissance [53].La première demande d'approbation, en vue d'une production commerciale d'un poisson transgénique (saumon de l'Atlantique) a été déposée auprès de la 'U.S. Food and Drug Administration' au début de l'an 2000.

En vue de résoudre certains problèmes pratiques d'aquaculture, la recherche tente d'améliorer la résistance aux maladies en produisant des saumons porteurs de séquences d'ADNc de truite arc-enciel codant pour le lysozyme. Le lysozyme est actif contre certains germes pathogènes des poissons tels que *Vibrio, Aeromonas* et *Yersinia*. On expérimente actuellement un autre type de protéine antibactérienne (la cécropine de ver à soie) sur la barbue de rivière (*Ictalurus punctatus*)[54]. On pourrait ainsi améliorer la résistance de cette espèce à des maladies telles que la septicémie entérique. L'élevage d'espèces de poissons carnivores comme la truite ou le saumon a entraîné la surpêche du lançon et de la capeline, un petit salmonidé. Pour trouver une solution à ce problème, on étudie la possibilité de modifier le métabolisme de ces espèces de manière à améliorer leur digestion des glucides et à leur permettre ainsi de passer à un régime alimentaire plus végétarien.

Le manque de tolérance au froid chez les espèces d'eaux chaudes comme la carpe commune ou le tilapia peut conduire à d'importantes pertes de ressources pisciaires au cours de l'hiver. Ce qu'il est proposé de faire dans ce domaine, c'est de modifier la conformation moléculaire des lipides de manière à accroître la fluidité membranaire. Dans le but d'étendre la zone géographique qui se prête à l'élevage des poissons, on peut prélever un gène codant pour une protéine antigel chez une espèce qui en est porteuse et le transférer ensuite à l'espèce à protéger. On a ainsi produit des variétés de saumon atlantique résistantes au froid, mais la quantité de protéine antigel sécrétée par ces saumons était insuffisante pour abaisser de façon sensible le point de congélation du sang [55].

III-2.2.2. Elevage du bétail et volaille GM

Les travaux de chercheurs australiens ont porté sur un mouton GM qui synthétiserait une plus grande quantité de la cystéine, un acide aminé qui favorise la production de la laine. D'autres travaux portent sur l'amélioration de la qualité de la fibre chez les moutons mérinos, une race bien connue pour sa laine abondante, blanche et très fine, en surproduisant la kératine [56].

D'autre part, des animaux d'élevage GM sont actuellement en développement en vue de leur procurer une résistance à certaines maladies. L'une des applications potentielle dans ce domaine est la synthèse d'anticorps spécifiques destinés à prévenir des maladies d'origine virale [57]. Ainsi, le terme 'vaccination génétique' est employé pour désigner cette catégorie de transgénèse. Dans ce cas, il n'est plus nécessaire de vacciner l'animal GM car le caractère de résistance à des maladies est transmis héréditairement [58].

On est encore loin de commercialiser des aliments issus de bétail ou de volailles transgéniques. En transférant à des porcs plusieurs gènes nouveaux qui stimulent la croissance, on a obtenu une viande de meilleure qualité, c'est-à-dire plus maigre et plus tendre [3].Ces travaux ont commencé il y a une décennie, mais en raison de certains effets d'ordre morphologique et physiologique qui se sont manifestés chez ces animaux, ces recherches n'ont pas débouché sur une commercialisation. Parmi les autres applications du génie génétique à la production animale qui en sont encore aux premiers stades de la R & D, on peut citer, la modification du rapport de masculinité chez les volailles, l'amélioration de la production d'œufs par la création de deux ovaires actifs chez les pondeuses. Ces travaux restent en majeure partie théoriques et il n'est donc pas possible de prévoir dans quel délai ils pourront déboucher sur une commercialisation.

D'autre part, des expériences réalisées en partie fortuitement ont montré, contre toute attente, que de l'ADN nu sous forme de plasmide (molécule d'ADN circulaire) était capable de pénétrer dans les cellules musculaires après simple injection de la solution d'ADN. Cet ADN peut se maintenir pendant au moins un an et diriger la synthèse en continu de la protéine correspondante, ce qui conduit à la formation d'anticorps contre cette protéine. Cette observation a été répétée de nombreuses fois avec toutes sortes de variantes. Un traitement nécrosant préalable du muscle est souvent nécessaire pour

favoriser la pénétration de l'ADN [59]. L'injection simultanée d'un plasmide codant pour l'interleukine 2 stimule localement le système immunitaire et vient ainsi renforcer notablement la production d'anticorps. Une des caractéristiques de cette méthode est la qualité de la réponse immunitaire, qui semble le plus souvent impliquer très fortement les mécanismes cellulaires de défense. C'est semble-t-il la manière dont sont présentés les antigènes, par la cellule qui contient l'ADN étranger, qui conditionne la qualité de la réponse. Plusieurs problèmes restent à résoudre avant que cette méthode ne devienne une pratique courante dans les élevages. Il faut tout d'abord noter que les réponses aux injections d'ADN, même si elles ont été obtenues par de nombreux laboratoires, sont variables. Une standardisation de la méthode est indispensable pour qu'elle soit réellement exploitable. Un autre problème concerne la biosécurité. Les plasmides utilisés ne présentent pas de risques particuliers. Il est toutefois nécessaire que l'ADN injecté ne se retrouve pas dans les tissus destinés à la consommation humaine ni dans les cellules germinales. L'utilisation d'ARNm codant pour des antigènes plutôt que d'ADN pourrait résoudre le problème car ils sont instables dans les cellules. Encore faut-il prouver qu'ils sont aussi efficaces que l'ADN, que leur prix de revient est acceptable et que leur manipulation n'est pas trop délicate.

Le vocable « vaccination génétique » regroupe toute une série de techniques qui reposent sur la transgenèse. Elles consistent à transférer aux animaux des gènes qui confèrent de manière définitive une résistance constitutive ou induite à des maladies données. Ces gènes de résistance agissent indépendamment du système immunitaire et l'effet de protection n'est donc pas au sens strict le résultat d'une vaccination. Les gènes de résistance peuvent être des gènes naturels identifiés chez les individus d'une espèce animale naturellement résistants à la maladie. Ces gènes peuvent également être ceux qui codent pour des anticorps monoclonaux, sécrétés ou non (intracorps) [60], qui se lient à l'agent pathogène et l'inactivent. Les produits de certains gènes peuvent interférer avec les mécanismes de réplication des virus. C'est le cas des gènes "enveloppe" pour les rétrovirus. L'enveloppe surproduite par la cellule occupe le récepteur du virus et empêche ainsi sa liaison et son entrée dans la cellule [61]. Les protéines de capside surproduites par les cellules perturbent la formation des particules virales. Les ARN antisens et les ribozymes peuvent annihiler ou détruire les ARNm viraux. Les ARN antisens peuvent également dans certains cas former des triples hélices avec l'ADN et inhiber la transcription du gène ainsi ciblé. La surproduction d'une séquence d'ARN viral ayant un rôle clef (la séquence liant l'ARN polymérase virale par

exemple) peut servir de leurre pour les protéines virales qui se fixent massivement sur le leurre et délaissent les ARN viraux. Les applications de ces méthodes aux animaux domestiques sont à peu près inexistantes. Les mises au point sont si lourdes et onéreuses que peu de tentatives ont été conduites jusqu'à leur terme. Les résultats obtenus avec les systèmes modèles ne laissent que peu de doute sur la puissance de ces techniques.

III-2.3. Alimentation

Au début des années 90, la première vache GM a été obtenue, elle produisait un lait qui se rapproche du lait maternel contenant la lactoferrine humaine, habituellement absente du lait de vache. La production de cette protéine dans le lait pourrait procurer une valeur nutritive additionnelle car elle permet au nourrisson de se protéger contre les infections gastro-intestinales, en lui apportant du fer [58,62].

Par ailleurs, l'enrichissement du lait en caséine kappa est désormais possible produit par transgénèse animale. Cette protéine contribue à la stabilité du lait à haute température, mais elle contribue également aux premières étapes enzymatiques de la fabrication du fromage. De plus, elle pourrait permettre un rendement plus élevé dans la fabrication du fromage [58,63].

Il est également concevable de modifier quelques acides animés dans certaines caséines pour augmenter leur sensibilité aux protéases et accélérer ainsi la maturation de la pâte à fromage. La modification de certaines enzymes de la glande mammaire peut conduire à un changement des composés non protéiques du lait. C'est le cas du gène de l'α-lactalbumine qui contrôle la synthèse du lactose mais aussi de l'acétyl-CoA carboxylase dont la surexpression peut induire un changement de la composition des lipides du lait. Il est intéressant également de noter que l'expression d'un transgène contenant le promoteur du gène WAP (Whey Acidic Protein) de souris et l'ADNc de la glycosyltranférase humaine, dans la glande mammaire de souris se traduit par une modification de la glycosylation des protéines ainsi que par une sécrétion d'oligosaccharides dont la synthèse chimique est très complexe et dont les activités biologiques sont potentiellement très intéressantes.

Enfin, une autre application envisagée de la transgénèse animale est la réduction de la quantité de lactose dans le lait de vache. Cela permettrait aux consommateurs souffrant de l'intolérance au lactose de pouvoir consommer du lait dépourvu de lactose. Cependant, à ce jour, la suppression complète du lactose du lait a été réussie seulement chez une souris [58].

III-2.4. Moléculture animale

La moléculture animale repose sur le même principe que la moléculture végétale, elle vise la production à grande échelle de composés à partir d'un organisme vivant modifié génétiquement. À la suite d'une transgénèse, un animal peut produire des protéines nouvelles dans l'un des liquides biologiques comme le lait (fig.17), le liquide séminal ou l'urine et dans le sang qui peuvent être purifiées en suite [62]. Actuellement, des recherches sont en cours en vue de produire des protéines, en particulier des anticorps, qui pourraient avoir des intérêts thérapeutiques [64].

Certains travaux récents ont porté sur des lapins, sur des porcs transgéniques [65], ainsi que sur une chèvre transgénique qui peut produire, dans son lait, une protéine d'un type de soie connu chez l'araignée [66]. L'un des domaines les plus prometteurs du point de vue de la rentabilité est la transgénèse appliquée aux espèces laitières, puisque le lait est facile à récolter en grande quantité. Toutefois, le long intervalle entre la naissance de l'animal et la première lactation, les interruptions naturelles dans le cycle de lactation et les investissements nécessaires pour produire l'animal transgénique demeurent un frein à la commercialisation [58].

III-2.4.1. Production de l'α-antitrypsine dans le lait de brebis

Le premier cas de moléculture animale fut une brebis GM développée pour synthétiser dans son lait de l'α-antitrypsine, une protéine utilisée pour soulager l'emphysème chez l'homme [67]. Le transgène codant pour la protéine humaine a pu être isolé, puis introduit dans le génome de la brebis. Cependant, il faut plusieurs années pour constituer une lignée de brebis qui puisse assurer les volumes nécessaires à des essais cliniques.

III-2.4.2. Production de protéines dans le liquide séminal

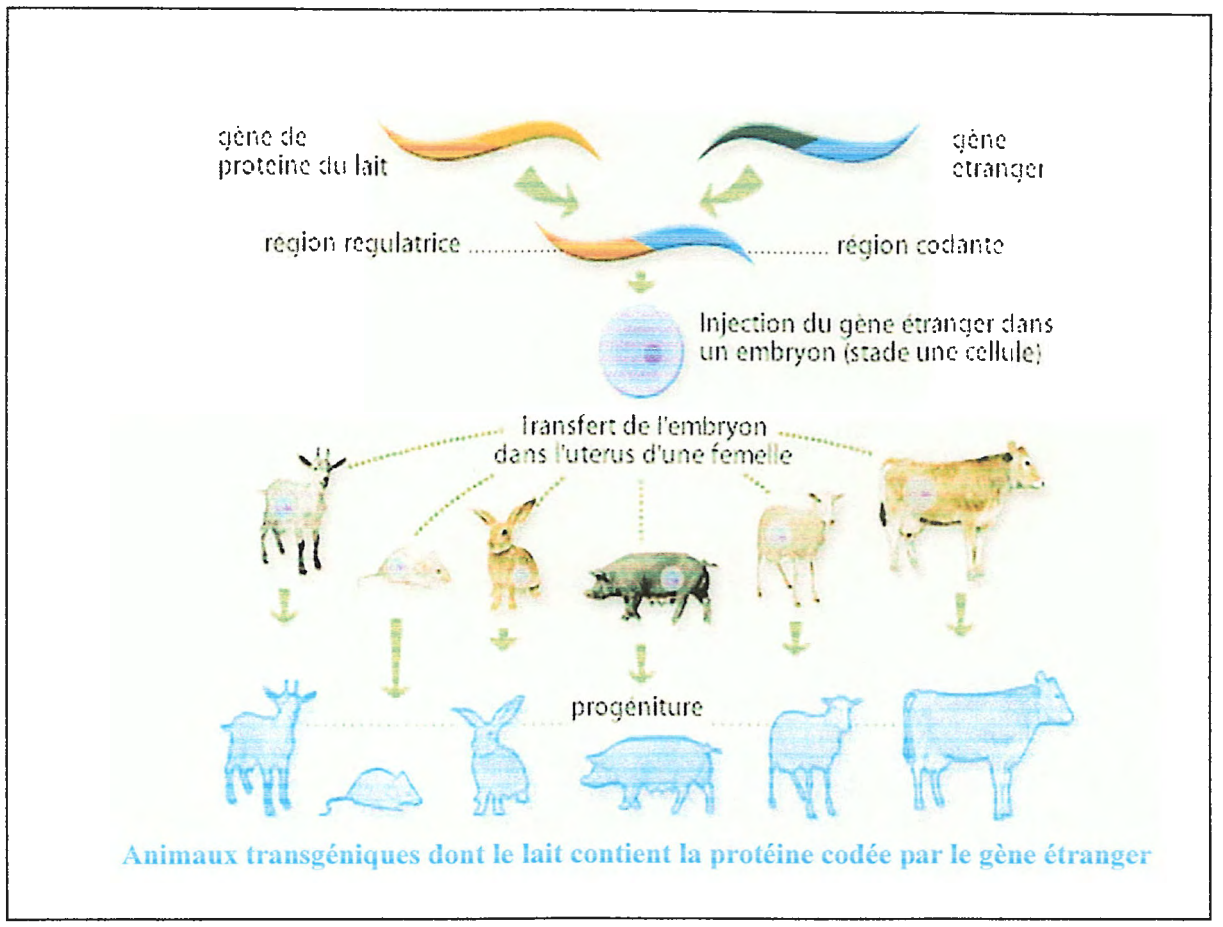

Fig17. Animaux transgéniques produisant des protéines dans leur lait

Le liquide séminal d'animaux mâles GM est autre liquide biologique susceptible de permettre la production de protéines exogènes nouvellement introduite par transgénèse. Cette option a été retenue chez le porc qui a une grande capacité de produire des protéines dans ce liquide et de façon continue tout au de sa vie [68].

III-2.5. Environnement

Il est très pertinent d'améliorer la capacité du porc à assimiler le phosphore et à l'éliminer du lisier. Le phosphore est un élément essentiel à la santé du porc et doit être ajouté à sa diète habituelle puisque celle-ci ne lui en procure pas suffisamment pour atteindre les rendements désirés. Des travaux de recherche portent actuellement sur une modification génétique qui permettrait au porc de digérer l'acide phytique [69], un composé présent dans les céréales, et d'en retirer le phosphore dont il a besoin. L'acide phytique est normalement indigeste pour le porc. La manipulation génétique envisagée porte sur l'enzyme phytase qui agit sur la molécule d'acide phytique afin que cette dernière libère le phosphore.

Actuellement, l'acide phytique non digéré se retrouve dans les excréments du porc naturel et le lisier. L'acide phytique serait en quantité réduite dans le lisier d'un porc GM. Ainsi, la transgénèse pourrait permettre à la fois de réduire les coûts de l'alimentation pour les éleveurs et de réduire les concentrations d'acide phytique dans l'environnement. Le phosphore est notamment associé au phénomène d'eutrophisation des milieux aquatiques [70].

III-3. Applications des microorganismes GM

À ce jour, plusieurs types de microorganismes ont été modifiés génétiquement [71], ils sont destinés à la recherche ou à les industries agro-alimentaires et pharmaceutiques. Beaucoup de ces microorganismes sont actuellement utilisés dans la fabrication de divers produits et matériaux d'usage courant, comme des biopolymères dans les produits d'emballage, des cosmétiques et des aliments. Les activités de recherche dans ce domaine sont nombreuses.

III-3.1. Alimentation

Depuis longtemps, les microorganismes, comme les bactéries, les levures, ou les moisissures, sont utilisées dans la fabrication d'aliments ou pour la production industrielle d'additifs alimentaires. Le yogourt, le fromage, le pain, la choucroute et les boissons alcoolisées sont tous des aliments conçus grâce à l'action d'un microorganisme. Actuellement, il est possible de trouver dans notre alimentation des additifs qui ont été produits par des bactéries GM, comme des enzymes, dont la présure, ou des acides organiques, dont l'acide citrique [71].

Au travers d'une lecture (rapide) des brevets, les quatre grands secteurs qui utilisent la levure comme agent de fermentation, la panification, l'oenologie, la brasserie et l'industrie de la production d'éthanol disposent aujourd'hui de MGM (tableau 3). L'analyse des principaux brevets montre qu'à ce jour les objectifs visés concernent dans la majorité des cas l'amélioration des procédés de production (résistance aux stress, résistance aux infections phagiques, etc) [73], l'amélioration de la sécurité alimentaire grâce à la production des bactériocines à large spectre issues d'autres bactéries, l'amélioration du potentiel d'acidification du lait plus rapide ou des améliorations de la qualité organoleptique des produits laitiers (meilleure dégradation des protéines, production des agents texturants, production de composés aromatisants. Evidemment, dans tous ces cas, les bactéries génétiquement modifiées restant dans le produit final, la sécurité sanitaire de ces produits devra être évaluée. L'emploi de MGM est également autorisé dans un certain nombre de pays pour la production de micronutriments tels que des vitamines ou des acides aminés que l'on utilise à des fins nutritionnelles ou comme compléments diététiques. Il devrait être possible, à l'avenir, d'intégrer des voies métaboliques complètes dans des micro-organismes transgéniques de manière à ce qu'ils puissent produire de nouveaux composés.

Dans le domaine de l'élevage. On peut noter qu'en alimentation animale : un certain nombre d'additifs à usage alimentaire pour les animaux, thréonine, tryptophane et lysine, sont d'ores et déjà produits par des bactéries recombinantes ainsi que des enzymes (cellulase, bêta-glucosidase, phytase....) concernant les phytases, pratiquement toutes les "grandes sociétés" ont un brevet sur le clonage et l'expression de phytases.

III-3.2. Médecine

Tableau 3. Applications en oenologie et en brasserie [72].

Organisme producteur	Domaine d'application	Objectif
Saccharomyces cerevisiae	oenologie	Augmenter les performances fermentaires et simplifier le procédé
Saccharomyces cerevisiae	oenologie	Améliorer la qualité organoleptique et hygiénique du vin
Saccharomyces cerevisiae	boulangerie	Fermentation du maltose et du mélibiose

Dans le domaine médical, la transgénèse a permis la production d'anticorps utilisés pour la vaccination, comme le vaccin de l'hépatite B. Certains vaccins produits par des OGM sont déjà sur le marché en Europe et d'autres sont en cours de développement expérimental. Des essais cliniques sur des animaux, puis sur l'homme, sont menés avant la mise en marché d'un anticorps issu d'une transgénèse ou de produits pharmaceutiques. La bactérie, Escherichia coli a pu être modifiée génétiquement de manière à ce qu'elle produise une insuline humaine (fig.18). Une levure GM produit de l'hydrocortisone [74], un composé habituellement présent chez les mammifères, dont sont issus la cortisone et de nombreux autres corticoïdes que l'on trouve en pharmacie. Cette méthode de production microbienne de la cortisone est beaucoup plus simple que le procédé industriel complexe utilisé actuellement.

Depuis plus d'une dizaine d'années, de nouvelles espèces de bactéries ont été introduites dans des produits alimentaires. Elles sont choisies pour induire des effets bénéfiques sur la santé humaine. On les appelle des probiotiques, c'est-à-dire des microorganismes vivants (le plus souvent des bactéries) qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent un effet positif sur la santé au-delà des effets nutritionnels traditionnels. A l'exception d'une levure probiotique [75] ayant un rôle de médicament *(Saccharomyces boulardii)*, les probiotiques sont principalement des bactéries lactiques (BL), c'est-à-dire qu'ils fermentent les glucides en produisant de l'acide lactique, ou occasionnellement des Bacillus. Les principaux effets positifs concernent principalement la régulation du transit (réduction des diarrhées et de la constipation), une stimulation de marqueurs de l'immunité qui suggère un effet positif sur le système immunitaire. Des travaux récents suggèrent un effet sur un type d'allergie (eczéma atopique de l'enfant) et une réduction de réponses inflammatoires digestives.

Une voie est donc ouverte pour des microorganismes génétiquement modifiés (MGM) ayant acquis de nouvelles propriétés et consommés vivants dans les produits alimentaires. Ils pourraient exercer un rôle de médicament : Un premier domaine concerne la vaccination orale, parentérale ou nasale. L'expression d'antigènes viraux ou tumoraux, d'anticorps neutralisants ou la production concomitante de différentes interleukines et d'antigènes semble moduler la réaction immunitaire de façon intéressante. Dans le cas d'allergies alimentaires, une désensibilisation orale à partir de MGM produisant un allergène modifié pourrait être envisagée. Un deuxième domaine concerne la sécrétion dans le tractus digestif par le MGM ingéré d'enzymes ou de

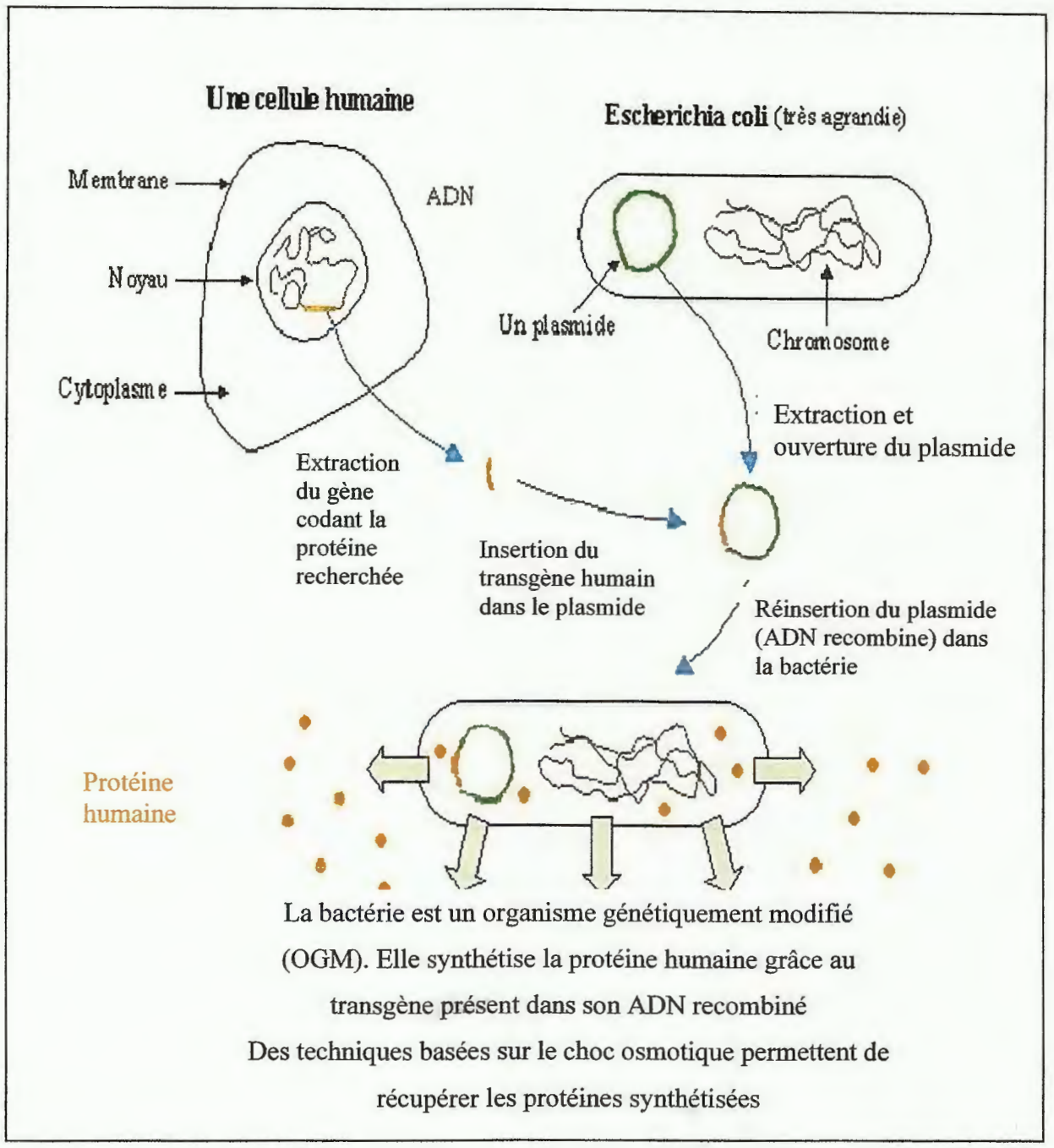

Fig 18. Transfert de gène chez *E. Coli*

médiateurs pouvant jouer un rôle bénéfique (préventif ou curatif) sur la santé humaine. L'exemple le plus marquant, à l'heure actuelle, est celui de l'équipe de Steidler [76] qui concerne la production d'interleukine 10 par *Lactococcus lactis* dans le tractus digestif. Il a été possible par ce procédé de réduire une inflammation digestive expérimentale et ce type d'approche est actuellement testé chez des patients atteints de la maladie de Crohn. Il a aussi été montré, sur modèle animal, que le relargage d'une lipase par un *Lactococcus lactis* pouvait améliorer la digestibilité des lipides chez des animaux à qui on a ligaturé le canal pancréatique pour mimer une déficience en lipase. Toutes ces approches nécessitent une consommation de bactéries vivantes, certaines exprimant des protéines d'eucaryote et des études bénéfice/risque doivent être mises en place.

III-3.3.Technologie de la chimie verte et la bioremédiation

L'avantage de la chimie verte pour le consommateur réside principalement dans la mise au point de procédés plus respectueux de l'environnement, notamment en ce qui concerne les résidus toxiques associés à la production pétrochimique. La bioremédiation peut être appliquée à la dégradation de toute une liste de contaminants généralement de l'eau et du sol comme les hydrocarbures aromatiques, les polychlorobiphényles (PCB), le fioul, l'essence, les métaux lourds (tels que le cuivre, cadmium, chrome et mercure), les pesticides, les huiles, et de déchets des diverses industries. Un brevet concernant une souche de *Pseudomonas aeruginosa* modifiée génétiquement pour être utilisée dans la dégradation des hydrocarbures fut déposé en 1980. Historiquement, ce brevet était le premier brevet déposé concernant un organisme transgénique. Depuis, les constructions de MGM pour traiter les polluants sont nombreuses dans les laboratoires mais actuellement aucune souche recombinante n'est commercialisée pour la bioremédiation. Par contre plusieurs groupes académiques en USA, comme par exemple à l'Université de Tennessee, ont obtenu une autorisation du gouvernement pour tester leurs bactéries recombinantes sur le terrain. Les MGM pourraient être intéressants dans le cas de dégradations de produits récalcitrants comme les xénobiotiques ou pour des produits pour lesquels les voies de dégradation naturelles n'existent pas [77].

Chapitre IV :

Diffusion et risques des OGMs

IV-1. Diffusion des OGMs dans le monde

Les promesses et les espérances offertes par la transgénèse ne cessent d'augmenter et qu'une centaine de plantes sont expérimentées pour les meilleures raisons (résistance aux maladies, à la sécheresse, à la salinité..), ce que l'on retiendra sur la situation actuelle des plantes GM dans le monde, c'est la prépondérance de cinq firmes sur ce marché : Monsanto, Bayer, Syngenta, Dupont et Dow avec Monsanto qui produisent à eux seuls 90% des semences transgéniques.

Quatre pays où sont cultivés 99% des surfaces de végétaux génétiquement modifiés : Etats-Unis, Argentine, Canada et Chine (fig.19). Parmi les plantes cultivées, quatre représentent 99% des OGMs cultivées et commercialisées : le soja pour 61% des surfaces transgéniques, le maïs pour 21%, le coton pour 12% et le colza 5%.

Dans 99% des cas, la transgénèse cherche à conférer à ces plantes l'un des deux caractéristiques qui sont la tolérance à un herbicide (pour les trois quarts), et la production d'insecticides (fig. 20, 21, 22). Ce qu'il faut également retenir, en 1997, les OGMs occupaient 10 millions d'hectares cultivés, et en 2002, près de 60 millions, avec un taux de croissance de plus de 10% pour la sixième année consécutive. En 2003, selon une enquête ministérielle menée aux Etats-Unis, les surfaces de maïs et de soja transgéniques ont du croître de 4% et 5% [5]. En 2005, quelque 8,5 millions de producteurs, répartis dans 21 pays dont environ 90 % vivent dans des pays en voie de développement, ont cultivé des OGM. Cependant, 97 % de la superficie mondiale cultivée en OGM se retrouve dans seulement sept pays.

Malgré une évolution lente, mais croissante dans le monde, ce marché des semences transgéniques évalué à 3,67 milliards de dollars en 2001, reste très vulnérable. Il est à la merci du rejet d'une partie de l'opinion publique, et dépend également des fluctuations des cours sur les grandes cultures et de l'apparition de problèmes de résistance des insectes et des mauvaises herbes [5].

En Europe, les cultures GM sont peu présentes dans les pays de l'Union européenne, car les producteurs ne les ont pas adoptées. Sur la base des dernières données disponibles, en 2005 du maïs GM a été cultivé sur des superficies de 100 000, 750, 500 et 150 hectares, respectivement, en Espagne, au Portugal, en France, et en République Tchèque (fig. 23) [78].

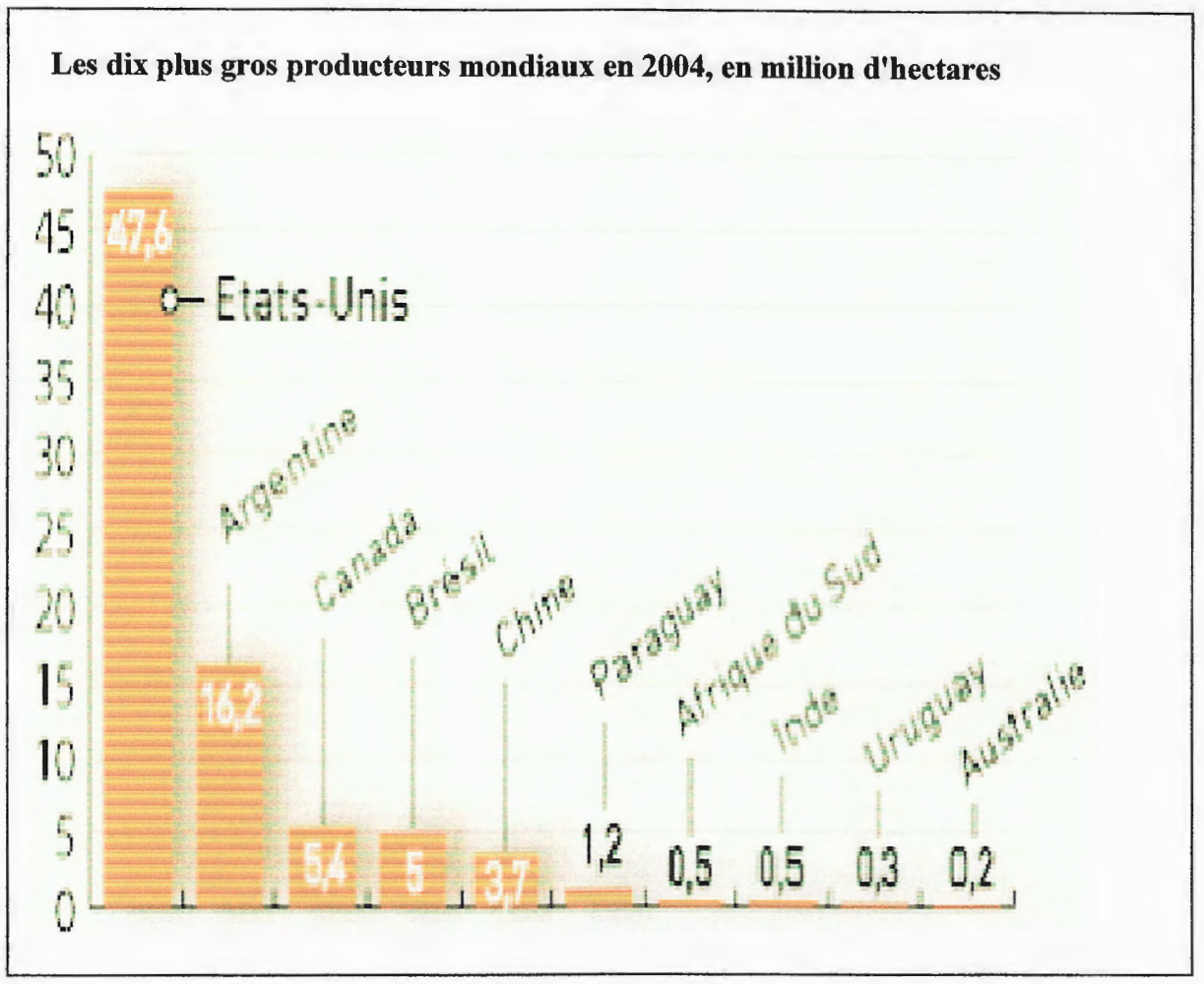

Fig 19. Production de plantes GM par pays (soja, mais, coton) [63]

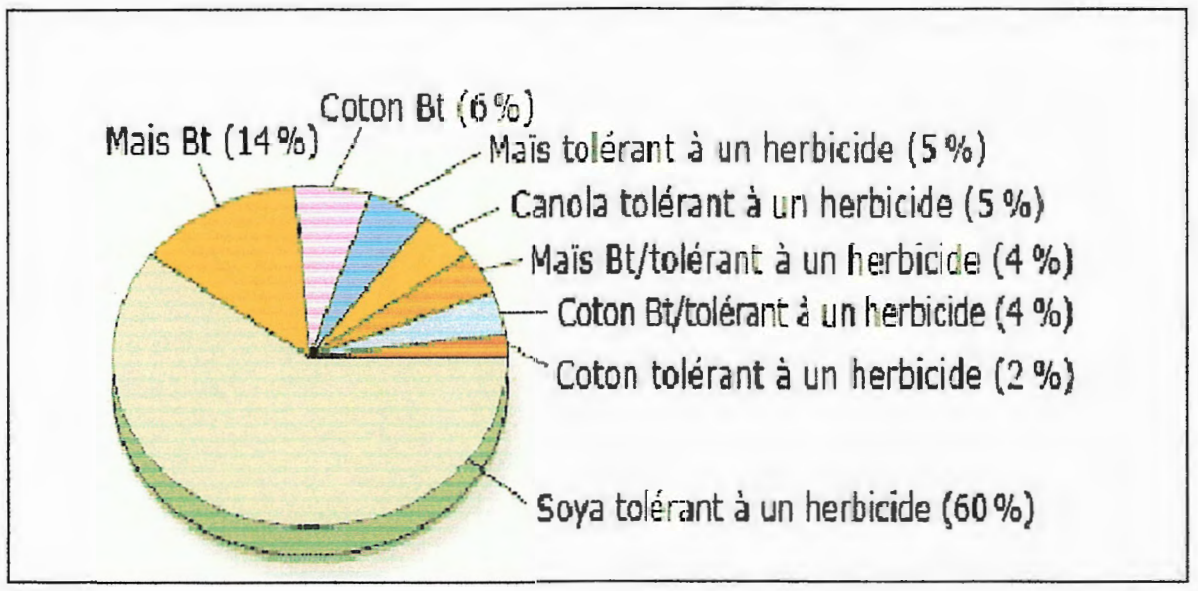

Fig 20. Types de cultures transgéniques en 2004 [63]

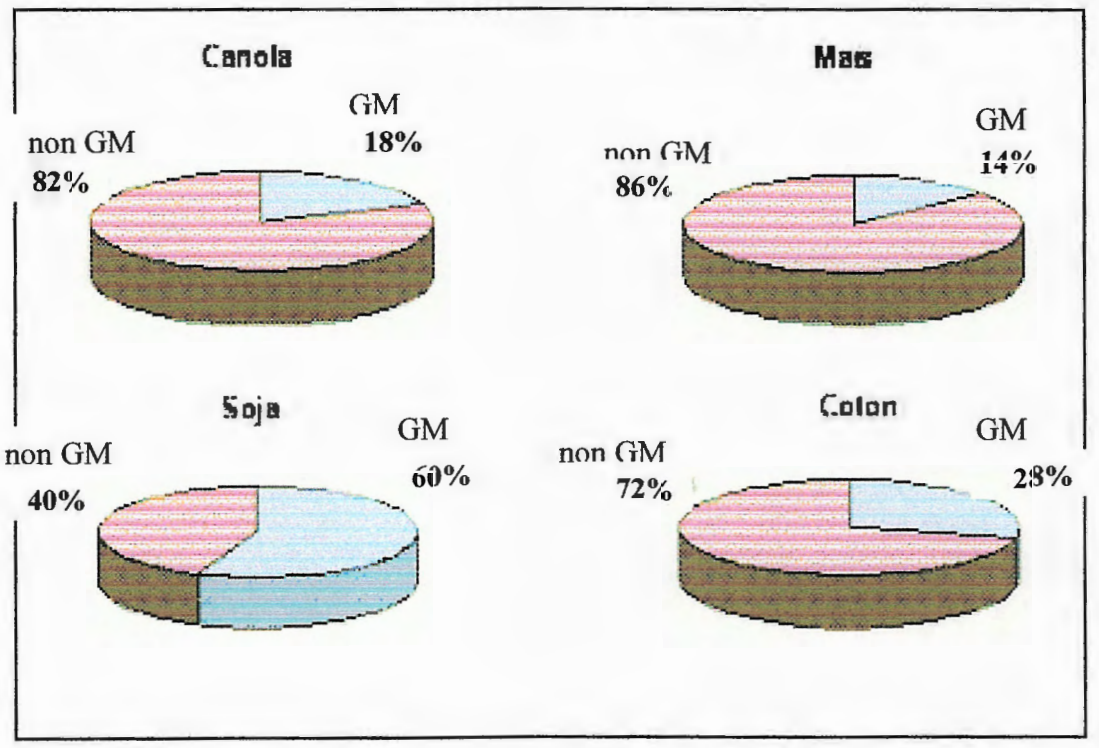

Fig 21. Importance des principales cultures GM dans le monde en 2005 [64]

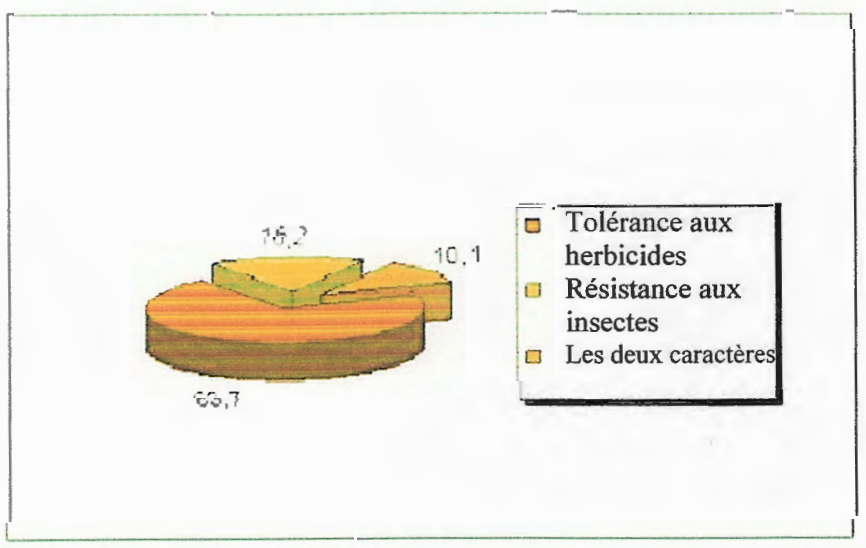

Fig 22. Caractéristiques des superficies (en million d'hectares) ensemencées en OGMs dans le monde en 2005 [64]

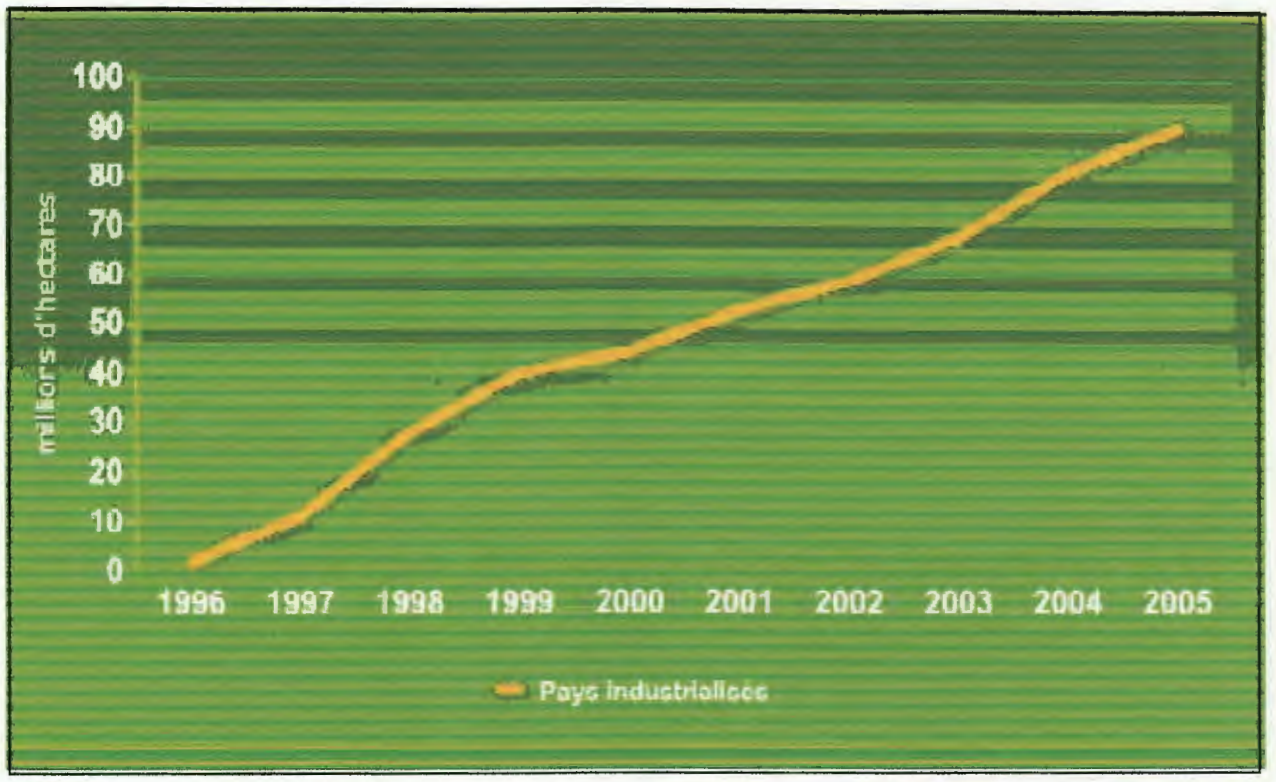

Fig 23. Evolution des surfaces de cultures OGMs dans le monde entre 1996 et 2005 [64]

Concernant l'Afrique, actuellement et officiellement, un seul pays est producteur d'OGMs commerciaux : l'Afrique du Sud. Cependant, des expérimentations en champs ont lieu au Zimbabwe, Egypte, Kenya, Cameroun, Burkina, Maroc, Ouganda, Nigeria (fig. 24). Mais cela ne dispense pas les pays de ce continent d'être confrontés à la controverse car en tant que consommateurs, la Zambie, le Zimbabwe, le Mozambique, le Malawi, et l'Ethiopie sont des pays où l'aide alimentaire OGM est en débat. Le gouvernement Zambien qui en 2002, a finalement refusé l'aide alimentaire (maïs OGM) réexportée par le Programme des nations unies, vers le Malawi voisin, en donne une bonne illustration

En Algérie, bien qu'un arrêté ministériel interdise l'introduction de plants et semences génétiquement modifiés, aucune réglementation ni aucun contrôle ne sont faits pour les denrées importées destinés à l'alimentation (oléagineux servant à la fabrication des huiles, tourteaux, céréales destinées aux minoteries...) [5].

A l'heure actuelle, seules quelques cultures vivrières génétiquement modifiées sont autorisées pour la consommation et sont commercialisées au niveau international pour l'alimentation humaine et animale. Il s'agit en particulier de maïs résistant aux herbicides et aux insectes ravageurs (maïs *Bt1*), de soja résistant aux herbicides, de graines oléagineuses de colza (ou canola) ou encore de coton résistant aux insectes et aux herbicides (tableau 4) c'est surtout une fibre naturelle, même si l'huile de coton raffinée est utilisée dans l'alimentation). En outre, certains gouvernements autorisent la consommation et la dissémination dans l'environnement de diverses variétés de papaye, de pomme de terre, de riz, de courge, de betterave sucrière et de tomate. Ces dernières ne sont toutefois cultivées et commercialisées que dans un nombre limité de pays, essentiellement pour la consommation intérieure. On estime qu'en 2004, les surfaces consacrées à la culture de plantes transgéniques commercialisées représentaient 81 millions d'hectares dans l'ensemble du monde et qu'elles étaient exploitées par 7 millions d'agriculteurs dans 18 pays développés ou en développement. Et 99 % des surfaces plantées d'OGM se trouvaient dans les sept principaux pays producteurs (Tableau5).

Au cours de la période de neuf ans séparant 1996 de 2004, la tolérance aux herbicides a été le caractère dominant des cultures génétiquement modifiées introduites

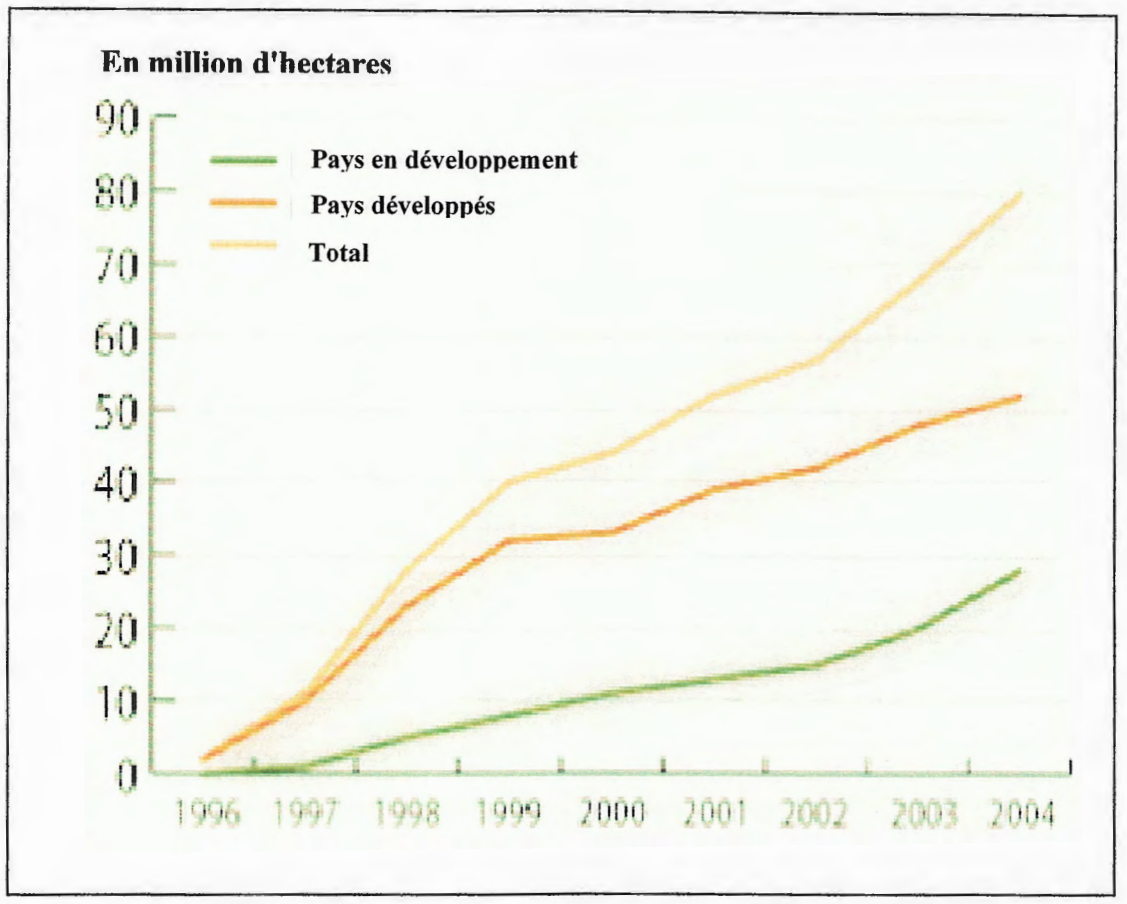

Fig 24. Production d'OGMs dans le monde [63]

Tableau 4. Les cultures OGM en 2005 [79].

Type de culture	Surface mondiale en millions d'hectares	Pourcentage
Soja tolérant à un herbicide	48,4	60%
Maïs Bt	11,2	14%
Colza tolérant à un herbicide	4,3	5%
Coton tolérant à un herbicide	1,5	2%
Maïs tolérant à un herbicide	4,3	5%
Coton Bt	4,5	6%
Maïs Bt résistant à un insecte et tolérant à un herbicide	3,8	4%
Coton Bt tolérant à un herbicide	3,0	4%
Total	**81,0**	**100%**

Tableau 5.Surfaces plantées d'OGM dans le monde, en millions d'hectares et en pourcentages des surfaces cultivées [79].

Pays	2001		2002		2003		2004	
	Ha x10^6	%	Ha x 10^6	%	Ha x 10^6	%	Ha x 10^6	%
Etats-Unis d'Amérique	35,7	67,9%	39,0	66,4%	42,8	62,8%	47,6	58,8%
Argentine	11,8	22,4%	13,5	23,0%	13,9	20,4%	16,2	20,0%
Canada	3,2	6,1%	3,5	6,0%	4,4	6,5%	5,4	6,7%
Brésil	–	–	–	–	3,0	4,4%	5,0	6,2%
Chine	1,5	2,8%	2,1	3,6%	2,8	4,1%	3,7	4,6%
Paraguay	–	–	–	–	–	–	1,2	1,5%
Afrique du Sud	0,2	0.4%	0,3	0,5%	0,4	0,6%	0,5	0,6%
Atres pays	0,2	0,4%	0,3	0,5%	0,8	1,2%	1,3	1,6%
Total (monde)	**52,6**	**100%**	**58,7**	**100%**	**68,1**	**100%**	**80,9**	**100%**

dans le commerce, la résistance aux insectes venant en seconde position. En 2004, les superficies plantées de soja, de maïs et de coton tolérants aux herbicides représentaient 72 % – soit 58,5 millions d'hectares – des plantations mondiales de végétaux génétiquement modifiés. Les cultures Bt résistantes aux insectes occupaient 15,7 millions d'hectares (20 %) de la superficie totale plantée de végétaux transgéniques et les cultures porteuses de gènes « empilés » (c'est-à-dire le coton et le maïs présentant à la fois le trait de résistance aux insectes et le trait de tolérance aux herbicides) occupaient 8 % (soit 6,8 106 ha) de cette superficie [78]. Les cultures commerciales résistantes aux virus comme la papaye (qui résiste à la tache annulaire), la pomme de terre (qui résiste au virus Y de la pomme de terre et au virus de l'enroulement de la pomme de terre) ou encore la courge yellow crookneck (qui résiste au virus de la mosaïque de la pastèque) occupent en comparaison une superficie très réduite. Les deux principales combinaisons culture transgénique/trait phénotypique étaient le soja tolérant aux herbicides avec 48,4 millions d'ha ou 60 % du total mondial et le maïs *Bt*, avec 11,2 millions d'ha ou 14 % de la superficie mondiale plantée en OGM.

IV-2. Risques des OGMs

IV-2.1. Risques sanitaires

La santé de l'homme est une question qui, dans notre société, soulève régulièrement de nombreuses inquiétudes. Les principales craintes viennent de la façon dont sont construites les plantes transgéniques. En effet, l'introduction d'un gène étranger dans un organisme receveur n'est pas un processus parfaitement contrôlé et les conséquences peuvent en être très diverses quant à l'intégration, à l'expression et à la stabilité de ce gène.

IV-2.1.1. Développement de résistance aux antibiotiques

Souvent, des gènes de résistance aux antibiotiques sont utilisés comme marqueurs dans le processus de création des plantes GM [80] et font alors partie du génome de l'OGM créé. Les protéines codées par ce gène ont, entre autres les propriétés d'augmenter la capacité de résistance des plantes aux antibiotiques. Le transfert des gènes de résistance de la plante GM aux bactéries pourrait donc contribuer au développement dans la nature de nouvelles souches de bactéries

résistantes aux antibiotiques. Certains scientifiques se sont demandés dans quelle mesure les antibiotiques utilisés pour les soins médicaux pouvaient perdre en efficacité thérapeutique.

Par ailleurs, certaines organisations, comme 'la Royal Society de Londres', ont suggéré le retrait du gène marqueur de l'OGM une fois achevé le processus d'insertion du gène dans la plante hôte. En effet, ce gène n'est plus nécessaire après la création de l'OGM. Les membres de la Royal Society considèrent toutefois que le risque d'augmentation de souches de bactéries résistantes aux antibiotiques attribuable à la transgénèse est faible, compte tenu des connaissances actuelles. Certains se demandent si le gène inséré dans la plante GM peut se transférer dans leurs cellules s'ils mangent un aliment provenant de cette plante. Les études tendent à démontrer que cette possibilité soit très peu probable, car l'organisme humain digère l'ADN contenu dans les aliments issus de plantes ou d'animaux (constitués de milliers de cellules formés d'autant d'ADN). Nous décomposons ces ADN en nucléotides qui sont semblables [81], qu'ils proviennent du transgène ou d'un autre gène de la plante. Il devient alors impossible de déterminer si les nucléotides proviennent du transgène ou non. Les nucléotides sont sans danger pour les humains puisque nos cellules les utilisent pour fabriquer notre ADN. Dans le cas où les gènes ne sont pas digérés, les cellules des mammifères ont développé des moyens pour se défendre contre l'insertion de gènes étrangers dans leur AND [82]. À la lumière de certaines évaluations, il est peu probable qu'un gène d'origine OGM s'insère dans les cellules de l'organisme humain [81,82].

IV-2.1. 2. Diminution de la valeur nutritive de certains aliments

En réaction à l'insertion du gène étranger, la plante pourrait générer des substances supplémentaires qui pourraient nuire à notre assimilation des éléments nutritifs (vitamines, fer, etc.) présents dans la plante. De même, l'insertion du gène étranger pourrait faire diminuer la teneur des substances nutritives elles-mêmes. Ces impacts potentiels n'ont pas été relevés dans le cas de l'huile provenant de canola GM actuellement commercialisée. Celle-ci a la même composition et donc de la même valeur nutritive que l'huile extraite de canola non GM [83]. D'autres études réalisées sur d'autres plantes GM seront nécessaires.

IV-2.1.3. Risques liés à la consommation de produits dérivés d'animaux nourris aux OGM

La diète des animaux de ferme comprend depuis quelques années des grains GM (maïs, soja). Des études ont été menées pour savoir si une telle diète présentait des risques pour la santé des animaux eux-mêmes, ainsi que pour celle des êtres humains qui consomment la viande de ces animaux ou leurs produits dérivés (lait, œufs) (Tableau 6).

IV-2.1.4. Toxicité et allergies liées à la présence d'un gène inséré : exemple du Soja GM

On dit qu'il y a risque d'intoxication lorsqu'un aliment (lait, œufs, viande, etc.) contient des toxines, c'est-à-dire des substances capables d'endommager les fonctions vitales ou des parties de l'organisme humain. Ces substances doivent être présentes en quantité suffisante pour provoquer des effets nocifs. En matière de toxicité alimentaire, tout est en effet question de quantité ingérée. On parle de réaction allergique lorsque le système immunitaire réagit de façon inappropriée ou exagérée à l'absorption de substances dites 'allergènes'. Certains allergènes peuvent être nocifs pour les humains. Les allergies alimentaires peuvent se manifester sous forme d'asthme ou par une chute importante de la pression artérielle dans les cas sévères. Les toxines et les allergènes sont des substances naturellement produites par les végétaux et certains animaux. Les toxines, pour leur part, jouent un rôle dans les mécanismes naturels de défense de tous les organismes vivants. Or, un aliment d'origine OGM pourrait contenir une plus grande quantité de toxines ou d'allergènes produits par des réactions possibles de la plante, suite à l'insertion d'un ou des gènes introduits dans son génome [95]. Les chercheurs ont démontré que, lors du développement d'un OGM, l'utilisation de gènes liés à des allergènes connus leur conférait les mêmes caractéristiques que ces derniers. La noix de Brésil est un aliment responsable des allergies chez certains individus. Par conséquent, on a dû soumettre le soja OGM qui a été créé à partir d'un des gènes de la noix à une multitude de tests pour vérifier si la protéine produite par ce gène avait conservé son pouvoir allergène. Pour le savoir, les chercheurs ont mis en contact la dite protéine avec du sérum de patients connus pour être allergiques. Il y a eu réaction immunitaire immédiate. Pour cette raison, ce nouveau soja n'a pas été commercialisé, même s'il avait été développé pour l'alimentation animale [96]. Aucune donnée ne

Tableau 6. Études sur l'effet du l'alimentation contenant des OGMs sur les animaux et le lait de vache.

Animal	Nourriture OGM	Effets	Référence
Veau	Maïs Bt	La protéine Cry1Ab des fèces (excréments) a été dégradée rapidement. Des traces de la protéine ont été détectées dans le contenu du tractus intestinal, mais pas dans le foie, la rate, le rein, les muscles ou les ganglions. Ces résultats suggèrent que des traces de Cry1Ab survivent au passage dans le tractus intestinal, mais ne sont pas transmises aux organes.	84
Vache laitière	Maïs tolérant au glyphosate	Pas de différence sur l'appétit des vaches, la quantité et la composition de lait produit, le nombre de cellules somatiques ou la quantité d'urée excrétée.	85
	Soja tolérant au glyphosate	Le soja GM n'a pas affecté la quantité de nourriture ingérée, la digestibilité, la proportion d'acides gras dans le rumen, la quantité d'azote excrété, la qualité et la quantité de lait produit.	86
	Maïs Bt	Pas de différence dans les caractéristiques de fermentation du rumen, la quantité de lait produit et sa composition.	84

Suite du tableau 06

	Maïs Bt	L'étude démontre que l'incorporation du facteur Bt n'aurait pas d'effet sur la production laitière des bovins en lactation et sur le gain de poids quotidien des animaux à l'engraissement.	87
	Maïs Bt	La quantité de nourriture ingérée, la quantité de lait produit et sa composition ont été similaires. De plus, il n'y a eu aucune différence de «dégradabilité» dans le rumen.	88
Bovin de boucherie	Maïs tolérant au glyphosate	Aucune différence significative n'a été notée sur la quantité de nourriture ingérée, le taux de croissance, le poids. Des différences subtiles ont été remarquées concernant l'épaisseur de la couche de graisse. Aucune bête n'a contracté de maladies. La signification clinique de la diminution de la couche de graisse reste à établir. L'insertion du gène de tolérance au glyphosate n'a pas d'effet significatif sur la valeur nutritive du maïs.	89
	Maïs Bt	Aucune différence n'a été notée sur l'acidité du rumen, sur le ratio acétate/proprionate et sur la digestibilité. L'incorporation du gène Bt n'a pas eu d'effet sur les caractéristiques des bœufs.	87

Suite du tableau 06

Porc	Maïs tolérant au glyphosate	L'ADN ingéré, d'origine OGM ou non OGM, n'est pas totalement dégradé par la digestion chez les porcs.	90
	Maïs Bt	L'ADN d'origine OGM ingéré et la protéine d'origine OGM correspondante (Cry1Ab), ne sont pas totalement dégradés dans le tractus gastro-intestinal des animaux testés. Les résultats ont montré la présence de forme détectable d'ADN d'origine OGM et non OGM par la méthode PCR et la présence de la protéine OGM par des épreuves immunologiques. Aucun fragment d'ADN de maïs d'origine OGM ou non OGM n'a cependant été détecté dans le sang périphérique.	91
	Soja GM	Les auteurs rapportent ne pas avoir détecté de fragments d'ADN ou de protéines d'origine OGM dans les échantillons de muscles testés provenant des porcs nourris avec ce soja OGM	92
	Maïs GM	Ce maïs GM a cinq fois plus de phosphore disponible ou digestible que le maïs normal ; sa teneur réduite en phytate a réduit la quantité de phosphore excrétée par les porcs.	93

Suite du tableau 06

	Soja et maïs GM	La diète à base de soja ou maïs GM est essentiellement équivalente en composition et en valeur nutritionnelle à la diète à base de grains conventionnels pour les porcs en engraissement.	94
Volaille	Soja GM	La diète administrée à base de soja GM s'est révélée équivalente du point de vue de la valeur nutritive à la diète à base de soja non GM à la lumière de l'absence de différences observées dans les caractéristiques des poulets.	86

permet d'affirmer que les OGM sont la cause d'une augmentation des allergies alimentaires [95].

IV-2.2. Risques environnementaux

IV-2.2.1. Toxicité pour les insectes : exemple du maïs Bt

La transgénèse permet de créer des plantes qui libèrent, en quelque sorte, leur propre insecticide. En effet, ces plantes GM produisent dans leurs tissus une toxine pour se défendre contre certains insectes nuisibles. La toxine peut se retrouver dans toutes les parties de la plante, dont le feuillage, les racines et le pollen. Cependant, certains se questionnent sur les risques que courent les insectes non nuisibles à la plante GM. Par exemple, les abeilles risquent d'être affectées par la toxine lorsqu'elles butinent le pollen de ces plantes transgéniques. Les vers de terre et les microorganismes du sol doivent-ils craindre la décomposition de ces plantes GM et la présence de la toxine dans la terre? Pour le moment, il semble que non. Les substances libérées par ces plantes transgéniques seraient spécifiques à certains insectes et ne mettraient pas en danger les autres organismes. Mais chaque cas doit être évalué séparément, selon le type de toxine libérée par la plante GM et les organismes en présence.

Les insectes nuisibles causent des dommages importants aux plantes et peuvent détruire des cultures entières. Par exemple, la pyrale du maïs détruit les plantes de maïs en se nourrissant de leur feuillage et des grains. Une variété de maïs-grain transgénique cultivé notamment au Québec porte le nom de maïs Bt pour *Bacillus thuringiensis* qui est une bactérie présente dans la nature et responsable de la sécrétion d'une protéine (protéine Cry), toxique pour la pyrale du maïs. Le gène qui permet l'expression de cette protéine a été introduit dans le génome de certaines variétés de maïs pour les rendre résistantes à l'insecte ravageur. Mais la protéine Bt présente-t-elle un risque pour les insectes qui se nourrissent du pollen de ce maïs? [97]. Une étude publiée en 1999 suggère que la protéine Cry présente dans le pollen de maïs Bt nuit aux larves du papillon monarque. Mais les conclusions de cette étude, réalisée seulement en laboratoire, ont par la suite été remises en question par des recherches en champ. Selon ces dernières, la protéine Cry n'a pas plus d'effet que les autres insecticides sur les larves de monarque [98].

IV-2.2.2. Insectes résistants

Les agriculteurs utilisent souvent les mêmes insecticides pour se débarrasser des insectes nuisibles dans leurs champs. Mais l'utilisation croissante et continue des mêmes insecticides peut favoriser l'émergence de populations d'insectes tolérants à ces produits. En effet, au sein d'une population d'insectes, certains individus peuvent être dotés du gène qui, par hasard, leur procure une résistance à l'insecticide utilisé par l'agriculteur. Lors de l'épandage du produit, ces individus survivent et se multiplient, ce qui favorise l'apparition de populations résistantes et compromet l'efficacité des insecticides. Dans les champs de plantes GM pour résister aux insectes nuisibles, les insectes se retrouvent continuellement en contact avec le même agent toxique sécrété par la plante. Il existe donc un risque potentiel de voir également apparaître des populations d'insectes résistants dans les champs d'OGM, une éventualité que les chercheurs examinent de près.

La variété de maïs-grain transgénique (maïs Bt), cultivé au Québec et mentionnée précédemment, sécrète une protéine toxique pour la pyrale du maïs et de ce fait rend le mais Bt résistant à l'insecte ravageur. Cependant, un organisme exposé de façon continue à un agent peut devenir résistant à cet agent. Les populations de pyrales risquent-elles, à long terme, de devenir résistantes à la protéine Bt? Deux études récentes portant sur la résistance des insectes cibles au Bt relèvent peu ou pas de cas de résistance dans les champs de maïs Bt [99]. Mais, la question mérite d'être plus longuement étudiée. En effet, l'émergence de populations résistantes au Bt ferait perdre toute efficacité non seulement aux plantes Bt, mais aussi aux biopesticides à base de Bt, utilisés notamment en agriculture biologique. Les pesticides à base de Bt, des produits sélectifs, biodégradables et non toxiques pour les animaux et les humains, devraient alors être remplacés par des pesticides chimiques, plus néfastes pour l'environnement et la santé humaine [100].

IV-2.2.3. Dispersion de gènes

De nombreux doutes sont formulés quant à la possibilité de prolifération de plantes GM dans la nature de façon incontrôlée. Les possibilités de dissémination évoquées sont une pollution directe par dissémination des semences de plantes transgéniques appelée 'pollution transgénique' d'une part, et une pollution indirecte par

croisements interspécifiques entre plantes transgéniques et espèces sauvages proches (cas du colza et de la ravenelle), par croisements intraspécifiques à grandes distances (par le pollen ou les insectes) [101].

IV-2.2.4. Mauvaises herbes tolérantes

Les agriculteurs utilisent souvent les mêmes herbicides pour se débarrasser des mauvaises herbes dans leurs champs. Or, l'utilisation croissante et continue des mêmes herbicides peut favoriser l'apparition de mauvaises herbes tolérantes à ces produits. En effet, au sein d'une population de mauvaises herbes, certains individus peuvent être dotés du gène qui, par hasard, leur procure une résistance à l'herbicide utilisé par l'agriculteur. Lors de l'épandage du produit, ces individus survivent et se multiplient, ce qui favorise l'apparition de populations résistantes et compromet l'efficacité des herbicides. Dans les champs de plantes GM pour tolérer un herbicide, les agriculteurs utilisent toujours le même produit pour réprimer les mauvaises herbes. Il existe donc un risque potentiel de voir également apparaître des mauvaises herbes résistantes dans les champs d'OGM, une éventualité que les chercheurs examinent de près [102].

La culture du canola GM est exemple qui illustre bien l'apparition des mauvais herebes tolérantes. Trois variétés de canola tolérant aux herbicides sont actuellement sur le marché au Québec : un canola tolérant à l'herbicide glyphosate, un canola tolérant à l'herbicide glufosinate d'ammonium et un canola tolérant à l'herbicide imidazoline. La culture de canola transgénique comporte deux risques potentiels pour l'environnement. D'une part et Comme le canola disperse facilement son pollen, les plantes transgéniques peuvent produire une descendance tolérante aux herbicides en se croisant entre eux ou en se reproduisant avec des espèces sauvages sexuellement apparentées, notamment la « navette » (Brassica rapa). Par exemple, un plant de canola tolérant à l'herbicide glyphosate et un autre tolérant au glufosinate d'ammonium peuvent, en se croisant, produire une descendance tolérante aux deux herbicides. Un hybride issu de ce croisement peut ensuite se croiser avec du canola tolérant à l'imidazoline et produire une repousse résistante aux trois herbicides. Dautre part Les graines de canola non récoltées qui demeurent au champ peuvent germer jusqu'à cinq ans après la culture. Cela pose problème, surtout quand il s'agit de repousses ayant accumulé une tolérance aux trois herbicides (glyphosate, glufosinate d'ammonium, imidazoline). La gestion de telles repousses peut devenir complexe, et les agriculteurs

se tournent alors vers des pratiques culturales plus nocives pour l'environnement. En effet, ces repousses doivent être réprimées à l'aide d'un quatrième herbicide au mode d'action différent [103].

IV-2.2.5. Risques environnementaux potentiels associés aux poissons GM

Les poissons mâles GM pourraient avoir un avantage reproductif sur les autres poissons. Cette situation pourrait assurer la transmission du transgène à une nouvelle génération de poissons dont la capacité de reproduction pourrait être modifiée, soit à la hausse, soit à la baisse, selon le gène introduit et l'espèce de poisson. Ces effets pourraient menacer la survie des populations sauvages [104].

Les saumons à croissance rapide pourraient entrer en concurrence avec les poissons non transgéniques et s'accaparer les ressources alimentaires et les lieux de reproduction, et pourraient avoir également de la difficulté à s'adapter à leur milieu et à se reproduire. Par ailleurs, poussés par un fort désir de se nourrir, les saumons GM ne fuiraient pas leurs prédateurs, mettant ainsi leur vie en danger. Comme les chercheurs n'ont pas encore cerné tous les impacts environnementaux associés aux poissons transgéniques, ils suggèrent d'appliquer quelques mesures de prévention lors de l'élevage de ces derniers : utiliser des femelles stériles, et limiter l'élevage à des installations qui n'offrent aucune possibilité de contact avec le milieu aquatique ouvert [104].

IV-2.3. Risques liés à l'appropriation du vivant

A l'origine, le brevet est un outil de politique publique qui vise à protéger les innovations de produits et de procédés en octroyant à l'inventeur un monopole de fabrication, d'utilisation et de vente, pour une durée généralement fixée à 20 ans. Son attribution se base sur la nouveauté de l'idée brevetée, l'inventivité dans sa conception et le potentiel industriel de son utilisation. Pour permettre le brevet des organismes vivant il y a eu une dérive du droit commun des brevets pour les inventions biotechnologiques. La privatisation à travers les brevets sur les biotechnologies du génie génétique touche à la fois la matière vivante, sa reproduction et les connaissances qui s'y rapportent. Les produits non issus de ces biotechnologies ne pouvant prétendre à une appropriation par brevet, on comprend alors l'intérêt économique pour les firmes qui dominent les secteurs agroalimentaires et de la santé à promouvoir, malgré les incertitudes et les risques, la production d'OGM, au détriment

des filières classiques à rentabilité plus faible. Aujourd'hui, une poignée de grandes sociétés transnationales (les mêmes firmes qui contrôlent le marché des OGM) se sont constituées d'importantes banques de gènes privées comme de nombreux portefeuilles de brevets. Les semences transgéniques brevetées sont souvent comparées à des logiciels informatiques du point de vue de la propriété intellectuelle, elles ne peuvent légalement être multipliées par leurs utilisateurs. D'une année sur l'autre, les agriculteurs sont contraints par la loi d'acheter leurs semences au lieu de les reproduire. Sous la réglementation du Traité sur les ressources génétiques des plantes de la FAO, conclu en novembre 2001, les semences et autre matériel génétique peuvent être brevetés, dés lors qu'ils ont été d'une manière ou d'une autre modifiés [5].

Chapitre V :

Réglementation et détection des OGMs

V-1. Réglementation

V-1.1. Historique

C'est le bilan entre avantages décisifs et risques prévisibles qui permet à chacun de se forger une opinion et de défendre la position qui lui paraît la mieux adapté à l'avenir de l'humanité. Cependant, comme ces avantages et ces inconvénients ne sont pas des valeurs mésurables, les positions sont très variées et ont très vite nécesité la mise en place de dispositions réglementant l'expérimentation et surtout les retombés de ces expérimentations dans la vie quotidienne. Le concept d'évaluation du risque a été examiné pour la première fois en 1975 lors de la conférence d'Asilomar (Californie) [105]. La découverte des possibilités de recombinaison de l'ADN avait suscité des inquiétudes parmi les chercheurs qui craignaient que l'on puisse créer des virus recombinants qui, s'ils s'échappaient dans l'environnement, constitueraient une menace pour la santé publique. Quatorze mois après avoir décidé d'un moratoire volontaire au sujet des recherches faisant appel aux techniques de recombinaison de l'ADN, des principes directeurs relatifs au confinement physique et biologique des expériences comportant un niveau de risque élevé ont été rédigés. Ces principes directeurs ont servi de base aux directives élaborées en 1976 aux États-unis d'Amérique par la Commission consultative sur l'ADN recombinant (RAC) des National Institutes of Health à propos de la recherche biotechnologique moderne. D'autres pays ont suivi peu après [106]. Les premières prescriptions légales avaient pour but d'éviter la dissémination accidentelle dans l'environnement de micro-organismes provenant de laboratoires de recherche. Dans la même ligne, une réglementation relative à l'« usage confiné » et à la dissémination délibérée des OGM a été élaborée, comme par exemple les réglementations de l'UE de 1990 comportant deux directives : la directive 20/219 soumet en vue de la protection de la santé humaine et de l'environnement, tous les laboratoires et établissements industriels à un régime de déclaration ou d'autorisation selon le degré de risque en cause pour les opérations comportant l'utilisation de micro-organismes GM. La directive 90/220 soumet également toute dissémination d'OGM et toute mise sur le marché de produit comportant des OGM à une procédure d'autorisation préalable. La transposition en droit français de ces deux directives communautaires s'est faite par voie législative et grâce à l'adoption, le 13 juillet 1992, d'une loi relative au contrôle de l'utilisation et de la dissémination d'OGM. Cette loi organise l'ensemble du dispositif national autour des deux commissions : la commission

du génie génétique ou CGG sous l'égide du ministére de l'enseignement supérieur, de la recherche et de la technologie, et la commission du génie biomoléculaire ou CGB qui dépend du ministére de l'agriculture et de celui de l'environnement. La premiére commission comprend 20 membres et sa compétence s'exerce principalement sur les laboratoires de recherche par le biais d'agréments, la seconde, de dix-huit membres seulement, gére préférentiellement les applications : essais en champs et commercialisation des produits. Depuis lors, de nombreux pays ont mis en place une réglementation particulière qui impose une évaluation rigoureuse du risque préalablement à la mise sur le marché de tout OGM ou AGM destiné à être disséminé dans l'environnement ou utilisé dans l'alimentation. Si, pour beaucoup d'organismes nationaux de réglementation l'évaluation de la sécurité des OGM et AGM se fonde sur des notions communes, l'appareil réglementaire mis en place diffère selon les pays et ces différences ont conduit à des désaccords et à une certaine confusion dans sa mise en œuvre. Pour une description plus poussée des étapes de l'évaluation de la sécurité sanitaire, L'analyse des risques liés aux OGM et AGM comporte un volet évaluation, un volet gestion, ainsi qu'un volet communication et pour rendre la procédure cohérente au niveau international, un certain nombre d'organismes internationaux de réglementation et de normalisation ont introduit des normes communes. Il s'agit notamment de normes relatives à l'évaluation de la sécurité des OGM et AGM pour la santé humaine et l'environnement et à la notification de leurs mouvements transfrontaliers. Ce projet d'uniformisation des normes internationales relatives à l'évaluation du risque pourrait passer pour une gageure car on peut immanquablement s'attendre à ce que les pays prennent des décisions différentes quant au champ d'application de cette mesure, en particulier sur le point de savoir si elle doit prendre aussi en compte les aspects sociaux ou économiques.

Le règlement européen imposant l'obligation d'un étiquetage spécifique mentionnant la présence éventuelle d'organismes génétiquement modifiés dans les produits destinés à la consommation humaine a été adopté au mois de juin 1997. Dans sa mise en œuvre, l'etiquetage est désormais obligatoire pour tous les aliments et ingredients alimentaires contenant au moins 1% d'organismes génétiquement modifiés. Cette stratégie d'information pose aujourd'hui le probléme de la tracabilité, qui est loin d'être résolu.

Contrairement à ce qui se passe en Europe les bases légales régissant aux Etats-Unis les agréments de végétaux génétiquement modifiés ne relèvent pas de textes spécifiques mais d'une adaptation de lois existantes régissant les secteurs de la santé et de l'environnement. Ainsi, trois agences fédérales interviennent dans les procédures d'agrément : le ministère américain de l'Agriculture, la FDA (Food and Drug Administration) et le ministère américain de l'Environnement. Dont la FDA a pris position contre l'étiquetage obligatoire des produits issus du génie génétique, les assimilant à des aliments traditionnels [107].

En janvier 2000, le Protocole de Cartagena sur la Biosécurité (entrée en vigueur en 2003) a été adopté, réglementant au niveau international le transfert, le conditionnement et l'utilisation des organismes génétiquement modifiés (OGM) particulièrement pour réguler les mouvements transfrontières et l'importation des OGM. Les parties signataires du Protocole, reconnaissent ainsi le fait que les plantes génétiquement modifiées sont fondamentalement différentes des plantes obtenues par sélections conventionnelles et qu'elles portent des risques nouveaux ce qui oblige à mettre en place un encadrement législatif particulier. Les pays ont toujours le droit souverain de réglementer les OGM et leurs produits issus d'OGM au niveau national : le Protocole établit maintenant le cadre de réglementations et de normes internationales. Le principe de précaution a été réaffirmé et intégré dans les procédures de prise de décision du Protocole. Ce qui signifie qu'en absence de certitudes scientifiques, les Parties doivent exercer une attitude prudente et sont autorisées à interdire ou à restreindre l'importation des OGM au regard des effets néfastes potentiels. Les Parties signataires du Protocole ont l'obligation de réglementer les OGM au niveau national, ce qui implique que les pays mettent en œuvre des lois et réglementations de biosécurité avec la capacité de contrôler tous les OGM qui traverseront les frontières nationales, de tracer et d'évaluer la sécurité des OGM importés ou produits.

En Algérie, un arrêté du Ministère de l'agriculture a été promulgué en décembre 2000 et avait pour objet d'interdire l'importation, la distribution, la commercialisation et l'utilisation du matériel végétal génétiquement modifié. Bien qu'appliquant le principe de précaution, la mise en œuvre de cet arrêté, obligeant la traçabilité des OGM et l'étiquetage, présente de nombreuses contraintes technologiques, législatives et économiques que le pays doit surmonter. Par ailleurs, un projet de loi visant à réglementer l'utilisation des organismes génétiquement modifiés, a été approuvée par

le Conseil du Gouvernement et est en cours de discussion à l'Assemblée Populaire Nationale. Des projets institutionnels et associatifs ont été élaborés afin de participer au processus de biosécurité aussi bien pour sa mise en place que pour l'implication de tous les acteurs et secteurs concernés. A cet effet, le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'environnement, par le biais de la sous direction de la diversité biologique, pilote un projet de développement du cadre national de biosécurité, Ce projet porte sur quatre points essentiels pour la mise en œuvre du Protocole : instruments juridiques, systèmes administratifs, procédures d'évaluation et de gestion des risques et processus de consultation de la société civile.

V-1.2. Cadre juridique et techniques de l'évaluation

L'analyse des risques pour la santé et l'environnement est l'élément fondamental et préalable à toute autorisation de mise sur le marché d'OGM (directive CEE 90/220, loi française 92/654, règlement CE 258/97). L'évaluation d'un OGM vise une modification génétique individuelle ou « événement de transformation », c'est-à-dire une construction génétique insérée à un emplacement particulier du génome. En France, l'analyse des risques liés à la dissémination d'un OGM dans l'environnement est réalisée par la CGB (commission du génie biomoléculaire) pour les questions environnementales et par l'AFSSA (agence française de sécurité sanitaire des aliments) pour les aspects alimentaires (alimentation humaine et animale). L'évaluation est effectue au cas par cas et tient compte de nombreux éléments dont la nature du transgène, la construction génétique, l'espèce et la variété, et l'usage qui en sera fait (alimentaire, industriel ou autre) [2].

V-1.3. OGMs importés ou cultivés

La dissémination volontaire des OGM dans l'environnement est réglementée par la directive CE 90/220 et leur utilisation dans l'alimentation ainsi que celle de leurs produits dérivés est régie par le règlement CE 258/97. Certaines variétés de maïs résistantes à la pyrale (un parasite) et/ou tolérantes à un herbicide sont autorisées en culture et /ou en importation en vue de leur transformation industrielle. Pour le soja transgénique, seul l'importation est autorisée dans un but de transformation industrielle. Une variété de tabac et deux de chicorée sont autorisés en culture uniquement pour la production de semences à l'exportation. Sont aussi autorisés des œillets présentant une tenue en vase prolongé uniquement pour la production de fleurs coupées.

Certains OGMs autorisés dans l'Union européenne peuvent être suspendus en France (moratoire colza) [2].

V-1.4. Etiquetage et la traçabilité des OGMs

Le règlement CE 258/97 prévoit que l'étiquetage doit indiquer au niveau des produits finis destinés à l'alimentation humaine la présence d'OGM et de leurs produits dérivés. À l'heure actuelle, il n'existe pas encor d'OGM en tant que tels (melon, tomate...) sur le marché en Europe. En revanche, des produits dérivés d'OGM peuvent être utilisés aujourd'hui en tant qu'aliments ou ingrédients (farine de maïs, semoule de maïs amidon de maïs et liants amylacés), amidon de maïs (sirop glucose, dextrose, maltodextrine....), farine de soja, protéine de soja, matières grasses végétales (maïs, soja, colza ». Les mentions d'étiquetage (règlement CE 1139/98 et CE 49/2000) prévoient une tolérance pour répondre au problème de « contamination » fortuites en OGM (mélanges involontaires de variétés non transgéniques avec des OGM par dissémination de pollen par le vent, certaines technologiques ....). Le seuil de tolérance définit par ingrédient (pour chaque espèce végétale) a été fixé à 1%. Les denrées et ingrédients alimentaires contenants des additifs et arômes produits à partir d'organismes génétiquement modifies sont soumis aux mêmes exigences d'étiquetage (règlement CE 50/2000) [2].

La traçabilité des OGMs depuis les matières première consiste au suivi documentaire qui permet d'identifier l'origine et la nature ainsi que la destination des produits au sein d'une entreprise et à chaque transaction commerciale. En effet le dispositif communautaire en matière d'étiquetage porte aujourd'hui d'une part sur les semences et d'autre part sur les produits finis. En revanche, entre les deux extrémités de la filière, il n'y a pas encore d'obligation réglementaire d'indiquer la mention « génétiquement modifié ». Ces lacunes entraînent des Difficultés pour les fabricants de produits alimentaires de disposer d'une information précise quant au caractère OGM des ingrédients qui leur sont livrés et par conséquent d'appliquer un étiquetage fiable des produits finis. La traçabilité des OGM s'inscrit pour l'instant dans une démarche volontaire dans l'attente de nouvelles dispositions réglementaires [109].

Pour détecter les OGMs, on quantifie l'ADN ou les protéines issues d'OGM (les deux cibles retenues par la réglementation) dans les matières premières, les

ingrédients ou les produits finis, analyses qui s'inscrivent dans une démarche de traçabilité. Les pouvoirs publics disposent à la foie de laboratoires pour analyser les produits et de moyens classiques de contrôle (vérification des documents, factures et évaluation de la fiabilité de la traçabilité des professionnels) [108].

V-2. Détection des OGMs

V-2.1. Détection de produit de la modification

Il s'agit le plus souvent de rechercher la protéine exprimée par le transgène par des tests immunologiques ou phénotypiques. Ces tests sont majoritairement utilisés par les pays producteurs et exportateurs de graines et fèves tel que ceux d'Amérique du nord.

V-2.1.1. Tests immunologiques

La condition nécessaire est de disposer d'anticorps correspondant à la protéine recherchée. Ce n'est pas toujours possible dans les cas ou la modification génétique ne conduit pas à la synthèse d'une protéine nouvelle mais ou contraire veut diminuer ou supprimer une protéine initialement présente (cas de la tomate à maturation retardée) ou dans le cas où la construction génétique conduit à la synthèse d'une protéine produite dans un organe différent de l'organe soumis à la détection. Les tests immunologiques présentent l'intérêt d'être plus faciles à réaliser et moins coûteux. Cependant, la principale limite de cette méthode et qu'elle ne peut s'appliquer que sur les matières premières ou sur les produits peut transformés. En effet, les traitements notamment thermiques et chimique vont modifier la conformation des protéines voir les dégrader, et rendent ainsi impossible de ce genre d'analyse. Les tests immunologiques sont très largement employés sous forme de dip stick (languette de papier portant les anticorps et plongés dans la solution à tester pour la présence de l'antigène) ou de tests ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Le dip stick est utilisable en quelque dizaine de minutes au champ comme au laboratoire, soit plante par plante, dans le cas d'une production de semence OGM par exemple, soit par batch (assemblage de plusieurs plantes ou de graines) pour rechercher la présence accidentelle d'OGM dans des lots de graines. On peut détecter avec ces méthodes au moins jusqu'à 0.5% d'OGM [2].

V-2.1.2. Tests phénotypiques

Une partie de la certification AOSCA (Association of Official Seed Certifying Agencies), particulièrement dans le cas du soja, est basée sur l'effet de l'apport d'herbicide sur plantules issues de lots de graines censés ne pas contenir d'OGM. Ces tests phénotypiques sont toutefois restreints aux phénotypes aisément contrôlables comme une tolérance à un herbicide. Ils ne peuvent en outre être appliqués qu'à du matériel vivant, dépendant dans ce cas de la capacité germinative des graines. L'intérêt des tests phénotypiques et immunologiques ne doit pas être sous- estimé dés lors qu'une traçabilité fiable d'origine et de procédés sera opérationnelle. Ces tests peuvent en effet être utilisés pour la certification des produits purs à l'entrée d'une filière [2].

V-2.2. Détection de la modification au niveau de l'ADN

Parmi touts les méthodes d'amplification de l'ADN, la technique de PCR est la plus utilisé dans le domaine de la détection des OGM. Pour mettre en œuvre cette technique, il est nécessaire de disposer : D'ADN en quantité suffisante et suffisamment purifié car la réaction PCR est sensible à la présence d'inhibiteurs coextraits avec les acides nucléiques. Le protocole d'extraction et de purification de l'ADN est adapté à chaque type de produit. Egalement de couple d'amorces (oligonucléotides spécifiques) qui permettent d'amplifier spécifiquement le fragment recherché ; afin de détecter de faible nombres de copies d'ADN, les conditions d'amplification doivent être optimisées. Et enfin de standards témoins OGM pour interpréter les résultats. Les standards de Calibration actuels sont à base de semences broyées, mais des standards sous forme d'ADN génomique ou plasmique peuvent être également utilisés.

V-2.2.1. Tests qualitatifs

Ils sont fondés sur la capacité d'amplifier par PCR une séquence particulière d'une construction insérée dans un OGM. Selon les amorces utilisés, on peut (: Indiquer simplement la présence d'OGM sans plus de précision. Ce test dit de « criblage » utilise les amorces des régions de régulation P35S ou Tnos identiques chez touts les OGM autorisés en Europe. D'autre part, ils permettent d'identifier le type de construction présent dans l'OGM par l'amplification d'une partie de son transgène (amorce spécifique), celui-ci pouvant être le même dans des OGM différents. Enfin ils permettent d'identifier précisément l'OGM par amplification des fragments de bordure encore plus

spécifiques que celles du transgène. Pour l'instant, seuls les laboratoires officiels chargés du contrôle des OGM disposent d'amorces de bordure pour quelques OGM. La modification de la directive 90/220 améliore les procédures de mise à disposition par les firmes de biotechnologie de ces amorces de bordure ainsi que les standards nécessaires à l'analyse. Par ailleurs un important programme européen a été mis en place pour développer des tests quantitatifs basés sur les fragments de bordure. Enfin, il est utile de remarquer que la vérification de la présence d'un OGM non autorisé suppose de connaître au préalable les caractéristiques de cet OGM et de disposer des amorces spécifiques ainsi que du standard témoin. Un registre international (en cours d'élaboration) des outils analytiques sera très utile pour effectuer ce type de recherche [109].

V-2.2.2. Tests quantitatifs

Ils visent à connaître le pourcentage d'OGM présent dans un échantillon en estimant par PCR la quantité d'ADN cible présent dans un échantillon, parallèlement à une gamme étalon. Rappelons que la détermination du pourcentage d'OGM dans un produit fini est définie par rapport à chaque espèce végétale. Par conséquent, hormis les produits purs non transformés comme les graines et les semences, la détermination de la teneur en OGM d'une matrice nécessite deux quantifications : La première vise à connaître la teneur en espèce végétale en déterminant le nombre de copies d'une cible d'ADN spécifique de l'espèce végétale. Cela suppose de disposer pour les développements d'un certain nombre de variétés représentatives de la diversité mondiale de l'espèce considérée, afin de vérifier la conservation des séquences cibles et de leur nombre de copies. La seconde vise à déterminer pour le même échantillon le nombre de copies d'une cible d'ADN spécifiques du ou des OGM de cette espèce présente. les amorces utilisées pour le criblage (p35S) ne peuvent être utilisées pour la quantification que dans les produits purs (une seule espèce végétale et même un seule OGM car, par exemple, le nombre de copie P 35S dans les différents OGM issus du maïs n'est pas le même). les amorces spécifiques de l'insert peuvent être utilisées en PCR quantitative dans un mélange tant qu'un autre OGM avec les mêmes séquences internes n'est pas autorisé au sein de l'UE. Seuls les tests basés sur les fragments de bordure permettent la quantification exacte dans les produits mixtes, pourvu que les OGM ne résultent pas d'un empilage de gène (*gène stacking*), c'est-à-dire d'un croisement entre deux OGM préalablement autorisés.

Le rapport du nombre de copies d'OGM d'une même espèce végétale sur le nombre de copies spécifiques de l'espèce donne la teneur en OGM par espèce. La Variabilité finale de la détection sera donc fonction de celle de chacun des tests PCR qui doivent avoir été optimisés. Pour déterminer le nombre de copies d'OGM d'une espèce végétale et le nombre de copies génome de cette même espèce, deux approches peuvent être envisagées : Les différents types de PCR quantitatives dites en « point final » mesurent les quantités d'amplicons après la PCR par analyse d'image après une électrophorèse en gel d'agarose en présence d'agents intercalant de l'ADN ou après électrophorèse sur capillaire. Pour les OGM, la méthode de PCR compétitive a été utilisée mais est progressivement remplacée par les PCR quantitatives en temps réel ; elle est encore utilisée pour savoir si la teneur en OGM est au-dessus ou en dessous d'un certain seuil. Et Les différents types de PCR quantitatives dites en « temps réel » mesurent en continu les quantités d'amplicons pendant la PCR [110].

Chapitre VI :

Conclusion et perspectives

Les domaines des recherches sur la transgénèse animale et végétale est en pleine évolution. L'étendue de son champ d'application est extrêmement vaste. Elle commence à peine à être appréciée par le monde agricole et les industriels, ainsi que par les autorités responsables dans les divers pays où sont pratiqués les essais de transfert génétique sur les animaux et les plantes. Dés lors, s'il apparaît possible et d'ailleurs souhaitable de dégager certaines conclusions relatives aux grandes orientations qu'emprunte cette nouvelle démarche technologique, il convient d'adopter une attitude de prudence : nous somme confrontés ici à un aspect des recherches en biologie fondamentale et appliquée qui revêt une grande complexité. Telle remarque qui semble pertinente aujourd'hui peut s'avérer caduque à terme assez rapproché. Les techniques de transgénèse représente un aboutissement, sans doute l'un des plus importants, des progrès réalisés au cours de ces quinze années dans le domaine du génie génétique, mais elles apparaissent également comme une conséquence de certains recherches sur la biologie cellulaire, la reproduction, la biologie du développement, etc. Leur réalisation, que ce soit à des fins purement expérimentales (pour mieux comprendre le fonctionnement de certaines gènes) ou pour les applications définies, a demandé l'acquisition de connaissances variées on science de la vie. En effet l'expression artificielle d'un caractère nouveau et stable par transfert de gènes étrangers chez un animal ou une plante tire abondamment parti des données obtenues antérieurement sur les éléments régulateurs des gènes (promoteurs, amplificateurs) ou le déterminisme génétique de certaines protéines importantes dans l'économie physiologiques. Mais ils reposent aussi sur toute une série de connaissances qui ont pu être accumulées concernant les stades précoces de l'embryogénèse, la différentiation tissulaire, ou encore les mécanismes de totipotence végétale et de régénération, etc. Pour autant subsistent des imperfections, voir des carences, tant ou plan fondamental que technique : Ainsi, s'agissant du règne animal, les rendements d'obtention des individus transgéniques sont souvent faibles ; peu d'animaux transgéniques survivent après intervention sur les ovocytes, ou seule une petite proportion des membres d'une portée comporte le trait additionnel dans son génome. Le transfert dans les ovocytes préfécondés suivi d'une plantation chez une femelle pré-gravide demeure une opération assez lourde expérimentalement.

En ce qui concerne le monde végétal, si ces difficultés ne se présentent pas du fait qu'on peut transférer un gène dans de simples cellules embryonnaires maintenues en culture et régénérables, les limitations proviennent davantage d'une connaissance

encore imparfaite de la génétique moléculaire des plantes. Bien que des progrès aient été enregistrés en ce domaine, les données sur l'organisation du génome des plantes supérieures sont encore assez rudimentaires et on a peu d'informations sur les éléments régulateurs clés, tels que les amplificateurs. Mais d'une manière plus générale, l'une des difficultés majeures dans la pratique de la transgénèse chez les organismes supérieurs est qu'on ne maîtrise pas la topographie d'intégration des gènes expérimentalement transférés. Entendons par là que, souvent, l'intégration dans le génome de l'hôte se fait au hasard, ce qui peut avoir Des conséquences nuisibles à coté des effets bénéfiques recherchés : sans doute, faut –il imputer à cette situation le fait que les animaux transgéniques sont assez fréquemment stériles et que les plantes transgéniques sont parfois rabougries et peu productives. Le déterminisme génétique des grandes fonctions physiologiques dont la connaissance serait pourtant essentielle, si l'on veut accroître le spectre des applications de la transgénèse, demeure insuffisamment appréhendé. Enfin et avant de quitter le chapitre des perspectives de la transgénèse au plan expérimental, il convient de s'arrêter un instant sur l'une de ses voies d'application la plus récente et, sans doute aussi, la plus spectaculaire. Nous avons vu en effet que l'on ne maîtrise généralement pas les modalités d'intégration, donc de recombinaison du transgène dans les chromosomes de l'hôte, animale ou plante. Cette remarque est toutefois battue en brèche dans un cas particulier dont les conséquences devraient s'avérer des plus importantes : il s'agit de la recombinaison homologue. Cette technique permet notamment d'analyser, in vivo, l'influence d'un gène régulateur sur le développement d'un tissu ou d'un organe et d'apprécier dans quelle mesure l'intégrité de ce gène est, physiologiquement parlant, indispensable. Toutefois, et comme cela a déjà été souligné, elle est limitée à des interventions sur de petits animaux de laboratoire (souris, hamsters) les seuls à partir desquels on a pu isoler jusqu'à présent des cellules de type ES. D'où l'intérêt qui s'attache désormais à des études plus approfondies sur les cellules embryonnaires des grandes mammifères. En résumé, lorsque l'on examine les retombées de la transgénèse au plan fondamental, il apparaît que son application aux animaux de laboratoire a fait réaliser des progrès spectaculaires à l'étude des mécanismes de régulation génétique, à la connaissance des filiations embryogéniques et, d'une manière générale, à la biologie du développement. Chez les plantes, des connaissances nouvelles ont également été acquises sur quelques mécanismes physiologiques importants : biosynthèse de certaines protéines de réserves et processus de pigmentation, résistance à des nuisances, ou encore acquisition de la stérilité mâle, etc.

Il convient de remarquer que, dans la nature, l'apparition brusque au sein d'une population sensiblement « homogène », d'individus qui différent par leurs caractéristiques de ceux qui constituent la population dans son ensemble, individus parfois considérés comme « aberrants », peut-être à l'origine de nouvelles races ou de nouvelles variétés si ces caractéristiques peuvent se transmettre de manière stable à la descendance. Mais cette situation, liée à des mutations, est rare et aléatoire. La transgénèse expérimentale vise précisément à obtenir la transmission « maîtrisée » d'un caractère nouveau mais invariant dans toute la descendance. Il faut néanmoins noter que cet objectif n'est pas toujours atteint encore qu'on ne dispose pas du recul suffisant permettant de juger pleinement des résultats obtenus.

Dans le règne animal, les objectifs visés ont surtout été d'obtenir des animaux à viande plus maigre et de taille plus grand, de modifier la composition du lait, d'introduire des facteurs de résistance à divers agents infectieux ainsi qu'aux agressions physiques du milieux (basses températures, forte salinité, etc.), ou encore de provoquer dans la sécrétion lactée, la synthèse de protéines présentant un intérêt pharmacologique. Certains de ces résultats sont encourageants, dans la mesure où il s'avère que les techniques de transgénèse sont transposables des animaux de laboratoire aux animaux, d'élevage ou présentant un intérêt commercial et quelles que soient les espèces considérées (bovins, ovins, porcins, oiseaux, poissons, mollusques, etc.). Dans un très grand nombre de cas on a pu au moins prouver la « faisabilité » de la technique. Le bilan provisoire demeure toutefois modeste, Les obstacles qui demeurent, aux plans technique, (reproductibilité, effets secondaires, faibles rendements de transfert génétique) ou économiques (coûts prohibitifs) limitent encore par trop le passage du stade expérimental à celui des applications effectives. Il semble que se soit chez les poissons et les mollusques que pourraient se dessiner les premières applications les plus tangibles.

Dans le règne végétal, au contraire, on serait beaucoup plus proches des étapes terminales d'application et même peut-être d'une exploitation agro- industrielle. Les plantes présentent en effet l'énorme avantage sur les animaux d'être régénérables à partir de certains de leurs cellules, ce qui autorise une gamme étendue d'interventions et a permis d'obtenir déjà des végétaux qui pourraient s'avérer dans l'avenir d'une grande utilité. Ici, les propriétés les plus dignes d'intérêt paraissent d'être les suivantes : résistance aux pathogènes, aux prédateurs, ou aux herbicides, production accrue de

certaines protéines ou liquides carbohydrates, huiles essentielles, meilleure compatibilité des tissus végétaux pour en extraire des substances d'importance industrielle, longue conservation, etc. sans parler, bien entendu, des améliorations que les techniques de la transgénèse végétale sont susceptibles d'apporter dans le domaine de la bioconversion. Sans doute ces considération expliquent- elles pourquoi prés de 400 types distincts de plantes transgéniques ont été produit dans le monde depuis 6-7 ans et justifient les efforts importants qui ont été investis dans cette voie par de nombreuses firmes industrielles. Plusieurs demandes d'utilisation commerciale de nouvelles variétés transgéniques sont déposées. Les premières autorisations commencent à être accordées. Ainsi en est-il par exemple des tomates transgéniques comportant un gène leur permettant d'éviter la flétrissure après longue conservation. Toutefois, la transgénèse végétale ne doit pas être considérée comme un moyen permettant de résoudre tous les problèmes qui se posent au sélectionneur. La transgénèse peut donc être, considérée du moins au stade actuel des connaissances, comme un outil précieux qui devrait permettre d'améliorer puissamment la chaîne de création variétale et donc d'accroître d'une certaine manière la biodiversité, mais qui ne semble pas appelé à remplacer la démarche plus classique qui repose sur l'ensemble « croisements-sélections » mais plutôt à la compléter. D'où la nécessité de continuer à former ce que l'on pourrait définir comme des « généticiens généralistes ». Certains des avantages liés au développement accru de la transgénèse en tant que composante particulière des biotechnologies pourraient s'avérer riches de conséquences en général ; il ne s'agit guère moins en effet que de modifier l'économie mondiale par l'amélioration des systèmes de bioconversion des matières premières renouvelables, face à la diminution des réserves fossiles, de permettre l'utilisation de procédés moins consommateurs d'énergie (transformation des produits agricoles par les biocatalyseurs ou encore d'assurer un meilleur respect de l'environnement. Mais, de manière plus spécifique, la transgénèse devrait à coup sûr contribuer à la diminution des pertes, à la valorisation industrielle de certaines plantes par introduction de gènes facilitant leur convertibilité ou l'extraction des substances à haute valeur économique (levane saccharase de betterave ; amylase de l'orge). Elle devrait permettre d'améliorer la stabilité du produit au cours du stockage, de faciliter la production de molécules ou macromolécules d'intérêt industriel provenant des végétaux (Acides gras, polysaccharides, élastomères). Compte tenu des énormes investissements réalisés pour une meilleure utilisation des herbicides, insecticides et pesticides.

L'histoire des agriculteurs de Warangal en Inde qui ont vu leur rêve avec coton Bt se transformer en véritable cauchemar économique et environnemental, est un bon exemple qui illustre bien l'extrême sensibilité du débat sur les 0GM. Ces cultivateurs en Inde ont planté en 2002, du coton Bollgard Bt de Monsanto pour tenter de sortir de l'engrenage des pesticides dans lequel les avaient entraînés les monocultures de cotons hybrides. Ce coton Bt devait leur permettre -sans pulvérisation d'insecticide- de lutter contre *Helicoverpa armigera*, un ver redoutable pour la capsule du coton. Au cours des trois premiers mois, tous les agriculteurs étaient enchantés. Mais par la suite, ils ont constaté que le ver réapparaissait et résistait encore plus aux traitements, et il fallait toujours pulvériser contre les acariens les mouches blanches et les aphides...Les plants sont restés nains, il y avait moins de capsules, et elles étaient de petite taille, ce qui rendait la récolte plus difficile. La longueur de la fibre des cotons non-Bt, est de 30 à 32 mm, celle du Bt, mesure au plus 29 mm. D'où un prix de vente inférieur sur le marché. Ces expériences ont conduit la « Coalition d'Andhra Pradesh pour la défense de la diversité» à entreprendre une étude systématique sur l'impact du coton Bt dans la région. Les conclusions furent édifiantes : En moyenne, les rendements de coton Bt étaient de 4,5 q/acre alors que ceux de coton non-Bt étaient de 7. La culture d'un coton Bt a coûté 10% de plus que celle d'un coton non-Bt. Le prix du coton Bt sur le marché était d'environ 2080 roupies/q, environ 100 de moins que pour des cotons hybrides non-Bt. 71% des cultivateurs de coton Bt ont enregistré des pertes (1295 roupies/acre en moyenne), contre 18% pour les cultivateurs de non-Bt. Enfin, 82% de cultivateurs de coton non-Bt ont réalisé un bénéfice moyen de 5368 roupies/acre. Inquiets par les faibles prix pratiqués, les agriculteurs ont mélangé les coton Bt et non-Bt quand ils l'apportaient sur le marché. Mais ni les services de surveillance et de contrôle, ni l'industrie ne se sont manifestés. La majorité des cultivateurs ont décidé qu'ils ne planteraient plus de coton Bt. Comment le gouvernement allait-il gérer la pollution génétique induite par le mélange des différents cotons ? Ce problème représente une sérieuse menace pour la biodiversité et tout l'avenir de cette région. Comment ne pas se sentir interpeller par cet exemple concret ?

En conclusion il est difficile de prévoir quelles en seront les conséquences sociétales (nature et volume des emplois, équilibres entre activités proprement agricoles et industrielles, équilibres Etats-régions, possibilité d'exportation, etc.) et d'apprécier, au stade actuel, si les techniques de transgénèse auront plutôt un impact gobal sur les activités traditionnelles des secteurs agricole et agro-alimentaire, ou

seront génératrices d'activités humaines nouvelles. Il est nécessaire de souligner à quel point les techniques de transgénèse, si leur utilisation se généralise, pourrait avoir de répercutions sur le ressources, l'activité socio-économique, mais aussi culturelle au sens le plus large, dans les payes en développement. A première vue, si on adopte une vision idéaliste du problème, la transgénèse pourrait améliorer grandement les ressources surtout viviers locales des payes en développement : accroître la résistance des plantes et des animaux aux nuisances et aux agents infectieux, favoriser l'adaptabilité aux conditions extrêmes, réduire la dépendance vis-à-vis des engrais ou des produits de l'industrie chimique, etc. Tout ceci devrait contribuer à une meilleure autonomie alimentaire de ces payes. La pratique de la transgénèse demande, en effet, une maîtrise de technologies dont il est à craindre qu'elle ne puisse être facilement atteinte au sein des pays défavorisés : génétique moléculaire, biologie du développement, etc. Mais surtout la guerre des brevets, des protections industrielles renforcées, la détention par certaines sociétés d'espèces animales ou végétales prototypes risquent de rendre les pays en développement encore plus tributaires des stratégies commerciales des grandes compagnies industrielles. Ne va-t-on pas une fois de plus s'acheminer vers une réduction des besoins des pays industrialisés vis à vis des ressources naturelles en provenance des pays exportateurs de l'hémisphère sud, ce qui appauvrirait encore davantage ces derniers ? Les OGM est une biotechnologie extraordinaire qui suscite des questions essentielles sur tous l'aspects de notre vie et un débat à double tranchant.

Bibliographie

1. COHEN S N et al. Construction of biologically functional bacterial plasmids in-vitro. (1973) Proceedings of the National Academy of Science. **70 (11)**, 3240-3244

2. Serre J L et coll. Les diagnostiques génétiques. (2002) DUNOD, paris.

3. FAO / WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization) (2003a). Safety assessment of foods derived from genetically modified animals, including fish, a joint FAO / WHO expert consultation on food derived from biotechnology, Rome, Italy, 17-21 November 2003. FAO / WHO, Rome.

4. GOUVERNEMENT DU QUÉBEC. Commission de l'éthique de la science et de la technologie. Mémoire sur «les nouveaux enjeux de la sécurité alimentaire au Québec ». (2004).

5. Noisette C et al. Organismes génétiquement modifies et biosécurité accès à l'information et méthodes de détection. (2003). 10-37.

6. Cadas, Académie des Sciences. Les techniques de transgénèse en agriculture, applications aux animaux et aux végétaux, Rapport commun n° **2.** (1993) Techniques et Documentation. Lavoisier, Paris.

7. Tempé J et al. La manipulation génétique des plantes. (1987) La recherche. **188**, 696-709.

8. Bechtold N, Ellis S, Pelletier G. In planta Agrobacterium mediated gene transfer by infiltration of adult Arabidopsis thaliana plants. (1993) C. R. Acad. Sci. Paris. Life Sci. **316**, 1194-1199.

9. Picard E et al. Genetic transformation of wheat (triticum aestivum) by plasmid DNA uptake during pollen tube germination. (1988) In:Miller TE, ed. Proceedings of the 7 th international Wheat Genetics Symposium Cambridge.

10. Hiei Y, Komari T, Kubo T. Transformation of rice mediated by Agrobacterium tumefaciens. (1997) Plant Mol Biol. **35**, 205-218.

11. Ishida Y, Saito H, Ohta S, Hiei Y, Komari T, Kumashiro T. High efficiency transformation of maize (Zea mays L.) mediated by Agrobacterium tumefaciens. (1996) Nat Biotechnol. **14**, 745-750.

12. Sanford J. Biolistic plant transformation: a critical assessment. (1990) physiologia plantarum. **79**, 206-209.

13. Klein T M, Wolf E D, Wu R, Sanford J C. High velocity microprojectiles for delivery of nucleic acids into living cells. (1987) Nature. **327**, 70-73.

14. Christou P. Strategies for variety independant genetic transformation of important cereals, legumes and woody species utilizing particle bombardment. (1995) Euphytica. **85**, 13-27.

15. Johnston S A, Anziano P Q, Shark k, Sanford J C, Butow R A. Mitochondrial transformation in yeast by bombardment with microprojectiles. (1988) Science. **240**, 1538-1541.

16. Palmiter R D, Brinster R L, Hammer R E, Trunbauer M E, Rosenfeld M G, Birnberg N C, Evans R M. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjection with metallothionein –growth hormon fusion genes. (1982) Nature (London). **300**, 611-615.

17. Schellander K, Brem G. The direct gene transfer through mammal spermatozoa. In: L-M. Houdebine (ed), Transgenic animals: Generation and Use, 41-44. (1997) Harwood AcademicPublishers,Amsterdam.

18. Clouthier D E, Avarbock M R, Maika S D, Hammer R E, Brinster R L. Rat spermatogénesis in mouse testis. (1996) Nature. **381**, 418.

19. Crozet N. In vitro generation of one cell embryos in sheep and goat. In: L-M. Houdebine (ed), Transgenic Animals: Generation and Use, 45-50. (1997) Harwood Academic Publishers, Amsterdam.

20. Ronfort C M, Legras C, Verdier G. The use of retroviral vectors for gene transfer into bird transfer. In: L-M. Houdebine (ed), Transgenic animals: Generation and Use, 83-94. (1997) Harwood Academic Publishers, Amsterdam

21. Tsukui T, Kanegae Y, Saito I, Toyoda Y. Transgenesis by adenovirus-mediated gene transfer into mouse zona-free eggs. (1996) Nature Biotech. **14**, 982-995.

22. Houdebine L M. Les animaux transgéniques. (1998) Tec & Doc, Lavoisier, paris. **181**, 8393-8398.

23. Etches R J, Clark M E, Verrinder Gibbins A M, Cochran M B. Production of chimeric chickens as intermediates for gene transfer. In: L-M. Houdebine (ed), transgenic animals: Generation and Use, 75-82. (1997) Harwood Academic Publishers, Amsterdam.

24. Pain B, Clark M E, Shen M, Nakazawa H, Sakurai M, Samarut J, Etches R J. Long-term in vitro culture and characterisation of avian embryonic stem cells with multiple morphogenetic potentialities. (1996) Development. **122**, 2339-2348.

25. Donovan P.J., Resnick J.L., Cheng L., Lock L.F., 1997. Towards the use of primordial germ cells for germline modification. In: L-M. Houdebine (ed), Transgenic animals: Generation and Use, 179-188. Harwood Academic Publishers.

26. Campbell K H S, McWhir J, Ritchie W A, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. (1996) Nature, **380**, 64.

27. ASSOCIATION DES MARCHANDS DE SEMENCES DU QUÉBEC (AMSQ) (1999). Les nouvelles technologies et l'agriculture de demain.

28.Thompson J. Genetically modified food crops for improving agricultural practice and their effects on human health. (2003) Trends in Food Science and Technology. **14**, 210-228.

29. QUAN R et al. Improved Chilling Tolerance by Transformation with betA Gene for the Enhancement of Glycinebetaine Synthesis in Maize. (2004) Plant Science. **166**, 141–149.

30. ZHU J K. Plant Salt Tolerance. (2001) Trends in Plant Science. **6 (2)**, 66-71.

31. CHUPEAU Y. Transgenic Plants Towards Healthier Food? (2002) Bulletin de l'Académie nationale de medicine. **186 (8)**, 1 363 - 1 375.

32. VASCONCELOS M, DATTA K et al. Enhanced Iron and Zinc Accumulation in Transgenic Rice with the Ferritin Gene. (2003) Plant Science. **164 (3)**, 371 - 378.

33. SHINTANI D, DEAN D. Elevating the Vitamin E Content of Plants Through Metabolic Engineering. (1998) Science. **282**, 2098-2100.

34. MOMMA K et al. Safety Assessment of Rice Genetically Modified with Soybean Glycinin by Feeding Studies on Rats. (2000) Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. **64**, 1881-1886.

35. POTRYKUS I. Golden Rice and Beyond. (2001) Plant Physiology. **125**, mars, 1157–1161.

36. ROMER S et al. Elevation of the Provitamin A Content of Transgenic Tomato Plants. (2000). Nature Biotechnology. **18**, 666-669.

37. NAKAMURA R, MATSUDA T. Review. Rice Allergenic Protein and Molecular-Genetic Approach for Hypoallergenic Rice. (1996) Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. **60**, 215-1221.

38.Buchanan BB, Adamidi C, Lozano RM, Yee BC, Momma M, Kobrehel K, Ermel R, Frick OL.Thioredoxin-linked mitigation of allergic responses to wheat. (1997) Proceedings of the National Academy of Sciences USA. **94**, 5372-5377.

39. LIU Q, SINGH S et al. High-Oleic and High-Stearic Cottonseed Oils: Nutritionally Improved Cooking Oils Developed Using Gene Silencing. (2002) Journal of the American College of Nutrition. **21 (3)**, 205S - 211S.

40. MA J K C, DRAKE P M W, CHRISTOU P. The Production of Recombinant Pharmaceutical Proteins in Plants. (2003) Nature Review Genetic. **4**, 794-805.

41. LARRICK J W, THOMAS D. Producing Proteins in Transgenic Plants and Animals. (2001) Current Opinion in Biotechnology. **12**, 411–418.

42. KOVALCHUK O et al. A Sensitive Transgenic Plant System to Detect Toxic Inorganic Compounds in the Environment. (2001) Nature Biotechnology. **19**, 568-572.

43. BIZILY S, RUGH C et al. Detoxification of Hazardous Organomercurials by Genetically Engineered Plants. (2000) Nature Biotechnology. **18**, février, 213-219.

44. GISBERT C et al. A Plant Genetically Modified that Accumulates Pb Is Especially Promising for Phytoremediation. (2003) Biochemical and Biophysical Research Communications. **303**, 440–445.

45. DHANKER O P et al. Engineering Tolerance and Hyperaccumulation of Arsenic in Plants by Combining Arsenate Reductase and Gamma-glutamylcysteine Synthetase Expression. (2002) Nature Biotechnology. **20**, novembre, 1140-1145.

46. MEJÁRE M, LEIF B. Metal-binding Proteins and Peptides in Bioremediation and Phytoremediation of Heavy Metals. (2001) Trends in Biotechnology. **19 (2)**, 67-73.

47. MOL J N M, HOLTON T A et al. Floriculture: Genetic Engineering of Commercial Traits. (1995) Trends in Biotechnology. **13 (9)**, 350-355.

48. KATO M et al. Caffeine Synthase Gene from Tea Leaves. (2000) Nature. **406,** 956-957.

49. ROBINSON S et al. Gene Technology and Future Foods. (2000) Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. **9** (suppl), S113-S118.

50. FAO (ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'AGRICULTURE ET L'ALIMENTATION). Peser le pour et le contre des OGM. (2003) le pour.

51. LI L et al. Combinatorial Modification of Multiple Lignin Traits in Trees through Multigene Cotransformation. (2003) Proceeding of the National Academy of Science. USA. 100 (8), 4939-4944.

52. Thibault C, Levasseur M C, Hunter R H F. Reproduction in mammals and man. (1993) Ellipses, Paris, p 800.

53. DU S J et al. Growth Enhancement in Transgenic Atlantic Salmon by the Use of an "All Fish" Chemeric Growth Hormone Gene Construct. (1992) Biotechnology. **10**, 176-181.

54. Dunham RA, Warr GW, Nichols A, Duncan PL, Argue B, Middleton D, Kucuktas H (2002).Enhanced bacterial disease resistance of transgenic channel catfish *Ictalurus punctatus* possessing cecroping genes. Marine biotechnology, 4, 338-344.

55.Fletcher GL, Shears MA, King MJ, Goddard SV. Transgenic salmon for culture and consomption. In : Driedzic W, Mckinley S, Mackinlay D (eds), iternational congress on the biology of fish : biochemical and physiological in finfish aquaculture. (2002) University of British Columbia, Vancouver, Canada. 5-14.

48. MACLEAN N. Genetically Modified Fish and their Effects on Food Quality and Human Health and Nutrition. (2003) Trends in Food Science & Technology. **14 (5-8)**, 242-252.

56. BAWDEN C S et al. Expression of a Wool Intermediate Filament Keratin Transgene in Sheep Alters Fibre Structure. (1998) Transgenic Research. **7**, 273-287.

57. JONES S D, MARASCO W A. Intracellular Antibodies (Intrabodies): Potential Applications in Transgenic Animal Research and Engineered Resistance to Pathogens dans L-M. HOUDEMBINE (ed). Transgenic Animals: Generation and Use. (1997) Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 51.

58. HOUDEBINE L M. La transgénèse animale et ses applications. (1998) INRA Productions Animales. **11(1)**, 81-94.

59. Ladenheim R. Les vaccins à ADN nu. (1995) Biofutur, mai, 15-21.

60. Jones S.D, Marasco W.A. Intracellular antibodies (intrabodies): potential applications in transgenic animal research and engineered resistance to pathogens. In: L-M. Houdebine (ed), transgenic animals: Generation and Use. (1997) Harwood Academic Publishers, Amsterdam.

61. Salter D.W, Crittenden L.B. Artificial insertion of a dominant gene for resistance to avian leukosis virus into the germ line of the chicken. (1989) Theoretical and Applied Genetics. **77**, 457-461.

62. HOUDEBINE L M.The Production of Pharmaceutical Proteins from the Milk of Transgenic Animals. (1995) Reproduction Nutrition Development. **35**, 609-617

63. GUTIERREZ A et al. Expression of a Bovine -CN cDNA in the Mammary Gland of Transgenic Mice Utilizing a Genomic Milk Protein Gene as an Expression Cassette. (1996) Transgenic Research. **5**, 271-279.

64. HOUDEBINE L M. Transgenic Animal Bioreactors. (2000) Transgenic Research. **9**, 305-320

65. DYCK M K et al. Seminal Vesicle Production and Secretion of Growth Hormone into Seminal Fluid. (1999) Nature Biotechnology. **17**, 1 087-1 090.

66. LAZARIS A. Spider Silk Fibres Spun from Soluble Recombinant Silk Produced in Mammalian Cells. (2002) Science. **295**, 472-476.

67. SCHNEIJKE A E et al. Human Factor IX Transgenic Sheep Produced by Transfer of Nuclei from Fœtal Fibroblasts. (1997) Science. **278**, 2130-2133.

68. DYCK M K et al. Seminal Vesicle Production and Secretion of Growth Hormone into Seminal Fluid. (1999) Nature Biotechnology. **17**, 1087-1090

69. GOLOVAN S P et al. Transgenic Mice Expressing Bacterial Phytase as a Model for Phosphorus Pollution Control. (2001) Nature Biotechnology. **19**, 429-433

70. ENVIRONNEMENT CANADA. LES ÉLÉMENTS NUTRITIFS DANS L'ENVIRONNEMENT CANADIEN. Rapport sur l'état de l'environnement au Canada, (2000) Bureau des indicateurs et rapports environnementaux d'Environnement Canada.

71. VON WRIGHT A, BRUCE A. Genetically Modified Microorganisms and their Potential Effects on Human Health and Nutrition. (2003) Trends in Foods Science and Technology. **14 (5-8)**, 264 - 276.

72. Dequin S. The potential of genetic engineering for improving wine-making and baking yeasts. (2001) Appl. Microbiol.Biotechnol. **56**, 577-588.

73. Gaeng S, Scherer S, Neve H, Loessner MJ. Gene Cloning and Expression and Secretion of *Listeria monocytogenes* Bacteriophage-Lytic Enzymes in *Lactococcus lactis*. (2000) Appl Environ Microbiol. **66**, 2951-2958.

74. MÉNARD SZCZEBARA F et coll. Total Biosynthesis of Hydrocortisone from a Simple Carbon Source in Yeast. (2003) Nature Biotechnology. **21**, février, 143-149.

75. Periti P, Tonelli F. Preclinical and clinical pharmacology of biotherapeutic agents: *Saccharomyces boulardii*. (2001) J Chemother. **13**, 473-93.

76. Steidler L, Hans W, Schotte L, Neirynck S, Obermeier F, Falk W, Fiers W, Remaut E. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. (2000) Science. **89(5483)**, 1352.

77. Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie". OGM et alimentation. 2004.

78. James C. Global area of biotech crops, million hectares (1996 to 2004). Background document from the International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). (2004a) SEAsia Center, Manila, the Philippines.

79. James C. Global Status of Commercialized Biotech / GM Crops: International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). (2005) ISAAA Briefs, no 34: Executive Summary.

80. Bennett P M, Livesey C T, Nathwani D, Reeves D S, Saunders J R, Wise R. An assessment of the risks associated with the use of antibiotic resistance genes in genetically modified plants: report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. (2004) Journal of Antimicrobial Chemotherapy. **53**, 418-431.

81. The Royal Society. Genetically modified plants for food use and human health - an update. Février 2002.

82. Society of Toxicology. The Safety of Genetically Modified Foods Produced through Biotechnology. (2003) Toxicological Sciences. **71**, 2-8.

83. Cellini F, Chesson A, Colquhoun I, Constable A, Davies H V, Engel K H, Gatehouse A M R, Kaerenlampi E J, Leguay J J, Legesranta S, Noteborn H P J M, Pedersen J, Smith M. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. (2004) Food and Chemical Toxicology. **42**, 1089-1125.

84. GM science Review - First and Second Report - An open review of the science relevant to GM crops and food based on interests and concerns of the public - Prepared by the GM science review panel (July 2003 and January 2004).

85. Donkin S S, Velez J C, Totten A K, Stanisiewski E P, Hartnell G F. Effect of feeding Roundup Ready corn silage and grain on feed intake, milk production and milk composition in lactating dairy cattle. (2000) Journal of Dairy Science. **83** (Suppl 1), 273.

86. Chowdhury E, Shimada N, et al. Detection of Cry1Ab protein in gastrointestinal contents but not visceral organs of genetically modified Bt11-fed calves. (2003) Veterinary and Human Toxicology. **45(2)**, 72 - 75.

87. Hammond B G, Vicini J L, Hartnell G F, Naylor M W, Knight C D, Robinson EH, Fuchs R L, Pagette S R. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. (1996) the Journal of Nutrition. **126(3)**, 717-728.

88. Folmer J D, Grant R J, Milton C T, Beck J. Utilization of Bt corn residues by grazing beef steers and Bt corn silage and grain by growing beef cattle and lactating dairy cows. (2002) Journal of Animal Science. **80**, 1352-1361.

89. Donkin S S, Velez J C, Totten A K, Stanisiewski E P, Hartnell G F. Effects of feeding silage and grain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle. (2003) Journal of Dairy Science. **86(5)**, 1780-1788.

90. Erickson G E, Robbins N D, Simon J J, Berger L L, Klopfenstein T J, Stanisiewski E P, Hartnell G F. Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup-Ready events GA21 or nk603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. (2003) Journal of Animal Science **81(10)**, 2600-2608.

91. Chowdhury E H, Mikami O, Nakajima Y, Kuribara H, Hino A, Suga K, Hanazumi initiale manquante, Yomemochi C. Detection of Genetically Modified Maize DNA Fragments in the Intestinal Contents of Pigs Fed StarLink (tm) CBH 351. (2003) Veterinary and Human Toxicology. **45(2)**, 95-96.

92. Chowdhury E H, Kuribara H, Hino A, Sultana P, Mikami O, Shimada N, Guruge K S, Saito M, Nakajima Y. Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11 (2003) Journal of Animal Science. **81**, 2546-2551.

93. Jennings J C, Kolwyck D C, Kays S B, Whetsell A J, Surber J B, Cromwell G L, Lirette R P, Glenn K C. Determining whether transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein are detectable in muscle from swine fed Roundup Ready soybean meal. (2003) Journal of Animal Science. **81**, 1447-1455.

94. Spencer J D, Allee G L, Sauber T E. Phosphorus bioavailability and digestibility of normal and genetically modified low-phytate corn for pigs. (2000) Journal of Animal Science. **78**, 675-681.

95. Sampson H A. Update on food Allergy. J. Allergy Clin. (2004) Immunol. **113(5)**, 805-819.

96. Kuiper H A, Kleter G A. The scientific basis for risk assessment and regulation of genetically modified foods. (2003) Trends in Food Science and Technology. **14**, 277-293.

97. BELZILE F. Transgenic, Transplastomic and other Genetically Modified Plants: a Canadian Perspective. (2002) Biochimie. **84**, 1111-1118.

98. HELLMICH R L et al. Monarch Larvae Sensitivity to Bacillus thuringiensis-Purified Proteins and Pollen. (2001) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **98**, 11925-11930.

99. FOX J L. Resistance to *Bt* Toxin Surprisingly Absent from Pests. (2003) Nature Biotechnology **21 (9)**, 958-959.

100. BETZ F. Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis* - Protected Plants to Control Insect Pests. (2000) Regulatory Toxicology and Pharmacology. **32**,156-173.

101. STEWART C N, HALFHILL M D, WARWICK S I. Transgene Introgression from Genetically Modified Crops to their Wild Relatives. (2003) Nature Reviews Genetics. **4**, 806-817.

102. Hilgenfeld K L, Martin A R, Mortensen D A, Mason S C. Weed Management in a Glyphosate Resistant Soybean System: Weed Species Shifts. (2004) Weed Technology.**18**, 284-291.

103. HALL L et al. Pollen Flow between Herbicide-Resistant *Brassica napus* is the Cause of Multiple-Resistant *B. napus* Volunteers. (2000) Weed Science. **48 (6)**, 688-694.

104. MACLEAN, N. « Genetically Modified Fish and their Effects on Food Quality and Human Health and Nutrition », (2003) Trends in Food Science & Technology. **14 (5-8)**, 242-252.

105. Talbot B. Development of the National Institutes of Health guidelines for recombinant DNA research. (1983) National Institute of Health, USA, Public Health Report. **98**, 361–368.

106. OCDE Organisation de coopération et de développement économiques. Recombinant DNA safety considerations. (1986) OCDE, Paris.

107. OCDE Organisation de coopération et de développement économiques. Analysis of information elements used in the assessment of certain products of modern biotechnology. (1995) OCDE/GD. **(95)11**, Paris.

108. BERTHEAU Y, DIOLEZ A. les aliments passés au crible. (1999) Biofutur. 192, 28 – 32.

109. BERTHEAU Y. Détection et identification des OGM. (1998) POUR. **159**, 69 – 77.

110. GACHET E, MARTIN G G et al. Detection of genetically modified organisms (GMOs) by PCR: a brief review of methodologies available. (1999) trends in food science & technology. **9**, 380 – 388.

Résumé

Les organismes génétiquement modifies ou OGMs sont de plus en plus un sujet de débat dans l'actualité et que l'on soit pour ou contre les OGMs, il faut admet certains faits. La recherche sur les OGMs se développe actuellement de fa considérable et touche de nombreux domaines : alimentation humaine ou animale industrie pharmaceutique, sylviculture et horticulture. Ils servent aussi comme modèles animaux pour l'étude de diverses maladies humaines ou de mécanismes biologiques complexes dans la recherche fondamentale. Les travaux sur les risques éventuels des OGMs (santé des consommateurs, impacts environnementaux) n'en sont qu'à ses balbutiements et les réglementations sont encore insuffisantes ou inexistantes.

Abstract

The genetically modified organisms or GMO are one of the current subjects of public debate in the world. However, we should necessary admit some facts, even if we are against the GMO applications. The fields of theirs applications are currently and considerably growing, they concern bioreactors to produce molecules used in human or animal food, pharmaceutical industries, forestry and horticulture. Also, they serve as animal models to study various human diseases or to understand biological mechanisms in fundamental research. Research of the possible risks (consumer's health, environmental impacts) is just starting and the regulations are still insufficient or non-existent.

ملخص

تعتبـــر الكائنـات المعدلة وراثيا من أهم المواضيـع العلميـة و الأكثـر جدليـة في العصر الراهـن ولكـــن يجب القبول بأن هذه الكـــائنات أصبحت تستعمل في مجالات عديدة كالتغذية، الصيدلة، الصناعة، الزراعة الغابية و البستنة، تخليق نماذج حيوانية لدراسة الأمراض الإنسانية المتعددة أو لبحث الميكانيزمات البيولوجية المعقدة وتبقى دراسة و مراقبة مخاطر هذه التقنية على الصحة والبيئة غير كافية.