

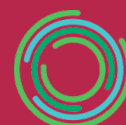


TEST BIOTECH

Testbiotech
Institut d'évaluation
indépendante des impacts
de la biotechnologie

L'ingénierie génétique, une menace pour la protection des espèces

Ou, de la nécessité d'empêcher la propagation des organismes
génétiquement manipulés dans les populations naturelles



L'ingénierie génétique, une menace pour la protection des espèces

*Ou, de la nécessité d'empêcher la propagation des organismes
génétiquement manipulés dans les populations naturelles*

Christoph Then, Testbiotech

Mai 2020

Nous remercions particulièrement Katharina Kawall d'avoir fourni le contenu des trois infoboxes sur CRISPR/Cas, et Sylvia Hamberger pour ses conseils d'experte sur la neobionta et les écrevisses marbrées. Nous remercions également nos ami/es français/es pour leur soutien avec la traduction. Un merci spécial à l'équipe Testbiotech pour toute son expertise, ses corrections et ajouts au rapport.

Illustrations: Timo Zett

Mise en page: Claudia Radig-Willy



Imprint

Testbiotech e. V.

Institute for Independent Impact Assessment in Biotechnology

Frohschammerstr. 14

D-80807 Munich

Tel.: +49 (0) 89 358 992 76

info@testbiotech.org

www.testbiotech.org

Executive Director: Dr. Christoph Then

Contenu

Résumé	4
1. Introduction	6
Notes sur les termes utilisés dans ce rapport	7
2. La biotechnologie meilleure que l'évolution ?	8
Qu'est-ce que les nouvelles techniques génomiques ?	9
3. L'évolution, plus complexe que la biotechnologie ne voudrait le reconnaître	10
4. Extinction des espèces, stabilité des écosystèmes et biotechnologie	13
4.1 L'écrevisse marbrée, exemple d'une propagation non contrôlée sans aucune manipulation génétique	14
4.2 L'exemple de la « mouche monarque »	15
4.3 L'exemple du mammouth	17
L'édition génomique permet de créer des organismes présentant de nouvelles combinaisons génétiques	19
Effets indésirables de la technique CRISPR/Cas9	20
5. Le rapport de l'UICN	21
5.1 Le châtaignier aux États-Unis	21
5.2 Les coraux génétiquement manipulés	23
5.3 Les abeilles mellifères génétiquement manipulées	24
6. Problèmes liés à l'emploi des nouvelles techniques génomiques	24
7. Conclusions et recommandations	26
Références	27

Résumé

Le présent rapport traite des répercussions de la biotechnologie sur les processus de l'évolution. Les scientifiques les plus connus qui travaillent dans le secteur des « nouvelles techniques de manipulation génétique » parlent d'ores et déjà d'une « fin du début » (George Church, 2012) : à l'avenir, les nouvelles formes de vie ne devront plus provenir des processus naturels d'auto-reproduction et d'auto-organisation, mais seront « conçues » par l'homme. Cette approche repose largement sur de nouvelles techniques de manipulation génétique, telles que les « ciseaux génétiques » CRISPR/Cas, qui sont aussi regroupées sous le terme « édition génomique » ou « nouvelles techniques génomiques » (NTG).¹

En effet, la biotechnologie permet de contourner les mécanismes naturels de régulation génétique et d'hérédité. Nous disposons aujourd'hui de compétences techniques suffisantes pour créer des cellules et des organismes différant considérablement de ceux issus de la « cellule originelle » (Popper, 1995). Nous sommes en mesure d'intervenir sur la « lignée germinale de la diversité biologique » et de transformer la biosphère en un gigantesque laboratoire de biotechnologie.

Des mutagènes biotechnologiques tel que les ciseaux génétiques permettent, même sans ajout de gènes, de créer certains changements spécifiques et, en conséquence, de nouvelles combinaisons spécifiques d'informations génétiques. Les nouveaux caractères biologiques ainsi développés ne sont cependant pas exempts de risques, en particulier lorsque les organismes concernés se retrouvent dans l'environnement et peuvent se répandre parmi les populations naturelles.

La biotechnologie peut accélérer l'extinction des espèces

Un exemple actuel de risque concret est celui des dites « mouches monarques », modifiées par la technique des « ciseaux génétiques » CRISPR/Cas : trois légères modifications appliquées sur certaines paires de bases d'un gène ont permis de rendre les drosophiles résistantes au poison de certaines plantes. Elles peuvent ainsi stocker le poison et deviennent alors elles-mêmes venimeuses vis-à-vis de leurs prédateurs (Karageorgi et al., 2019).

Ce rapport met en garde contre les répercussions possibles d'une introduction massive de nouvelles combinaisons génétiques au sein des populations naturelles. Si la « mouche monarque » n'a pas été conçue pour être libérée dans l'environnement, de nombreuses applications sur des insectes, arbres, rongeurs, coraux et microbes, sont entre-temps apparues destinées en effet à une dissémination. Leur propagation a même été envisagée dans le cadre de la protection des espèces. Le rapport présente les exemples d'arbres, de coraux et d'abeilles génétiquement modifiés.

En prenant argument de la théorie de l'évolution, les considérations relatives à l'extinction des espèces et les expériences réalisées avec des espèces invasives, le présent rapport apporte le jugement critique suivant : la dissémination d'organismes génétiquement manipulés destinés à se répandre et se multiplier parmi les populations naturelles risque de surcharger rapidement la stabilité des écosystèmes. Les nouveaux organismes peuvent perturber ou suspendre les réseaux de la diversité biologique et ainsi accélérer l'extinction des espèces.

Le risque d'une « démenche biologique »

À ce propos, il nous faut rappeler que l'ADN, porteur de l'hérédité, est aussi le siège de la mémoire de toute l'évolution chez les espèces vivantes existantes. Il est le résultat d'environ quatre milliards d'années d'évolution. La manière dont ces informations sont stockées et continuent d'évoluer constamment est soumise à une multitude de mécanismes biologiques contribuant à la protection de la diversité des espèces et permettant le maintien d'une cohérence dans la continuité de leur développement. Ainsi, les informations contenues dans le génome ne reflètent pas seulement le passé, mais également le présent et le futur de la diversité biologique. Sur cette « mémoire commune » repose la capacité d'adaptation des êtres vivants présents, ainsi que de l'interaction dans les écosystèmes, entre les espèces comme au sein de chacune entre elles.



¹ Voir notes sur les termes utilisés dans ce rapport

La disparition des espèces constitue une menace pour la préservation de cette « mémoire commune ». Et pourtant, cette extinction des espèces n'est pas la seule cause potentielle de cette « démenche biologique » : les interventions sur le patrimoine héréditaire sont susceptibles de compromettre les informations qui y sont collectées, tant au niveau de leur structure que de leur cohérence et leur fonction, et par là conduire à l'apparition de processus perturbateurs. Sur le modèle des fondements de la théorie moderne de l'évolution, on peut également parler d'un « grand nombre de schémas génétiques discordants entre eux » (Dobzhansky, 1951) comme avec ceux développés dans le cadre de l'évolution, compromettant ainsi « l'intégrité des génotypes résultant d'une longue évolution et constituant les espèces existantes » (ibid.)².

Les nouvelles techniques génomiques : un enjeu majeur

Le présent rapport démontre que les nouvelles techniques génomiques (NTG) constituent un enjeu majeur pour l'évaluation des risques :

- Il ne suffit pas, pour déterminer les risques existants, de prendre en compte isolément les seules modifications génétiques apportées. Il faut plutôt prendre en compte les nouveaux schémas créés par ces modifications, ainsi que les nouvelles combinaisons d'informations génétiques, au sein de l'ensemble du génome. Les questions biologiques qui en découlent et la question des risques sont souvent bien plus complexes que les biotechnologies employées jusqu'à ce jour.
- Pour permettre une évaluation des risques appropriée, il est nécessaire de prendre en compte les outils employés, ainsi que toutes les étapes du processus et toutes les modifications apportées, souhaitées ou non. En effet, les effets souhaités comme les effets indésirables, et risques associés, sont influencés par le procédé mis en œuvre.
- Pour la première fois, les NTG ramènent au premier plan la modification génétique des populations naturelles. Les questions associées portant sur les interactions avec l'environnement, l'épigénétique et le manque de contrôle dans l'espace et le temps conduisent à douter de la possibilité même d'une évaluation globale des risques sur les résultats au long terme d'une telle activité. Pour en étudier les effets réels, des essais de dissémination massive et au long terme devraient être réalisés, essais dont les répercussions s'avèreraient cependant déjà irréversibles et incontrôlables dans de nombreux cas.

Réglementation des organismes génétiquement manipulés

Les règles suivantes sont décisives pour gérer les organismes génétiquement manipulés, anciens comme nouveaux :

- L'obligation de réglementation et d'autorisation, selon les techniques employées, doit porter sur l'ensemble des organismes génétiquement manipulés, y compris lorsqu'aucun gène n'a été ajouté.
- Le contrôle des organismes génétiquement manipulés dans l'espace et le temps doit être garanti. Cela signifie que toute dissémination doit absolument s'accompagner d'une possibilité de contrôle efficace et de « réversibilité ».

Sur le plan de la protection de la nature, il sera nécessaire de définir dans quelle mesure le « droit » des espèces naturelles et de la diversité biologique, quant à la préservation de leur intégrité naturelle et de leur développement, peut être inscrit dans la législation. La diversité biologique et son développement ne doivent plus être considérés comme une source d'approvisionnement à notre libre disposition pour des expériences génétiques.

2 Les traductions françaises des citations directes ont été réalisées par l'auteur de ce rapport.

1. Introduction

Les nouveaux procédés biotechnologiques tels que les « ciseaux génétiques » CRISPR/Cas permettent une intervention profonde sur le génome des animaux et des plantes. Les outils utilisés pour ces applications, appelés nucléases (ciseaux génétiques), peuvent être considérés comme des mutagènes biotechnologiques qui, contrairement aux mutagènes physico-chimiques (rayonnement ou composés chimiques), sont capables d'interagir de manière ciblée avec les mécanismes biologiques de la cellule, au niveau du génome et / ou épigénome.

Très souvent, la question se pose de savoir dans quelle mesure la « modification du génome » peut être comparée à la « mutagenèse aléatoire » (mutagenèse physico-chimique) appliquée à la sélection « conventionnelle » depuis plusieurs décennies. Pour délimiter entre les méthodes de « édition génomique » d'une part et les méthodes utilisées dans la sélection « conventionnelle » d'autre part, les critères suivants peuvent être appliqués :

- a. Dans le cas de la sélection conventionnelle, la première étape nécessite un degré élevé de diversité génétique qui fournit par la suite la base pour d'autres croisements et sélections. Pour augmenter la diversité génétique dans la sélection végétale, une mutagenèse non ciblée peut être appliquée en utilisant des mutagènes chimiques ou physiques. Dans ce cas, les changements génomiques qui en résultent peuvent être considérés comme volontaires car ils sont destinés à augmenter la diversité génétique.
- b. La situation concernant l'édition génomique ainsi que d'autres techniques génomiques est très différente:
 - (1) Les NTG utilisent des mutagènes biotechnologiques (molécules) qui sont censés interférer de manière ciblée avec les mécanismes biologiques au niveau du génome ou de la régulation des gènes (épigénétique);
 - (2) ces applications ne visent généralement pas à accroître la diversité génétique de manière non ciblée. Par conséquent, les modifications involontaires du génome doivent être considérées comme des effets indésirables;
 - (3) Des outils comme CRISPR/Cas rendent une partie beaucoup plus grande du génome disponible pour les changements génétiques par rapport à la sélection conventionnelle; ils permettent la génération de caractéristiques biologiques qui n'étaient pas réalisables auparavant.

En tout état de cause, il existe des différences fondamentales entre les méthodes génomiques et les méthodes de sélection « conventionnelle ».

La gamme d'applications émergeant des nouvelles techniques génomiques s'amplifie de plus en plus. Le développement est marqué par un nombre croissant de nouvelles applications possibles. Les nouvelles biotechnologies se démarquent des anciennes non seulement sur le plan technique, mais également par leurs objectifs. Ceux-ci ne concernent plus seulement les plantes et animaux domestiques ou les organismes conservés en laboratoire. Nous constatons plutôt le développement d'un nombre croissant de projets portant sur des populations naturelles, notamment d'insectes, de rongeurs et d'arbres, tous appartenant à des écosystèmes complexes.

C'est ainsi qu'aux États-Unis une espèce de châtaignier transgénique issu de NTG est aujourd'hui propagée dans l'environnement pour résister à une maladie fongique spécifique (Popkin et al., 2018). Il est par ailleurs question de modifier des insectes et rongeurs par forçage génétique, afin d'en éradiquer ou modifier des populations entières (Critical Scientists Switzerland, 2019). Dans le cadre de la lutte contre le paludisme, des moustiques pourraient être infectés à l'aide de champignons NTG produisant un poison (Lovett et al., 2019). Il est aussi question d'utiliser des insectes pour répandre dans l'environnement des virus NTG (Reeves et al., 2018).³ Certaines de ces applications sont entreprises sous la supervision de l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN, 2019).

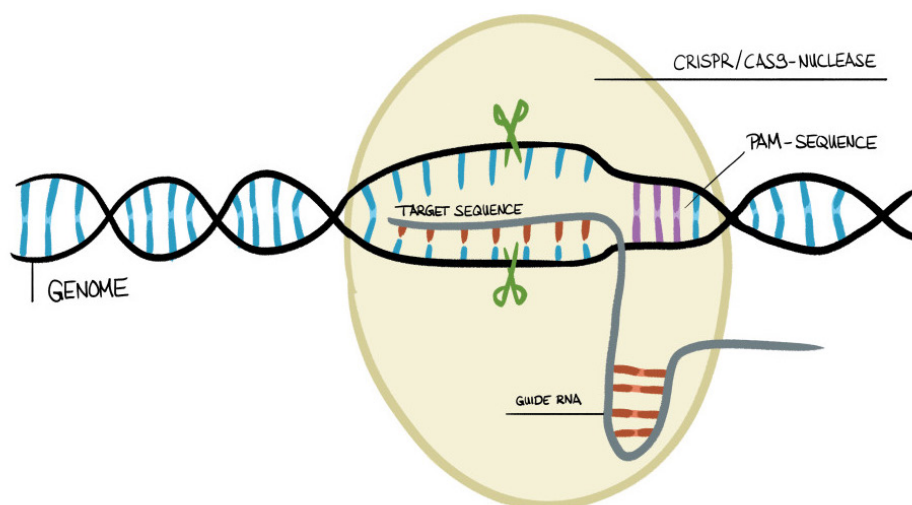
3 http://vcdn.vod.spiegel.de/2382/43/21/1631234/KFAoUKBR1631234_1280x720_2500.mp4?fv=1

Le présent rapport, rédigé pour le compte de l'Alliance allemande pour la protection de la nature (Deutscher Naturschutzring, DNR), apporte une analyse critique sur une sélection d'exemples proposés par l'UICN. Nous y discutons également de l'adéquation générale des moyens biotechnologiques pour reproduire, améliorer ou modifier les processus de l'évolution, et ainsi contribuer à la protection des espèces et de la diversité biologique.

Notes sur les termes utilisés dans ce rapport

Nous préférons éviter le terme « génétiquement modifié », car il est imprécis: toute modification du génome, même si elle est réalisée par sélection conventionnelle, peut être considérée comme une modification génétique. Les termes « génie génétique » et « manipulation génétique » sont plus précis car ils désignent des interventions techniques visant à être ciblés et réalisées par l'insertion de matériel qui a été préparé à l'extérieur de la cellule. Il existe des « anciennes » et « nouvelles » techniques génomiques, ou « première génération » et « deuxième génération ». Les nouvelles techniques peuvent également être appelées « édition génomique » ou « nouvelles techniques génomiques » (la dernière étant la formulation officielle utilisée par la Commission européenne). L'abréviation « NTG » est utilisée dans ce rapport pour les organismes qui ont été développés avec des nouvelles techniques génomiques. En analogie, les techniques de génie génétique de la « première génération » peuvent aussi être appelées « anciennes techniques génomiques ».

Le terme « transgénique » est utilisé lorsque des gènes d'une autre espèce ont été insérés dans un organisme. Le terme « forçage génétique » est utilisé lorsque les règles de l'hérédité ont été manipulés afin de permettre aux organismes de se propager dans les populations sauvages.



2. La biotechnologie meilleure que l'évolution ?

Grâce aux outils tels que la technique CRISPR/Cas, les généticiens sont maintenant en mesure plus que jamais, selon leur choix, d'ajouter au génome un certain nombre de nouvelles informations, de modifier le génome existant ou de supprimer certaines fonctions génétiques. Ils ont découvert comment contourner les mécanismes naturels de l'hérédité et de la régulation de l'expression des gènes. D'après George Church et Jennifer Doudna, qui ont joué un rôle majeur dans le développement de la technique CRISPR/Cas, les nouvelles méthodes permettent même d'intervenir en profondeur sur le processus de l'évolution. Dès lors, notre époque est celle de la « *fin du début* » (Church & Regis, 2012, p. 225). Entendez par là que les développements biotechnologiques des humains prendront le pas sur le processus naturel de l'évolution. Dans son ouvrage intitulé « *A Crack in Creation* » (2017), Jennifer Doudna écrit à ce sujet :

« L'époque où la vie était uniquement façonnée par les pesantes forces de l'évolution est désormais révolue. Nous nous tenons au seuil d'une nouvelle ère, dans laquelle nous contrôlons la composition génétique de toutes les formes de vie et leurs multiples conséquences vitales. Aujourd'hui déjà, nous remplaçons le système sourd, muet et aveugle qui a formé le patrimoine génétique de notre planète au cours des temps par un système d'évolution consciemment et intelligemment dirigé par l'homme. » (p. 251/252)

George Church, quant à lui, l'exprime ainsi (2012) :

« La génomique synthétique a le potentiel de revoir le cours de l'évolution génomique naturelle, à la différence que l'évolution de la génomique synthétique se fera grâce à notre propre réflexion et grâce à un contrôle conscient au lieu d'être dirigé par les processus aveugles et opportunistes de la sélection naturelle. » (p. 13)

Les avancées techniques des dernières années n'ont cessé de progresser et permettent aujourd'hui jusqu'à la synthèse de génomes entiers (Gibson et al., 2010 ; Fredens, 2019), la modification de caractères biologiques complexes (Zsögön et al., 2018), ou encore le forçage génétique, qui rend possible la modification génétique des populations naturelles entières (cf. notamment : Noble et al., 2018 ; Gantz & Bier, 2015). L'idée du recours aux techniques de manipulation génétique pour la réintroduction d'espèces éteintes, jusqu'à la « résurrection » de l'homme de Néandertal, est même aujourd'hui répandue (Church & Regis, 2012).

Cependant, les manipulations génétiques sont-elles réellement adaptées au façonnement de la vie sur notre planète ? Sommes-nous en mesure d'améliorer la nature en intervenant sur l'évolution ? Quoiqu'il en soit, Doudna et Church ont raison sur un point : l'évolution fonctionne selon des lois et des règles différentes de celles de la biotechnologie. La diversité naturelle des espèces, les organismes vivants ne sont pas le fruit d'une conception consciente.

Si les humains interviennent dans l'évolution, on assistera effectivement à la « fin du début » : jusqu'à aujourd'hui, toutes les formes de vie existantes ont été issues d'origines naturelles, par l'intermédiaire de processus naturels. Chaque forme de vie aujourd'hui rencontrée est une continuation de son origine, ancienne de plusieurs milliards d'années. Ou comme l'exprime le philosophe Karl Popper (Popper, 1995) :

« La cellule originelle vit encore aujourd'hui. Nous sommes tous cette cellule originelle (...) La cellule originelle est apparue il y a des milliards d'années et a continué de vivre sous la forme de trillions de cellules. Elle vit encore aujourd'hui dans chacune des cellules vivantes à ce jour. Toute forme de vie, passée ou présente, est le résultat de multiples divisions de la cellule originelle. C'est ainsi que perdure la vie de la cellule originelle. »

Aujourd'hui, cependant, pour la première fois, nous disposons de compétences techniques suffisantes pour créer des cellules et organismes différant considérablement de ceux issus de la « cellule originelle ». Nous sommes en mesure de créer des organismes altérant, perturbant ou même annihilant le développement des

2. La biotechnologie meilleure que l'évolution ?

formes de vie existantes, leur auto-régulation, leur auto-organisation et, par conséquent, les réseaux écologiques. Nombreux sont ainsi les signes indiquant que la « fin du début » a bel et bien sonné pour la nature même de la vie. Nous sommes en mesure d'intervenir sur la « lignée germinale de la diversité biologique » et de soumettre ainsi l'avenir de la biosphère à une conception « issue du labo ».

Qu'est-ce que les nouvelles techniques génomiques ?

D'une manière générale, les nouvelles techniques génomiques se retrouvent sous l'appellation générale « édition génomique » et concernent tout un ensemble de nouveaux procédés tels que les techniques exploitant les nucléases ciblées ou la mutagenèse dirigée par oligonucléotides (oligonucleotide-directed mutagenèse, ODM). Les techniques exploitant les nucléases ciblées sont plus connues sous le nom de « ciseaux génétiques », parmi lesquelles la plus répandue est la technique CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats/CRISPR associated). La technique CRISPR/Cas9 est un procédé relativement récent reposant sur les découvertes faites dans les mécanismes de défense des bactéries contre les invasions de virus. Des scientifiques ont étudié ces mécanismes et les ont transposés à une application en laboratoire, en vue de modifier à souhait le génome de cellules végétales, animales et humaines.

Une application de la technique CRISPR/Cas9 exige d'avoir décrypté le génome de l'organisme ciblé par séquençage, informations dont nous disposons déjà pour de nombreux organismes. Les génomes non encore décryptés des autres espèces doivent faire l'objet de larges projets de séquençage dans les dix années à venir (Lewin et al., 2018). À l'aide de ces génomes de référence, les scientifiques seront en mesure de repérer les séquences de gènes qu'ils souhaitent contrôler ou modifier.

La technique CRISPR/Cas9 repose sur deux éléments : un constitué de composants de coupe et un de détection. Les composants de détection, appelés « guides ARN », conduisent les composants de coupe, appelés « ciseaux génétiques », jusqu'à une séquence du génome de l'organisme cible afin de sectionner la structure de l'ADN à l'endroit souhaité.

Cette rupture de l'ADN est détectée comme une détérioration par les cellules et active les mécanismes de réparation de la cellule pour réparer cette détérioration le plus rapidement possible. D'une part, les processus de réparation activés risquent notamment de conduire à une réparation défectueuse ou incontrôlée, ou au simple rétablissement de l'état initial. Ce type de résultats est désigné par l'appellation SDN-1 (Site directed Nuclease-1). Les applications SDN-1 conduisent généralement à de petites suppressions, insertions ou substitutions qui altéreront la fonction du ou des gènes respectifs. D'autre part, d'autres mécanismes de réparation peuvent avoir lieu, introduisant une modification structurelle au sein de la région ciblée par l'ajout d'une matrice de réparation d'ADN spécifique. Cette modification structurelle peut porter sur l'ajout de simples lettres d'ADN (pour les applications SDN-2) ou sur l'introduction de gènes complets (applications SDN-3).

Ces techniques permettent ainsi d'activer, de désactiver, ou même de retirer ou d'ajouter des gènes dans le génome des organismes cibles. Il est également possible de produire une lecture différente des gènes ou de modifier l'effet de leurs produits (par exemple des nouvelles protéines).

3. L'évolution, plus complexe que la biotechnologie ne voudrait le reconnaître

Jusqu'à présent, toutes les espèces ne devaient leur apparition et leur préservation qu'aux processus et mécanismes mis en œuvre par l'évolution. Et pourtant, au bout de plusieurs milliards d'années, ce système d'évolution est-il bien réellement toujours sourd, muet, aveugle et pesant, comme le décrit Doudna ? Le génome, l'ADN, ou encore les fondements chimiques de l'hérédité, sont le siège de la mémoire de l'évolution dont sont issus tous les êtres vivants. Ils représentent quatre milliards d'années d'expérience commune accumulée, évaluée et sélectionnée depuis le début de la vie, des cellules, des organismes et des espèces. Les informations contenues dans le génome ne sont pas seulement le fruit de l'évolution, mais traduisent également son présent et son avenir.

C'est sur cette expérience commune et sur la mémoire ainsi accumulée que repose la capacité d'adaptation des êtres vivants actuels, ainsi que leur interaction dans l'écosystème, entre les espèces comme au sein de chacune d'entre elles. Qu'il s'agisse des échanges entre les abeilles et les fleurs ou entre les microbes et les racines des plantes, qu'il s'agisse de la reproduction et des relations au sein des réseaux trophiques, l'ADN est le lieu de stockage qui définit le comportement et la cohabitation des espèces.

Les informations qu'il contient ne sont aucunement issues d'une simple succession d'évènements fortuits. La manière dont ces informations sont stockées et peuvent être modifiées est soumise à une multitude de règles visant à protéger l'existant et à permettre de maintenir une cohérence dans la continuité de leur développement. L'évolution dans sa globalité n'est ni prédictible, ni purement fortuite. Ces mécanismes sont très éloignés de la vision dénaturée d'une évolution reposant uniquement sur des mutations fortuites ou sur la survie du plus fort.

Ces règles et mécanismes de l'évolution sont notamment illustrés dans les barrières entre les espèces. Ces barrières permettent en premier lieu de préserver la diversité dans sa complexité toujours croissante : si toutes sortes d'informations génétiques pouvaient être librement échangées entre les espèces, il n'existerait aucune caractéristique stable propre à une espèce. Ces caractéristiques seraient rapidement effacées, les êtres vivants partageraient une composition génétique similaire, plus ou moins proche d'un schéma moyen, sans trouver d'orientation ni de perspective de développement propre. Dans un tel scénario, l'évolution n'aurait pas dépassé les organismes unicellulaires. Il ne pourrait en aucun cas conduire à l'ordonnement complexe d'écosystèmes stables, mais uniquement à un état de chaos généralisé. La barrière entre les espèces n'est de loin pas le seul mécanisme développé par la nature pour protéger la mémoire commune stockée dans l'ADN et la diversité biologique qui en dépend. La préservation des espèces passe également en grande partie par les mécanismes et processus particuliers définissant comment les chromosomes et les cellules se multiplient afin d'assurer la transmission de cette « mémoire commune » aux cellules filles comme aux générations suivantes au sein d'une « distribution ordonnée du génome » (Vogel & Angermann, 1998).

Bon nombre de ces mécanismes et processus d'hérédité et de régulation de l'expression des gènes qui en découlent sont aujourd'hui connus. Par exemple on connaît la manière dont l'ADN est enroulé dans les chromosomes : la chromatine, qui enveloppe l'ADN, influence l'apparition de mutations. Celles-ci se produisent en fonction de la nature structurelle de l'ADN et non de façon purement fortuite (Makova & Hardison, 2015). D'autres mécanismes incluent les processus de réparation en cas de mésappariement des bases d'ADN (Belfield et al., 2018), la multiplication de versions de gènes à des fins de « sauvegarde » (Sanchez-Leon et al., 2018 ; Kannan et al., 2018), mais également les régions du génome qui affichent une fréquence de mutation particulièrement élevée, ou se recombinent après la méiose ce qui entraîne des modifications plus fréquentes que dans les autres régions. On parle alors de « points chauds » de mutation, favorisant l'apparition de

3. L'évolution, plus complexe que la biotechnologie ne voudrait le reconnaître

nouvelles combinaisons génétiques naturelles (Choi et al., 2018 ; Si et al., 2015 ; Rogozin et al., 2003). On pourrait ainsi dire qu'au bout de quatre milliards d'années, l'évolution s'est faite « ingénieuse », et en aucun cas « sourde, muette et aveugle ». Les mécanismes de l'évolution empêchent le chaos génétique et contribuent au maintien de l'équilibre entre la préservation des espèces et leur adaptation constante.

Avec ces nouvelles découvertes, la science confirme les enseignements de la théorie moderne de l'évolution déjà connus depuis de nombreuses années. Theodosius Dobzhansky (1900-1975) a travaillé aux États-Unis, au Rockefeller Institute à l'Université de Colombie. Ses travaux comptent à ce jour parmi les piliers de la théorie synthétique de l'évolution, prolongement de la théorie classique de l'évolution de Darwin (cf. notamment Beurton dans la publication de Jahn & Schmitt, 2001, p. 146 ff). Dans son ouvrage intitulé « Genetics and the Origin of Species », régulièrement réédité entre 1937 et 1966, il explique l'importance des frontières entre les espèces pour le maintien de la diversité. Il décrit les différents mécanismes provoquant la modification d'informations génétiques plus fréquemment dans certaines régions du génome que dans d'autres. Il souligne notamment l'importance de l'ensemble du génome dans la fonction des gènes à l'échelle individuelle. Dobzhansky montre que, si l'évolution peut exploiter les événements fortuits, l'apparition d'espèces n'est en aucun cas le fruit de tels événements :

Il est fréquemment affirmé, en particulier dans les écrits scientifiques populaires, que les mutations sont des modifications génétiques incohérentes, aléatoires, accidentelles, fortuites ou autres. Une telle définition est trompeuse lorsqu'elle est donnée sans réserve. En effet, le seul aspect pour lequel les mutations sont aléatoires est qu'elles se produisent indépendamment des besoins de l'organisme à un moment donné, et sont donc beaucoup plus susceptibles d'être nuisibles qu'utiles. Mais les types de mutations qu'un gène est capable de produire ainsi que les fréquences auxquelles ces mutations se produisent sont loin d'être transitoires. Elles sont contrôlées par la structure du gène lui-même ainsi que par la constitution génétique de l'organisme.

(3ème édition, 1951, p. 58)

Selon Dobzhansky, les processus en apparence fortuits ne sont aucunement le seul résultat d'une expérimentation par « essai-erreur » :

Un tel mécanisme d'essai-erreur se fait principalement par mutation et reproduction sexuée, qui sont capables de générer une variété pratiquement illimitée de génotypes. Mais ceci ne signifie pas que la théorie moderne de l'évolution est basée sur une croyance au « hasard », comme il est régulièrement supposé, bien que sans fondement. Le « hasard » n'intervient que dans la mesure où toute mutation a une probabilité limitée de se produire, et par conséquent les mutations se produisent, qu'elles soient immédiatement, ou jamais, utiles. Toutefois, les modifications biologiques dans les populations mendéliennes sont loin d'être le fruit d'un hasard génétique chanceux, ou même dues aux exigences environnementales. La relation entre le système génétique et le milieu externe est si complexe que le processus d'évolution peut être vu comme créatif. En effet, ce processus donne naissance à des entités cohérentes jusque-là inexistantes, de nouveaux organismes aptes à se perpétuer dans certains habitats.

(3ème édition, 1951, p. 278)

Son ouvrage traitant par ailleurs de « l'origine des espèces », il met justement l'accent sur l'importance des barrières entre les espèces pour la préservation des résultats de l'évolution et le maintien de la diversité :

(...) l'isolement reproductif empêche l'apparition de vastes schémas génétiques discordants et préserve ainsi l'intégrité des types de génotypes ayant évolués de façon historique qui représentent les espèces existantes.

(3ème édition, 1951, p. 297)

3. L'évolution, plus complexe que la biotechnologie ne voudrait le reconnaître

Ainsi, Dobzhansky ne décrit pas seulement l'origine des espèces, mais également comment les règles de l'évolution garantissent l'équilibre entre leur stabilité et leur adaptation. En opposition à ce principe, Doudna et Church favorisent son remplacement par « l'ingénierie ». La biotechnologie réduirait alors la vie à un jeu de construction dans lequel les briques peuvent être soumises à diverses manipulations. Or, la réalisation dérange que la structure et la fonction du génome reposent sur un système hautement complexe, orchestré par un grand nombre de règles et de mécanismes.

Si la diversité des espèces n'est pas le fruit d'une « conception », elle ne repose pas non plus sur une loterie génétique et n'aurait jamais connu un tel développement par pur hasard. Même dans les techniques standard de sélection et d'élevage, le patrimoine génétique n'est jamais bouleversé, comme le rappelle Emmanuelle Charpentier, l'une des inventrices de la technique des « ciseaux génétiques » CRISPR/Cas.⁴ Qu'est-ce que cela signifie pour l'évaluation des risques représentés par les organismes soumis à l'ingénierie génétique ?

4 <http://sz.de/1.3502623>

4. Extinction des espèces, stabilité des écosystèmes et biotechnologie

Lorsqu'une espèce s'éteint, les autres espèces sont souvent en mesure de combler le vide au bout d'un certain temps. Certains développements de l'évolution peuvent aussi se répéter ou parvenir aux mêmes résultats par des voies différentes. La disparition d'espèces existantes et l'émergence de nouvelles espèces sont naturelles et résultent de divers processus d'adaptation. En proportions trop élevées, cependant, la disparition de certaines espèces peut conduire au basculement d'écosystèmes entiers. Elizabeth Kolbert, dans son ouvrage « La 6e extinction » (2015), et Dave Goulson, dans « A buzz in the meadow » (2015), mettent notamment en garde avec insistance contre les extinctions massives progressivement causées par les humains.

Chaque espèce qui existe aujourd'hui peut être considérée comme un souvenir unique de millions, voire de milliards d'années d'évolution. Si un trop grand nombre d'espèces vient à disparaître, le réseau composant leurs écosystèmes s'en trouve considérablement perturbé, voire détruit. Ou, comme l'exprime Goulson : « le tissu complexe du vivant » se dissout. Si l'on envisage l'ADN comme l'expérience accumulée et le souvenir ordonné de millions ou de milliards d'années d'évolution, l'image de la « démence biologique » prend alors tout son sens : lorsque des espèces « importantes », ou en trop grand nombre, disparaissent, le fonctionnement et le développement futur des écosystèmes existants se voient menacés.

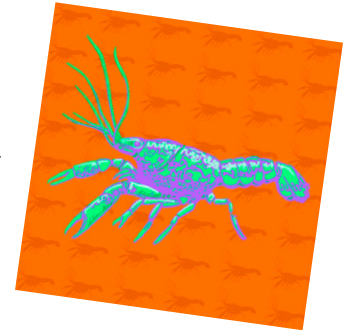
Et pourtant, cette extinction des espèces n'est pas la seule cause potentielle de cette « démence biologique » : les interventions sur le patrimoine héréditaire sont susceptibles de compromettre les informations qui y sont collectées, tant au niveau de leur structure que de leur cohérence et de leur fonction ; et par là conduire à l'apparition de processus perturbateurs. Pour rester dans cette analogie, une prolifération incontrôlée d'organismes génétiquement manipulés dans les populations naturelles risque de perturber leurs « souvenirs communs » des conséquences de l'évolution. On pourrait également parler, en référence à Dobzhansky, d'un « grand nombre de configurations génétiques discordantes qui ne sont ni en phase entre elles » ni avec celles produites par l'évolution et mettent donc en danger « l'intégrité des génotypes qui ont évolué sur une longue période et qui constituent les espèces existantes » (Dobzhansky, voir ci-dessus). (ibid.).

Si des organismes présentant des composants modifiés, de nouvelles molécules biologiquement actives ou des schémas de comportement modifiés, sont amenés à se répandre dans les populations naturelles, ils risquent de produire, par exemple, des « interférences » avec les écosystèmes et conduire à la modification, la perturbation ou la destruction des réseaux trophiques ou de communication naturels. Les éventuelles répercussions peuvent être multiples : effondrement des écosystèmes, accélération de l'extinction d'espèces, ou encore déplacement de l'équilibre écologique et des voies de développement de l'évolution. Les facteurs d'interférences peuvent par ailleurs s'en trouver renforcés et accélérés.

Les espèces invasives sont un exemple frappant de la perturbation des écosystèmes par l'introduction d'organismes inadaptés (néobiotes), du fait des humains dans la plupart des cas. Il existe cependant un certain nombre de différences essentielles entre les organismes génétiquement manipulés et la propagation de néophytes ou néozoaires : ceux-ci se propagent dans des environnements pour lesquels ils n'ont pas été initialement adaptés. Les organismes génétiquement manipulés sont a contrario des espèces dont les formes existantes sont adaptées à leur environnement et dont le pool génétique s'est vu modifié par l'ajout de nouveaux gènes ou l'introduction d'un nouveau type de gènes modifiés. La dynamique et les conséquences d'une propagation de nouvelles informations génétiques au sein d'espèces déjà établies dans leur environnement peuvent différer sensiblement de la propagation de nouvelles espèces au sein d'un écosystème en place.

4.1 L'écrevisse marbrée, exemple d'une propagation non contrôlée sans aucune manipulation génétique

L'écrevisse marbrée (*Procambarus virginalis*) constitue un excellent exemple pour traiter des points communs et différences entre les risques associés aux néobiotes d'une part, et aux organismes génétiquement manipulés d'autre part. L'organisme « de départ » était l'écrevisse des marécages (*Procambarus fallax*), présent dans l'écosystème floridien. Par l'intermédiaire d'un événement biologique unique, également appelé « macromutation » (Lyko, 2017), une nouvelle espèce issue de l'écrevisse des marécages a vu le jour, l'écrevisse marbrée, laquelle présente de nettes différences avec sa forme d'origine, tant dans son apparence que dans son comportement et sa composition génétique (Lyko, 2017). La différence la plus frappante est l'invasivité bien supérieure de l'écrevisse marbrée par rapport à l'écrevisse des marécages, en ce qu'elle peuple rapidement les habitats dans lesquels elle s'installe, au détriment des espèces naturellement implantées.



L'écrevisse marbrée est vraisemblablement le produit fortuit d'une activité humaine d'élevage. Les animaux élevés en aquarium jouent à cet égard un rôle central. La provenance exacte de l'écrevisse marbrée n'a jamais été clairement élucidée. Découverts pour la première fois en 1995 dans des aquariums en Allemagne (Lyko, 2017), ces animaux n'ont pas été reconnus comme une nouvelle espèce. Par l'intermédiaire des activités humaines du commerce, de l'évacuation d'eaux usées, ou encore utilisées en tant qu'appât de pêche, la nouvelle écrevisse s'est alors retrouvée dans un environnement naturel. Sa caractéristique particulière est son mode de reproduction : sa population ne comprend que des femelles qui peuvent se reproduire sans accouplement. On parle ici de parthénogénèse. D'importantes populations peuvent ainsi se développer en peu de temps, puisque les individus pondent une quantité d'œufs considérable (Lyko, 2017). Un aquarium dans lequel a été introduite une seule écrevisse marbrée risque ainsi rapidement de faire face à une surpopulation. L'écrevisse n'étant pas sélective en matière d'alimentation, se nourrissant aussi bien de plantes que d'autres animaux, elle représente rapidement une menace pour la cohabitation en aquarium. Afin d'éviter d'éliminer les animaux, les écrevisses ont été données ou déversées dans l'environnement. Les répercussions s'avèrent considérables.

En 20 ans, l'écrevisse marbrée est passée du statut d'habitant d'aquarium à celui d'espèce menaçant les espèces autochtones et leur environnement jusqu'à Madagascar (Gutekunst et al., 2018). On la retrouve notamment en Allemagne, en Hongrie, en Croatie et en Ukraine (Lyko, 2017). Entre-temps, la multiplication de l'écrevisse à Madagascar a atteint de telles proportions qu'un usage économique y est même aujourd'hui envisagé (Adriantsoa et al., 2019).

Sur le plan génétique, l'écrevisse marbrée se distingue principalement de sa plus proche parente, l'écrevisse des marécages, par un lot de chromosomes triple. Il est aujourd'hui entrepris de déterminer si ce lot de chromosomes multiple est à l'origine de sa capacité à la parthénogénèse (Martin, 2015). Selon toute vraisemblance, cette capacité provient d'autres effets issus d'une mauvaise division des cellules ayant eu lieu à la suite d'un accouplement, effets qui ont conduit à une modification des caractères biologiques de l'écrevisse, en particulier au niveau de la régulation de l'expression des gènes (Gatzmann et al., 2018 ; Vogt et al., 2008). En comparaison avec sa forme d'origine, l'écrevisse des marécages, de nombreux gènes de l'écrevisse marbrée ont perdu un ou tous leurs marqueurs épigénétiques (groupes méthyles), lesquels régulent et brident l'activité génétique. Parallèlement, l'expression de ces gènes tend à varier davantage (Gatzmann et al., 2018). Tous les descendants de l'écrevisse marbrée étant ainsi issus d'un seul clone, et les individus n'affichant entre eux que quelques variations génétiques minimales, des études cherchent aujourd'hui à déterminer si les dites modifications épigénétiques sont à l'origine de sa capacité d'adaptation (Gatzmann et al., 2018).

Son comportement particulièrement agressif permet par ailleurs à l'écrevisse marbrée de s'imposer face à des espèces plus robustes. Ceci étant, une modification de comportement frappante semble être devenue un avantage : contrairement aux autres écrevisses, l'individu ne manifeste aucun réflexe de combat ou de fuite en cas de contact avec ses ennemis, mais se fige dans un sursaut (Linzmaier et al., 2018). Elle se détache ainsi des schémas normaux attendus par l'adversaire, bénéficiant ainsi en quelque sorte de l'effet de surprise. Un autre avantage est probablement sa négligence partielle ou totale face aux signes d'avertissement déposés sous forme d'urine par les espèces autochtones. Quel que soit le scénario, sa réaction n'est pas conforme aux schémas attendus (Linzmaier et al., 2018). En comparaison avec son homologue non invasive, l'écrevisse des marécages, sa carapace et ses pinces sont en outre plus imposantes et sa ponte nettement plus prolifique (Lyko, 2017).

L'exemple de l'écrevisse marbrée révèle plusieurs aspects intéressants des risques d'une propagation incontrôlée d'organismes génétiquement manipulés : (i) L'altération des caractères des écrevisses provient de modifications apportées à son génome. La connaissance de cette « macromutation » ne signifie cependant pas que tous les nouveaux caractères des écrevisses sont prédictibles. La capacité d'adaptation accrue de l'écrevisse marbrée ne repose pas uniquement sur une altération de ses informations génétiques, mais également sur la variabilité accrue de son activité génétique. (ii) Pour pouvoir estimer correctement le potentiel invasif des écrevisses, il est nécessaire de connaître à la fois leur comportement réel dans un environnement naturel et leurs caractères phénotypiques propres. Les caractères de l'écrevisse présentant un intérêt dans l'évaluation des risques ne résultent pas seulement de sa composition (épi)génétique, mais en premier lieu de ses interactions avec son environnement.

L'écrevisse marbrée est un exemple extrêmement rare d'introduction d'une nouvelle espèce qui, amplifiée par l'activité humaine, a fait preuve d'une propagation particulièrement rapide dans l'environnement. Dans ce cas particulier, la propagation de l'écrevisse s'est produite beaucoup plus rapidement que l'adaptation des écosystèmes à son arrivée. En temps normal, l'évolution suit un cours nettement plus lent. Les mutations isolées chez un nombre limité d'individus au sein d'une population sont souvent vouées à disparaître. Si elles parviennent toutefois à s'imposer, les nouveaux caractères mettent un temps considérable à se propager dans la population et à avoir des effets significatifs sur les écosystèmes.

4.2 L'exemple de la « mouche monarque »

La biotechnologie permet de libérer dans l'environnement des populations importantes d'organismes non adaptés aux écosystèmes présents. Reposant sur un scénario différent de celui de l'écrevisse marbrée, de telles disséminations ne pourraient être considérées comme un événement fortuit rare. Avec des organismes tout à fait différents, leurs répercussions risqueraient de s'avérer rapides et nombreuses. Au lieu d'un événement unique comme dans le cas de l'écrevisse marbrée, ce scénario peut conduire à l'apparition de contraintes multiples, répétées et durables sur les systèmes naturels, et ainsi engendrer des répercussions imprévisibles sur l'environnement.

Un exemple intéressant de ce type de risque a été constaté dans le cas de la « mouche monarque » : une étude a apporté, par CRISPR/Cas, trois modifications à un gène de la drosophile (*Drosophila melanogaster*) (Karageorgi et al., 2019). Le gène ATPalpha, intervenant dans de nombreux processus biologiques, a ainsi été « édité » de sorte à présenter une structure similaire au gène équivalent chez le papillon monarque. Des procédés SDN-2 ont ainsi été mis en œuvre, n'impliquant aucun ajout de gène dans le génome, mais une



modification ciblée du génome en trois emplacements, de sorte à conférer à l'espèce de nouveaux caractères biologiques (voir « Qu'est-ce que les nouvelles techniques de manipulation génétique ? »).

L'effet biologique est complexe : sans l'insertion de gènes supplémentaires, les mouches ont bénéficié d'une meilleure aptitude et d'un net avantage sur le plan de l'évolution : comme le papillon monarque (et certaines autres espèces d'insectes), elles sont maintenant immunisées contre les glycosides cardiaques toxiques sécrétées par certaines plantes, bénéficiant ainsi d'un « menu » élargi en conséquence pour se nourrir ou nourrir leurs larves. Elles sont par ailleurs en mesure (mouches et larves) de stocker le poison ingéré en vue de se protéger contre leurs prédateurs.

Trois modifications mineures ont ainsi suffi (moins de 10 paires de bases au total), mais il a fallu les réaliser de manière combinée en ciblant les effets sur le seul gain de la résistance contre le poison souhaité. Il s'est avéré que certaines des variantes de gènes ont conduit à un affaiblissement des mouches après un test de stress. À l'origine de ce phénomène : le gène affecté prend part à plusieurs processus biologiques, affichant ainsi des effets dits « pléiotropes ». C'est seulement lorsque la combinaison tout entière des modifications génétiques a été « optimisée », que les mouches ont montré la combinaison attendue d'une vitalité et d'une résistance normale contre le poison des plantes et par conséquent se sont révélées « immangeables » par leurs prédateurs.

Selon la Commission centrale allemande pour la sécurité biologique (ZKBS, 2012) et l'expertise du Centre commun de recherche de l'Union européenne (Lusser et al., 2011), les modifications de séquences d'ADN (au moins pour les plantes) impliquant moins de 20 nucléotides et les organismes concernés ne seraient pas soumis à la directive de l'UE sur les organismes génétiquement modifiés. L'exemple de la « mouche monarque » démontre toutefois que le nombre de modifications génétiques ou leur portée n'est pas nécessairement pertinent à cet égard, mais plutôt le schéma spécifique de la modification génétique apportée et de la combinaison d'informations génétiques en résultant.

Si des combinaisons correspondantes se produisaient de manière spontanée chez la drosophile, il n'est aucunement garanti que les caractères engendrés se propageraient dans la population. Pour cela, l'amélioration obtenue doit être suffisamment évidente pour que son apparition chez des individus isolés suffise à déclencher leur propagation au sein d'une population. Si les nouvelles combinaisons génétiques étaient ainsi amenées à s'imposer, la durée considérable du processus d'adaptation laisserait aux écosystèmes tout le temps nécessaire pour s'adapter.

Si toutefois un grand nombre de drosophiles aux nouveaux caractères génétiques était introduit d'un seul coup dans l'environnement, comme dans le cas de la dissémination d'un organisme transgénique, les capacités d'adaptation des écosystèmes seraient tout à fait dépassées. Les effets réels d'une telle opération ne pourraient toutefois être déterminés que par une dissémination effective (et probablement irréversible). Il n'est pas possible de prévoir avec fiabilité les interactions réelles des organismes génétiquement manipulés avec l'environnement.

Les drosophiles et leurs larves servent avant tout de nourriture à d'autres insectes et aux amphibiens. En l'occurrence, ce caractère de résistance aux glycosides cardiaques existe bien chez d'autres insectes, mais leurs environnements écologiques ont eu le temps de s'y adapter. Outre la chenille du monarque, il existe d'autres espèces résistantes aux glycosides cardiaques toxiques, elles présentent aussi des couleurs vives (*Oncopeltus fasciatus* B. ; *Aphis nerii* ; *Myzus persicae*).

D'une manière générale, on peut craindre que la dissémination d'organismes NTG et leur propagation dans les populations naturelles ne dépassent rapidement les capacités d'adaptation des écosystèmes.

La biotechnologie risque ainsi, outre les effets de l'activité humaine tels que le changement climatique, de contribuer considérablement à déstabiliser les écosystèmes ou d'aggraver encore les effets en résultant. De nombreuses espèces végétales et animales NTG seraient susceptibles de se propager dans les populations naturelles. Pour plusieurs de ces organismes, la dissémination a déjà été programmée, voire mise en œuvre. Comme pour la drosophile, quelques modifications génétiques mineures suffisent à conférer de nouveaux caractères biologiques complexes à une espèce, et ce sans ajout de gènes. Ces modifications peuvent porter sur (i) la constitution des composants, (ii) les processus métaboliques et (iii) la résistance vis-à-vis des ravageurs, et impliquer une altération considérable des interactions de l'organisme modifié avec l'environnement.

Comme le démontrent notamment les autorisations déjà accordées aux États-Unis pour des plantes NTG (Testbiotech, 2019), la dissémination et l'usage agricole ont déjà été autorisés sans contrôle pour de nombreuses espèces, souvent manipulées à la fois avec les anciennes et nouvelles techniques génomiques. Nombre d'entre elles affichent des caractères que l'on n'attend ni dans le cadre d'une culture conventionnelle, ni dans les processus de l'évolution. Certaines espèces, telles que la cameline, peuvent survivre dans leur environnement et s'y propager en se multipliant. La contrainte potentielle sur les écosystèmes, au long terme, n'a pas été étudiée dans le cadre de leur autorisation.

Des disséminations impliquant des populations naturelles importantes d'insectes, d'arbres et d'autres plantes et animaux sauvages NTG, pourraient avoir lieu dans un avenir proche.

Dans le cas de l'écrevisse marbrée, la nouvelle espèce ne peut déjà plus être récupérée de l'environnement. On peut seulement espérer qu'elle disparaisse d'elle-même. À ce jour, aucun signe ne laisse cependant présager ce scénario. Pour les organismes NTG, en revanche, il n'est pas encore trop tard : on a encore le choix de les introduire dans la nature ou pas. Nous pouvons encore décider si nous souhaitons ou non modifier génétiquement les populations naturelles et « jouer à l'apprenti sorcier » avec l'évolution. Si l'implication de l'homme dans l'apparition des écrevisses marbrées demeure obscure, la responsabilité des répercussions d'une application désastreuse de la biotechnologie ne laisse aucune place au doute.

4.3 L'exemple du mammoth

Une autre application possible des NTG résiderait dans la réintroduction d'espèces déjà éteintes (UICN, 2019 ; Church & Regis, 2012). Church et son co-auteur expriment ainsi le souhait de ressusciter le mammoth ou l'homme de Néandertal :

« Une technique ultérieure en cours de développement dans mon laboratoire de Harvard nous permettra de ressusciter pratiquement n'importe quel animal éteint dont le génome est connu ou peut être reconstruit à partir de restes fossiles, même des mammoth laineux, un pigeon voyageur et encore l'homme de Néandertal. (...)

les séquences des génomes du mammoth laineux et de l'homme de Néandertal ont été pratiquement reconstruites ; les informations génétiques qui définissent ces animaux existent, sont connues et stockées dans des bases de données informatiques. Le problème est de convertir ces informations - ces séquences abstraites de lettres - en de véritables chaînes de nucléotides qui constituent les gènes et les génomes des animaux en question.

Cela pourrait être fait par la technologie MAGE - génie génomique multiplexe automatisé. » (p. 11)

Pour ce faire, Church & Regis (2012) font référence au procédé dit MAGE (pour « Multiplex Automated



Genome Engineering », voir aussi Carr et al., 2012), lequel ne repose pas sur le transfert de larges séquences de gènes, mais sur la « réécriture » progressive d'un génome existant par édition génomique (dans le cas du mammouth, on partirait du génome de l'éléphant) : il s'agirait de remplacer individuellement les paires de bases dans l'ADN et ainsi en modifier l'information génétique jusqu'à transformer le génome de l'éléphant en celui du mammouth. Dans un tel procédé, chaque étape semble claire et simple. Ajoutées les unes aux autres, ces nombreuses étapes conduiraient cependant à la production d'un nouvel organisme (le mammouth) affichant des caractères biologiques et un comportement tout à fait divergents de sa forme initiale (l'éléphant), et, en conséquence, des interactions fondamentalement différentes avec l'environnement.

Cet exemple démontre la puissance de ces nouveaux outils biotechnologiques et des schémas de modification apportés, même s'il ne s'agit apparemment que de modifications mineures et répétées, effectuées progressivement sur le génome : bien que cette méthode ne permette pas de redonner vie à des espèces éteintes, il s'agit cependant de modifier de larges séquences du génome.

L'exemple du mammouth illustre par ailleurs un autre aspect. Si l'on parvenait à réaliser cet accomplissement utopique de George Church au niveau de la séquence d'ADN, l'objectif final serait loin d'être atteint : le génome réécrit devrait également être conformé à celui du mammouth sur le plan de la régulation épigénétique de l'expression des gènes. Les individus de l'espèce recrée ne s'avéreront viables et ne correspondront effectivement pas au mammouth originel, dans leur apparence comme dans leur comportement, que si cette partie du processus peut également être assurée. Cette régulation épigénétique correspondait cependant aux conditions environnementales de l'époque. Il est impossible de savoir quel type de régulation serait nécessaire aujourd'hui.

Toute erreur dans la régulation de l'expression des gènes aura entre autres des répercussions sur le développement embryonnaire et la santé des individus de l'espèce. Les lourdes conséquences d'une épigénétique erronée sur des mammifères ont déjà été plusieurs fois démontrées lors de tentatives de clonage de spécimens bovins, ovins ou porcins : la majorité des individus clonés, pourtant sans manipulation génétique, meurt à la naissance ou souffre de maladies graves causées par une mauvaise régulation de leur génome, laquelle se reflète par de graves répercussions sur le développement des embryons (EGE, 2008). Il faut partir du principe que des problèmes similaires risquent de se produire avec les mammouths, et ce probablement dès le développement de l'individu dans l'utérus de l'éléphante porteuse.

L'importance de l'épigénétique n'est pas seulement évidente lorsque l'on envisage la réécriture d'un génome : elle joue généralement un rôle important pour l'évaluation des risques liés aux organismes génétiquement manipulés. En effet, les procédés employés pour la modification de leurs gènes peuvent également conduire à une altération de la régulation de l'expression des gènes, laquelle, avec l'évolution de l'environnement, peut conduire à l'apparition de nouveaux caractères qui ne seraient pas observés en laboratoire, ou même lors d'essais au champ (cf. tab. 1). Si ces organismes doivent survivre dans leur environnement et s'y multiplier, ils doivent donc être étudiés dans différentes conditions environnementales et sur plusieurs générations avant qu'une évaluation des risques puisse être réalisée. Le problème réside précisément en ce que de nombreux organismes ainsi introduits ne peuvent plus être éradiqués.

L'édition génomique permet de créer des organismes présentant de nouvelles combinaisons génétiques

Jusqu'à aujourd'hui, la plupart des modifications entreprises sur la séquence d'ADN par édition génomique – ou nouvelles techniques génomiques – étaient mineures et destinées à des applications SDN-1. Ces légères modifications sont souvent présentées comme isolées et leur impact minimisé. Les possibilités d'altération du génome offertes par la technique CRISPR/Cas9, en revanche, sortent du cadre des modifications isolées et des mutations dites ponctuelles de la séquence d'ADN. En définitive, de telles modifications risquent de conduire à la reprogrammation d'organismes tout entiers :

- Plusieurs gènes peuvent être modifiés en même temps au sein d'un organisme. Dans un tel cas, l'objectif est de modifier les processus métaboliques complexes en vue, par exemple, de créer des plantes mieux adaptées à certaines conditions de stress. Lorsque l'on modifie consécutivement ou simultanément plusieurs séquences différentes d'ADN dans un organisme, on parle alors de multiplexage. Une manipulation de ce type a notamment été conduite sur du riz, en altérant huit gènes différents afin de lui conférer un meilleur rendement, ainsi qu'un arôme et un aspect différents (Shen et al., 2017).
- Les plantes ont parfois un génome très complexe, certaines présentent plusieurs lots de chromosomes ou un très grand génome, composé de séquences d'ADN répétées. Leurs gènes disposent donc souvent d'un nombre important de copies, et la désactivation ou la modification de plusieurs copies d'un gène est souvent difficilement réalisable avec les procédés conventionnels. Les NTG permettent de désactiver d'un seul coup toutes les copies (allèles) d'un gène. Sur la canne à sucre, la technique des « ciseaux génétiques » dite TALEN a notamment permis de modifier 107 des 109 allèles du gène COMT, améliorant ainsi le rendement de la plante pour la production de biocarburant (Kannan et al., 2018).
- La technique des « ciseaux génétiques » CRISPR/Cas9 permet de séparer les gènes appariés qui sont transmis sous cette forme, dans le cadre d'une hérédité naturelle, aux générations suivantes. Pour l'orge ou la tomate, par exemple, une large partie du génome est transmise sous forme appariée. Dans la tomate, notamment, le gène responsable du développement de la zone de séparation entre la tomate mûre et la tige est transmis conjointement avec un gène responsable de la forme du fruit. En cas de modification du gène de zone de séparation, les plants de tomates produiront des fruits déformés. Avec la technique CRISPR/Cas9, les deux caractères peuvent désormais être séparés et transmis sous cette forme aux générations suivantes (Roldan et al., 2017).
- Les mutations naturelles ont lieu de manière spontanée et non dirigée. Elles peuvent être issues d'erreurs lors de la réplication de l'ADN ou déclenchées par des facteurs externes tels que la lumière du soleil ou des substances chimiques. Le résultat immédiat peut être une erreur d'appariement au niveau de certaines lettres de l'ADN, conduisant à une activation du mécanisme de réparation des mésappariements. Lorsque ce mécanisme est déclenché, une série de mutations a lieu au niveau des régions concernées du gène (Belfield et al., 2018). Ces régions peuvent désormais être modifiées par CRISPR/Cas9, en particulier puisqu'il est indiqué que l'emploi de la technique CRISPR/Cas9 tend à conduire davantage à la modification de séquences ciblées qu'au rétablissement d'un état d'origine (Brinkman et al., 2018).

La technique CRISPR/Cas peut ainsi être mise en œuvre de diverses manières pour la production de nouvelles combinaisons génétiques, jusqu'alors impossibles à obtenir au moyen des techniques conventionnelles (Kawall, 2019). D'une manière générale, il est possible de produire des organismes présentant des combinaisons génétiques impossibles ou fortement improbables dans un scénario de mutagenèse naturelle ou induite.

Effets indésirables de la technique CRISPR/Cas9

L'emploi de la technique CRISPR/Cas9 doit prendre en compte la possibilité de divers effets indésirables :

- Les composants de détection des « ciseaux génétiques » CRISPR/Cas9 risquent en partie de se diriger vers des séquences d'ADN similaires à la séquence ciblée et y apporter des modifications indésirables. La survenue de ces erreurs de ciblage (effets « hors cible ») dépend de nombreux facteurs différents, lesquels doivent être déterminés par les scientifiques lors de la réalisation d'expériences de CRISPR/Cas. Des procédés de séquençage (en anglais : Whole Genome Sequencing) permettront de décrypter le génome complet des plantes concernées et de rechercher tous les effets possibles en cas d'effet off-target. À ce jour, cependant, la plupart des publications ne mentionnent l'étude d'altérations indésirables que sur quelques-unes des régions à risque (Modrzejewski et al., 2019).
- Outre les effets off-target, des expérimentations menées sur des plantes (Liang et al., 2017) et des animaux (Norris et al., 2019 ; Young et al., 2019) ont également eu pour effet l'introduction fortuite de fragments d'ADN à l'intérieur ou à proximité des séquences ciblées.
- Les modifications volontaires de la séquence ciblée peuvent, quant à elles, conduire à une mauvaise lecture du gène concerné et à un raccourcissement de la protéine produite ou une altération de ses fonctions. Il a ainsi été démontré que, dans certains cas, des portions entières d'un gène, différemment traduites, peuvent conduire à la production d'une autre protéine, selon l'effet appelé « saut d'exon » (Sharpe et al., 2017 ; Tuladhar et al., 2019 ; Kapahnke et al., 2016 ; Mou et al., 2017).
- Dans la zone périphérique à la région ciblée, ce phénomène peut conduire à de larges modifications de l'ADN. Jusqu'à présent, il a essentiellement été constaté sur les cellules humaines et animales (Kosicki et al., 2018). D'après Hahn et Nekrasov (2019), ces effets peuvent également être rencontrés chez les végétaux, mais le travail de recherche doit encore se poursuivre dans ce domaine, les auteurs indiquent également pourquoi des effets secondaires importants résultant du ciblage correct (effets « on-target ») sont souvent ignorés.
- L'application des NTG sur les plantes s'accompagne le plus souvent du recours aux techniques plus anciennes telles que la transformation par *Agrobacterium* ou par biolistique. Ces procédés plus anciens comportent aussi un certain risque d'effets indésirables dans le génome (Forsbach et al., 2003; Jupe et al., 2019; Kim et al., 2003; Latham et al., 2006; Makarevitch et al., 2003; Rang et al., 2005; Windels et al., 2003).
- Contrairement aux anciennes techniques, principalement employées pour l'insertion de gènes visant à conférer aux plantes une résistance à tel herbicide ou une production d'insecticide, les nouvelles techniques confèrent également aux plantes des caractères impliquant une altération de leurs voies métaboliques. En règle générale, les conséquences involontaires des modifications souhaitées sur les voies métaboliques ne sont pas étudiées. Les biomolécules telles que les protéines, l'ARN et l'ADN interagissent en permanence entre elles. La désactivation ou la modification d'un gène peut avoir des répercussions sur d'autres voies métaboliques ou de signalisation. Ainsi, les plus infimes modifications du génome présentent le risque de conduire à l'altération fortuite de certains caractères essentiels des plantes.

5. Le rapport de l'UICN

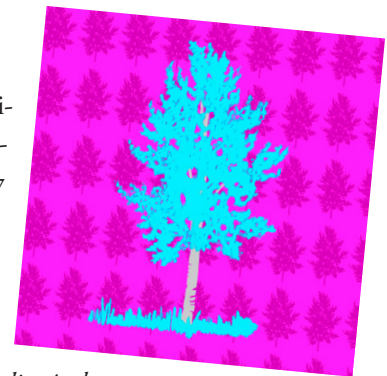
En 2019, l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN) a publié un rapport présentant et analysant diverses applications des techniques de manipulation génétique anciennes et nouvelles sur le plan de la préservation de la biodiversité. Celles-ci sont désignées sous l'appellation « biologie de synthèse ». Le rapport traite d'un large spectre d'applications biotechnologiques en laboratoire jusqu'aux applications dans l'agriculture et sur les populations naturelles. Les exemples incluent notamment leur emploi sur les arbres, les insectes, les coraux, les amphibiens et les mammifères.

Le rapport approuve davantage l'emploi du génie génétique sur les populations naturelles qu'il ne le remet en question. Cela est sans doute dû au fait que de nombreux experts ayant des intérêts dans le développement et l'emploi de ces techniques ont contribué à son élaboration. Quoiqu'il en soit, une lecture détaillée révèle que, dans de nombreux cas, le rapport de l'UICN n'accorde pas une importance suffisante à la protection des espèces et au principe de précaution. Nous présentons ci-après trois exemples extraits du rapport. Nous ne choisissons volontairement pas le cas du forçage génétique, qui fait déjà l'objet d'une importante controverse au niveau sociétal (pour un aperçu, voir CSS, 2019; Giese et al., 2019; cf. Gleich & Schroder, 2020; Dolezel et al., 2020). Nous étudions plutôt des exemples passés n'ayant pas attiré l'attention publique jusqu'alors. Nos résultats restent cependant pertinents dans le cadre d'une discussion sur le forçage génétique.

5.1 Le châtaignier aux États-Unis

Le rapport de l'UICN (2019) mentionne en particulier l'exemple des châtaigniers (chestnut trees), auxquels peut être conférée à travers des NTG une résistance à certaines maladies cryptogamiques. Comme l'explique le rapport (p. 87 de la version anglaise) :

« Des chercheurs du College of Environmental Science and Forestry de Syracuse, à New York, ont produit des châtaigniers d'Amérique qui semblent promettre de tolérer l'infection par la brûlure du châtaignier (Zhang et al., 2013). Cet objectif a été atteint en insérant un seul gène provenant du blé dans une nouvelle lignée de châtaigniers américains (Zhang et al., 2013). »



Après leur dissémination, les arbres transgéniques issus des NTG doivent se propager dans les populations naturelles :

« Le croisement d'arbres transgéniques produits en laboratoire avec des châtaigniers d'Amérique survivants a le potentiel d'intégrer une diversité génétique et des adaptations régionales nécessaires dans les générations futures de châtaigniers d'Amérique, tout en les protégeant du chancre du châtaignier - *Cryphonectria parasitica* (...). »

Les arbres sont décrits comme sans risque pour l'environnement :

« Les châtaigniers transgéniques ont été testés pour détecter la présence de nombreux autres organismes, y compris les ectomycorhizes (champignons symbiotiques associés aux racines qui facilitent l'absorption d'eau et de nutriments), les têtards qui consomment la litière de feuilles et les graines indigènes, et les tests à ce jour n'ont montré aucun effet négatif par rapport à la culture traditionnelle (...). »

La maladie en question (le chancre du châtaignier, *Cryphonectria parasitica*) a initialement été importée d'Asie par inadvertance. Le champignon pathogène produit une toxine qui a provoqué une réduction considérable du peuplement naturel des châtaigniers. En 2018, il ne restait plus dans certaines régions que quelques arbustes et rejets de souches (NAS, 2019).

Les arbres transgéniques ont été développés depuis plusieurs années, mais n'ont pas encore été mis en contact avec l'environnement. Dans leur plus récente version, l'effet d'un gène issu du blé a été considérablement renforcé (Zhang et al., 2013). Ces jeunes variantes des arbres manipulés sont des clones d'un seul et même spécimen plus ancien (cf. Popkin, 2018).

Pour l'heure, aux États-Unis, la question que l'on se pose est de savoir si la variante transgénique de l'arbre peut être plantée sans développement d'une version supplémentaire (Smolker & Petermann, 2019). Dans le même temps, un autre projet est mené pour tenter de croiser l'essence américaine de l'arbre avec son cousin asiatique, qui présente une résistance naturelle au champignon concerné, selon les méthodes conventionnelles (Steiner et al., 2016). S'il semble prometteur, ce programme est cependant de très longue durée.

Le rapport de l'UICN affiche un manque crucial quant aux risques représentés par les arbres transgéniques : les arbres peuvent vivre plus de 200 ans, et passent par divers stades de croissance, floraison, développement de la graine et vieillissement. Pendant cette période, ils peuvent être confrontés à de nombreux changements environnementaux, notamment climatiques (cf. par ex. Smolker & Petermann, 2019).

Il existe en outre d'autres champignons pathogènes, tels que le *Phytophthora cinnamomi*, dont il est connu qu'ils peuvent également contaminer les arbres. La réaction des arbres NTG à ces champignons ou aux autres facteurs de stress est à ce jour largement inconnue (NAS, 2019). Les arbres issus d'une culture conventionnelle, quant à eux, semblent résister aux deux maladies (Steiner et al., 2016).

En réaction aux différents facteurs de stress, il est tout à fait possible que les arbres ou leurs descendants développent des caractères non pris en compte à l'origine, lors de la création de la première génération d'arbres transgéniques. Quoique représentant une incertitude considérable sur le plan de l'évaluation des risques, cet aspect n'est pas mentionné dans le rapport de l'UICN.

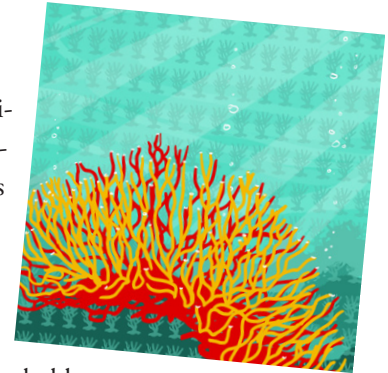
Par ailleurs, le rapport de l'UICN ne traite pas non plus des effets éventuels en cas de croisement avec d'autres arbres : Si les arbres NTG sont amenés à se croiser avec les populations naturelles, les caractères biologiques des descendants hybrides peuvent différer considérablement de ceux étudiés en conditions de laboratoire, sous serre ou lors d'essais en plein air. Ce phénomène peut notamment être causé par les variations génétiques du génome des arbres sauvages, nettement plus hétérogène que le génome des clones transgéniques.

Il est ainsi impossible d'évaluer avec fiabilité les risques associés aux arbres transgéniques sur la base d'une étude conduite sur quelques années seulement (cf. Bauer-Panskus et al., 2020). Par ailleurs, les études d'interactions avec l'environnement rapportées par l'UICN reposent uniquement sur certaines espèces sélectionnées, lesquelles ne sauraient représenter la complexité et la diversité des écosystèmes de manière exhaustive.

Si le pollen des arbres NTG est dispersé par le vent ou si leurs graines sont dispersées par l'activité humaine ou la faune, les arbres ou leurs descendants risquent de se répandre de manière incontrôlée dans les forêts et causer une propagation de leurs gènes dans les populations sauvages existantes. Si des dommages sur les écosystèmes étaient alors constatés, il risquerait d'être trop tard pour éradiquer les arbres transgéniques de l'environnement. Une plantation d'arbres acceptant la propagation non contrôlée constitue ainsi une infraction au principe de précaution. Le rapport de l'UICN aurait impérativement dû traiter ces problèmes.

5.2 Les coraux génétiquement manipulés

Les auteurs du rapport de l'UICN traitent également des possibilités de modification par CRISPR/Cas9 des coraux et des micro-organismes vivant en symbiose avec eux, afin de renforcer leur capacité d'adaptation aux changements climatiques et à l'augmentation de température en résultant. Les coraux sont des organismes complexes, également appelés holobiontes, qui vivent en symbiose avec des algues et d'autres micro-organismes tels que des bactéries et des archéobactéries, lesquels produisent les substances nécessaires à la vie et à la survie des coraux (Rosenberg & Rosenberg-Ziller, 2016). On peut penser que le blanchissement des coraux causé par le changement climatique joue un rôle important dans la perturbation de la symbiose entre les corps pluricellulaires des coraux (polypes) et leurs micro-algues endosymbiotiques (*Symbiodiniaceae spp*). Les premières études ont suggéré des méthodes de mise en œuvre des nouvelles biotechnologies pour protéger les micro-algues (*Symbiodiniaceae spp*) contre les dégâts causés par la chaleur (Levin et al., 2017). Rosenberg & Rosenberg-Ziller (2016) décrivent comment les symbioses contribuent à la diversité génétique des systèmes coralliens et à leur évolution. Ils se rapportent à des travaux de recherche révélant que la composition des micro-organismes associés peut changer spontanément en cas de variation des conditions environnementales, se traduisant ainsi en une adaptation des coraux jusqu'à une hausse de un à deux degrés de la température de l'eau (voir aussi Oliver & Palumbi, 2010). D'autres travaux de recherche rapportent également la capacité naturelle d'adaptation extraordinaire des coraux (Kersting & Linares, 2019 ; Kenkel & Matz, 2016). Les différents mécanismes permettant à certains systèmes coralliens de s'adapter aux changements climatiques sont pourtant encore loin d'être entièrement compris. Il est notamment impossible de prédire comment les interactions entre les coraux et leurs symbiotes peuvent être influencées par des manipulations génétiques. Il aurait fallu souligner les effets possibles de telles altérations sur les interactions entre les coraux et leur microbiome, ainsi que sur la forte incertitude demeurant en matière d'évaluation des risques, au regard de la protection des espèces.



À ces questions s'ajoute le problème suivant : une fois disséminés, les holobiontes NTG ne peuvent plus être éradiqués des systèmes coralliens. Si le rapport de l'UICN évoque bien ce problème, la mention demeure très évasive :

« Il doit également être envisagé que là où la biologie synthétique est utilisée pour modifier la niche fondamentale d'une espèce (l'ensemble des conditions dans lesquelles elle peut survivre et se reproduire), elle pourrait potentiellement modifier les trajectoires écologiques et évolutives de cette espèce (avec des effets potentiellement délétères à long terme, par ex., en cas d'adaptation au changement climatique et celui-ci serait au final inversé). » (p. 92)

Il aurait été nécessaire de développer ces réflexions et d'intégrer systématiquement ces craintes dans les études de cas. On risquerait par ailleurs de donner l'impression que des interventions de ce type dans des systèmes complexes pourraient être réalisées et contrôlées dans un avenir proche.

5.3 Les abeilles mellifères génétiquement manipulées

Le rapport de l'UICN évoque également la mise en œuvre des NTG pour renforcer la résistance des abeilles mellifères aux influences néfastes de leur environnement. Il s'agirait pour cela de modifier la composition de leur microbiote intestinal au moyen d'une intervention génétique. De manière notable, le rapport estime toutefois que l'intervention suggérée sur le système immunitaire des abeilles risque de les affaiblir et déconseille une telle mesure.

Il ne faut cependant pas oublier que les ciseaux génétiques CRISPR/Cas et d'autres nouvelles biotechnologies ont d'ores et déjà été mis en œuvre pour modifier les abeilles mellifères afin de créer des colonies d'abeilles résistantes aux pesticides. Les premières expérimentations de modification des abeilles à cette fin ont été menées en Corée du Sud (Lee, 2019). D'autres publications mentionnent également des projets similaires (McAfee et al., 2019).

Au regard de la biologie extrêmement complexe des colonies d'abeilles et de leurs multiples interactions avec l'environnement, une telle approche s'oppose clairement aux objectifs de protection des espèces et à la préservation de la diversité biologique. Le rapport de l'UICN ne considère pas ce problème à sa juste mesure.



6. Problèmes liés à l'emploi des nouvelles techniques génomiques

Toutes les techniques génomiques, nouvelles comme anciennes, présentent des risques spécifiques (pour plus de détails : Testbiotech, 2020). En outre, les procédés employés s'étendent souvent sur plusieurs étapes. Notamment, (i) sur les plantes, les techniques génomiques nouvelles et anciennes sont souvent combinées, (ii) sur les animaux d'élevage, des procédés de clonage y sont souvent ajoutés, (iii) dans de nombreux cas, plusieurs manipulations génétiques sont combinées par croisement ou (iv) les procédés sont répétés plusieurs fois (voir aussi Eckerstorfer et al., 2019).

Enfin, il ne suffit pas de vérifier la bonne obtention des caractères recherchés sur le « produit final » ou l'organisme en résultant. Pour prendre en compte les bonnes questions en matière d'évaluation des risques, les mesures appropriées doivent être systématiquement mises en œuvre. À cet égard, il est bon de saluer la directive 2001/18/CE de l'Union européenne qui a imposé la réalisation d'évaluations des risques sur les organismes génétiquement modifiés. En conséquence, tous les procédés impliquant l'introduction dans les cellules de matériel préparé à l'extérieur de celles-ci afin d'en modifier les caractères génétiques sont soumis à cette réglementation.

Au sein de l'évaluation des risques, il faut également prendre en compte les interactions avec les écosystèmes et micro-organismes associés ainsi que les réactions aux conditions de stress, ou encore les effets possibles sur les générations suivantes. Ces mesures concernent particulièrement les organismes génétiquement manipulés devant survivre dans leur environnement, voire s'y multiplier. L'objectif de l'évaluation des risques doit être de parvenir à une estimation aussi réaliste que possible des caractères des organismes dans un contexte de conditions environnementales variables et sur plusieurs générations.

Toutes les expériences existantes (cf. Tableau 1) amènent à la conclusion que les caractères décrivant les organismes génétiquement manipulés (plantes) en laboratoire ou en conditions contrôlées ne suffisent pas à prédire tous les caractères pertinents qui peuvent apparaître chez leurs descendants et dans leurs interactions avec l'environnement (Bauer-Panskus et al., 2020).

Table 1: Existing knowledge of genetically engineered organisms with particular relevance for risk assessment of genetically engineered organisms that can persist and propagate in the environment

Issue	Findings
Stabilité génétique de la descendance	Les descendants des organismes peuvent présenter des caractères non rencontrés dans les premières générations (Kawata et al., 2009 ; Cao et al., 2009 ; Yang et al., 2017).
Interactions avec le patrimoine génétique	Les interactions avec le patrimoine génétique peuvent produire des effets inattendus (Bollinedi et al., 2017 ; Lu and Yang, 2009 ; Vacher et al., 2004 ; Adamczyk & Meredith, 2004 ; Adamczyk et al., 2009).
Interactions avec l'environnement répercutées au niveau du génome	Les interactions avec l'environnement peuvent engendrer des effets inattendus (Zeller et al., 2010 ; Matthews et al., 2005 ; Meyer et al., 1992 ; Trtikova et al., 2015 ; Then & Lorch, 2008 ; Zhu et al., 2018 ; Fang et al., 2018).

Pour de nombreux exemples cités dans le rapport de l'UICN, l'étude de leurs caractères et répercussions ne s'avérerait possible qu'après dissémination. Dans le cas des coraux, insectes, micro-organismes et arbres, les problèmes soulevés s'avèrent considérables puisque, le plus souvent, aucune limitation de la dissémination n'est clairement définie en termes de durée et d'étendue de propagation.

Une question fondamentale en résulte alors : si la dimension spatio-temporelle ne peut être clairement définie, l'évaluation des risques doit prendre en compte l'évolution. Se produisant sur de très longues durées, les processus de l'évolution rendent possible la survenue d'évènements n'ayant que de faibles probabilités de se produire (Breckling, 2013), rendant impossible la réalisation d'une évaluation fiable des risques sur la durée (cf. Then et al., 2020). La dissémination d'organismes génétiquement manipulés sans contrôle spatio-temporel suffisant revient à jouer à la roulette russe avec la diversité biologique.

7. Conclusions et recommandations

La biosphère dont nous faisons partie repose sur un réseau d'interactions multidimensionnel. L'information génétique n'est pas seulement décisive pour le phénotype des organismes, mais également pour leurs voies de communication, leur comportement et leurs instincts, ou encore les symbioses et les structures complexes formées au sein des populations, comme par exemple les superorganismes que sont les « insectes sociaux ».

Supposer que l'intelligence humaine est en mesure d'intervenir de manière sûre et prédictible sur les éléments fondamentaux de la vie au moyen de la biotechnologie n'est absolument pas plausible. Au contraire, à l'instar des organismes pathogènes menaçant l'existence de nombreuses espèces, souvent transportés et propagés par l'activité humaine, les organismes NTG introduits dans les populations naturelles pourraient mettre en péril la santé des humains, de la faune et de la flore, ainsi que la diversité biologique.

À cet égard, il est nécessaire de considérer que les caractères des organismes génétiquement manipulés tels qu'ils se présentent en laboratoire ou en conditions d'étude contrôlées peuvent différer considérablement de ceux susceptibles d'être rencontrés dans un autre environnement ou au bout de plusieurs générations.

Partant de ce principe, il serait irresponsable de disséminer des organismes génétiquement manipulés capables de se propager et de se multiplier dans l'environnement sans être en mesure d'en contrôler les conditions spatiales et temporelles. Que l'on ait recours à des techniques génomiques anciennes ou nouvelles, que l'information génétique soit ajoutée, modifiée ou supprimée, ces organismes ne sont pas issus de « l'expérience de l'évolution ». Leur propagation non contrôlée représente ainsi, pour reprendre Dobzhansky (mentionné plus haut), un risque de formation d'un « grand nombre de schémas génétiques discordants entre eux » et de ruine de « l'intégrité des génotypes résultant d'une longue évolution et constituant les espèces existantes. »

D'une manière générale, les problèmes liés à la protection de la diversité des espèces ne peuvent être résolus par le remplacement des espèces menacées au profit d'organismes NTG. Au regard du grand nombre d'espèces menacées par les changements climatiques et autres influences d'origine humaine, il est clair qu'une priorité absolue doit être donnée aux mesures visant à circonscrire les dégâts sur l'environnement. Nous ne pouvons réparer la diversité biologique naturelle en ressuscitant le mammouth ou en rendant les abeilles résistantes aux pesticides. Il est en revanche nécessaire d'établir des barrières efficaces face à la biotechnologie afin d'éviter qu'elle ne contribue à déstabiliser les écosystèmes et à accélérer la disparition des espèces.

À cette fin, deux règles doivent avant tout être appliquées aux nouvelles techniques comme aux anciennes :

- L'obligation de réglementation et d'autorisation, selon les procédés considérés, doit porter sur l'ensemble des organismes génétiquement manipulés, y compris lorsqu'aucun gène n'a été ajouté.
- Le contrôle des organismes génétiquement manipulés dans l'espace et le temps doit être garanti. Cela signifie que toute dissémination doit absolument s'accompagner d'une possibilité de contrôle efficace et de « réversibilité ».

Dans nos actions, nous devons également prendre en compte les générations à venir qui ont le droit de vivre dans un monde riche d'une diversité biologique issue de sa propre dynamique et non d'un travail en laboratoire.

Sur ce plan, nous devons saluer la propension générale croissante, non seulement à traiter la nature et les êtres vivants avec respect, mais également à les considérer comme disposant de droits, afin de mieux les protéger contre les abus et la destruction (Chapron et al., 2019 ; Boyd, 2018). Dans un tel contexte, il sera nécessaire de définir dans quelle mesure le « droit » des espèces naturelles et de la diversité biologique, quant à la préservation de leur intégrité génétique naturelle et de leur développement, peut être inclus à la législation. La diversité biologique et son développement ne doivent plus être considérés comme une source d'approvisionnement à notre libre disposition pour les expériences biotechnologiques.

Références

- Adamczyk, J.J., Perera, O., Meredith, W.R.** (2009) Production of mRNA from the cry1Ac transgene differs among Bollgard® lines which correlates to the level of subsequent protein. *Transgenic Research*, 18: 143-149.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11248-008-9198-z>
- Bauer-Panskus A., Miyazaki J., Kawall K., Then C.** (2020) Risk assessment of genetically engineered plants that can persist and propagate in the environment. *Environmental Sciences Europe*, 32, 32.
<https://doi.org/10.1186/s12302-020-00301-0>
- Belfield, E.J., Ding, Z.J., Jamieson, F.J.C., Visscher, A.M., Zheng, S.J., Mithani, A., Harberd, N.P.** (2018) DNA mismatch repair preferentially protects genes from mutation. *Genome Research*, 28(1): 66-74.
<https://genome.cshlp.org/content/28/1/66.short>
- Bollinedi, H., Prabhu, K.V., Singh, N.K., Mishra, S., Khurana, J.P., Singh, A.K.** (2017) Molecular and functional characterization of GR2-R1 event based backcross derived lines of golden rice in the genetic background of a mega rice variety Swarna. *PLOS ONE* 12(1): e0169600.
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0169600>
- Breckling B.** (2013) Transgenic evolution and ecology are proceeding. In B. Breckling, & R. Verhoeven (Eds.), *GM-Crop cultivation-Ecological effects on a landscape scale. Theorie in der Ökologie*, 17: 130-135. Frankfurt, Peter Lang.
- Brinkman, E.K., Chen, T., de Haas, M., Holland, H.A., Akhtar, W., van Steensel, B.** (2018) Kinetics and fidelity of the repair of Cas9-induced double-strand DNA breaks. *Molecular Cell*, 70(5): 801-813 e806.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1097276518303125>
- Boyd, D.** (2017) *Die Natur und ihr Recht*, Ecowin Verlag.
- Cao, Q.-J., Xia, H., Yang, X., Lu, B.-R.** (2009) Performance of hybrids between weedy rice and insect-resistant transgenic rice under field experiments: implication for environmental biosafety assessment. *Journal of Integrative Plant Biology*, 51: 1138-1148. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1744-7909.2009.00877.x>
- Chapron, G., Epstein, Y., López-Bao, J.V.** (2019) A rights revolution for nature. *Science*, 363 (6434): 1392-1393.
<https://science.sciencemag.org/content/363/6434/1392.short>
- Carr, P.A., Wang, H.H., Sterling, B., Isaacs, F.J., Lajoie, M.J., Xu, G., Church, G.M., Jacobson, J.M.** (2012) Enhanced multiplex genome engineering through co-operative oligonucleotide co-selection. *Nucleic Acids Research*, 40(17): e132-e132. <https://academic.oup.com/nar/article/40/17/e132/2411135>
- Choi, K., Zhao, X., Tock, A.J., Lambing, C., Underwood, C.J., Hardcastle, T.J., ... & Henderson, I.R.** (2018) Nucleosomes and DNA methylation shape meiotic DSB frequency in *Arabidopsis thaliana* transposons and gene regulatory regions. *Genome Research*, 28(4): 532-546. <https://genome.cshlp.org/content/28/4/532.short>
- Church, G., Regis, E.** (2012) *Regenesis, how synthetic biology will reinvent nature and ourselves*. Basis Books, New York.
- Critical Scientists Switzerland, CSS** (2019) *GENE DRIVES - A report on their science, applications, social aspects, ethics and regulations*. <https://genedrives.ch/report>
- Dobzhansky, T.** (1951) *Genetics and the Origin of Species* (3rd Edition, revised). Columbia Paperback.
- Dolezel, M., Lüthi, C., Gaugitsch, H.** (2020) Beyond limits – the pitfalls of global gene drives for environmental risk assessment in the European Union. *BioRisk*, 2020; 15: 1 DOI:10.3897/biorisk.15.49297
- Doudna, J. & Sternberg S.H.** (2017) *A crack in creation: Gene editing and the unthinkable power to control evolution*. Houghton Mifflin, Boston.

- Eckerstorfer, M.F., Dolezel, M., Heissenberger, A., Miklau, M., Reichenbecher, W., Steinbrecher, R.A., Wassmann, F.** (2019) An EU perspective on biosafety considerations for plants developed by genome editing and other new genetic modification techniques (nGMs). *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7: 31. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00031/full>
- EGE, The European Group on Ethics in Science and New Technologies to the European Commission** (2008) Ethical aspects of animal cloning for food supply. Opinion number 23, http://ec.europa.eu/european_group_ethics/publications/index_en.htm
- Fang, J., Nan, P., Gu, Z., Ge, X., Feng, Y.-Q., Lu, B.-R.** (2018) Overexpressing exogenous 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) genes increases fecundity and auxin content of transgenic arabidopsis plants. *Frontiers in Plant Science*, 9: 233. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00233/full>
- Forsbach A., Schubert D., Lechtenberg B., Gils M., Schmidt R.** (2003) A comprehensive characterization of single-copy T-DNA insertions in the *Arabidopsis thaliana* genome. *Plant Mol Biol* 52(1):161-176. doi:10.1023/A:1023929630687.
- Fredens, J., Wang, K., de la Torre, D., Funke, L.F.H., Robertson, W.E., Christova, Y., Chin, J.W.** (2019) Total synthesis of *Escherichia coli* with a recoded genome. *Nature*, 569(7757): 514. <https://www.nature.com/articles/s41586-019-1192-5>
- Gantz, V.M. & Bier, E.** (2015) The mutagenic chain reaction: A method for converting heterozygous to homozygous mutations. *Science*, 348: 442-444. <https://science.sciencemag.org/content/348/6233/442.short>
- Giese, B., Frieß, J.L. Preu, M., Then, C., Lalyer, C.R., Breckling, B., Schröder, W., von Gleich, A.** (2019) Gene Drives - Potenziale, Risiken, Besorgnisgründe. Ergebnisbericht des Pilot-Projekts 'GeneTip', https://www.genetip.de/wp-content/uploads/GeneTip_Endbericht.pdf
- Gibson, D.G., Glass, J.I., Lartigue, C., Noskov, V.N., Chuang, R.Y., Algire, M.A., Benders, G.A., Montague, M.G., Ma, L., Moodie, M.M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Garcia, N.A., Pfannkoch, C.A., Denisova, E.A., Young, L., Qi, Z.Q., Segall-Shapiro, T.H., Calvey, C.H., Parmar, P.P., Hutchison, C.A., Smith, H.O., Venter, J.C.** (2010) Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome. *Science*, 329(5987): 52-56. <https://science.sciencemag.org/content/329/5987/52>
- Goulson, D.** (2015) *A Buzz in the Meadow*, Random House
- Gutekunst, J., Andriantsoa, R., Falckenhayn, C., Hanna, K., Stein, W., Rasamy, J., Lyko, F.** (2018). Clonal genome evolution and rapid invasive spread of the marbled crayfish. *Nat Ecol Evol*, 2(3): 567-573. <https://www.nature.com/articles/s41559-018-0467-9>
- Hahn, F. & Nekrasov, V.** (2019). CRISPR/Cas precision: do we need to worry about off-targeting in plants? *Plant Cell Rep* 38(4): 437-441. <https://doi.org/10.1007/s00299-018-2355-9>
- IUCN** (2019) Genetic frontiers for conservation: An assessment of synthetic biology and biodiversity conservation. Redford, K.H., Brooks, T.M., B.W. Macfarlane, N.B.W., Adams, J.S. (eds.). <https://www.iucn.org/synbio>
- Jahn, I. & Schmitt, M.** (2001) *Darwin und Co: eine Geschichte der Biologie in Portraits* (Bd. 2), C.H. Beck Verlag.
- Jupe, F., Rivkin, A.C., Michael, T.P., Zander, M., Motley, S.T., Sandoval, J.P., Slotkin, R.K., Chen, H., Castanon, R., Nery, J., Ecker, J.R.** (2019). The complex architecture and epigenomic impact of plant T-DNA insertions. *PLoS-Genetics*, 15(1):e1007819. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007819>
- Kannan, B., Jung, J.H., Moxley, G.W., Lee, S.M., Altpeter, F.** (2018) TALEN-mediated targeted mutagenesis of more than 100 COMT copies/alleles in highly polyploid sugarcane improves saccharification efficiency without compromising biomass yield. *Plant Biotechnology Journal*, 16 (4): 856-866. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pbi.12833>

- Kapahnke, M., Banning, A., Tikkanen, R.** (2016) Random splicing of several exons caused by a single base change in the target exon of CRISPR/Cas9 mediated gene knockout. *Cells*, 5(4): 45. <https://www.mdpi.com/2073-4409/5/4/45>
- Karageorgi M., Groen S.C., Sumbul F., Pelaez J.N., Verster K.I., Aguilar J.M., Hastings A.P., Bernstein S.L., Matsunaga T., Astourian M., Guerra G., Rico F., Dobler S., Agrawal A.A., Whiteman N.K.** (2019) Genome editing retraces the evolution of toxin resistance in the monarch butterfly, *Nature*, 574(7778): 409-412. <https://www.nature.com/articles/s41586-019-1610-8/>
- Kawall, K.** (2019) New possibilities on the horizon: genome editing makes the whole genome accessible for changes. *Frontiers in Plant Science*, 10: 525. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.00525/abstract>
- Kawata, M., Murakami, K., Ishikawa, T.** (2009) Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors. *Environ Sci Pollut Res* 16:120-126. <https://doi.org/10.1007/s11356-008-0074-4>
- Kenkel, C. & Matz, M.V.** (2016) Gene expression plasticity as a mechanism of coral adaptation to a variable environment, *Nature Ecology & Evolution*, 1(1): 1-6. <https://www.nature.com/articles/s41559-016-0014>
- Kersting, D.K. & Linares, C.** (2019) Living evidence of a fossil survival strategy raises hope for warming-affected corals. *Science Advances*, 5(10), eaax2950. <https://advances.sciencemag.org/content/5/10/eaax2950.abstract>
- Kim S-R., Lee J, Jun S-H., Park S., Kang H-G., Kwon S., An G.** (2003) Transgene structures in T-DNA-inserted rice plants. *Plant Mol Biol* 52(4):761-773. doi:10.1023/A:1025093101021.
- Kolbert, E.** (2015) *La 6e Extinction. Comment l'homme détruit la vie*, La librairie Vuibert
- Kosicki, M., Tomberg, K., Bradley, A.** (2018). Repair of CRISPR/Cas9-induced double-stranded breaks leads to large deletions and complex rearrangements. *Nature biotechnology*, 36, 765-771.
- Latham J.R., Wilson A.K., Steinbrecher R.A.** (2006) The mutational consequences of plant transformation. *J Biomed Biotechnol* 2006(25376):1-7. doi:10.1155/JBB/2006/25376.
- Lee, J.** (2019) Development of Film-assisted Honey Bee Egg Collection System (FECS) and Its Application to Honey Bee Genome Editing. Doctoral dissertation, Department of Agricultural Biotechnology, Seoul National University. <http://s-space.snu.ac.kr/handle/10371/150961>
- Levin, R.A., Voolstra, C.R., Agrawal, S., Steinberg, P.D., Suggett, D.J., van Oppen, M.J.H.** (2017) Engineering strategies to decode and enhance the genomes of coral symbionts. *Front Microbiol*, 8: 1220. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01220>
- Lewin, H.A., Robinson, G.E., Kress, W.J., Baker, W.J., Coddington, J., Crandall, K.A., Zhang, G.** (2018) Earth BioGenome Project: Sequencing life for the future of life. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115(17): 4325-4333. <https://www.pnas.org/content/115/17/4325.short>
- Liang, Z., Chen, K., Li, T., Zhang, Y., Wang, Y., Zhao, Q., Liu, J., Zhang, H., Liu, C., Ran, Y., Gao, C.** (2017) Efficient DNA-free genome editing of bread wheat using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Nature Communications*, 8: 14261. <https://www.nature.com/articles/ncomms14261>
- Linzmaier, S.M., Goebel, L.S, Ruland, F., Jeschke, J.M.** (2018) Behavioral differences in an over-invasion scenario: marbled vs. spiny-cheek crayfish. *Ecosphere* 9(9): e02385. <https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ecs2.2385>
- Lovett, B., Bilgo, E., Millogo, S.A., Ouattara, A.K., Sare, I., Gnambani, E.J., Dabire, R.K., Diabate, A., Leger, R.** (2019) Transgenic *Metarhizium* rapidly kills mosquitoes in a malaria-endemic region of Burkina Faso. *Science* 364(6443): 894-897. <https://science.sciencemag.org/content/364/6443/894.abstract>
- Lu, B.-R., Yang, C.** (2009) Gene flow from genetically modified rice to its wild relatives: Assessing potential ecological consequences. *Biotechnology Advances*, 27: 1083-1091. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073497500900113X>

- Lusser, M., Parisi, C., Plan, D., Rodríguez-Cerezo, E.** (2011) New plant breeding techniques: State-of-the-art and prospects for commercial development. Publications Office of the European Union.
<https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/eur-scientific-and-technical-research-reports/new-plant-breeding-techniques-state-art-and-prospects-commercial-development>
- Lyko, F.** (2017) The marbled crayfish (Decapoda: Cambaridae) represents an independent new species. *Zootaxa*, 4363(4): 544-552. <https://www.mapress.com/j/zt/article/view/zootaxa.4363.4.6>
- Makarevitch I., Svitashv S.K., Somers D.A.** (2003) Complete sequence analysis of transgene loci from plants transformed via microprojectile bombardment. *Plant Mol Biol* 52(2):421-432. doi:10.1023/A:1023968920830.
- Matthews, D., Jones, H., Gans, P., Coates, S., Smith, L.M.** (2005) Toxic secondary metabolite production in genetically modified potatoes in response to stress. *J Agric Food Chem*, 53: 7766-7776.
<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf050589r>
- Martin, P., Thonagel, S. Scholtz, G.** (2016) The parthenogenetic Marmorcrebs (Malacostraca: Decapoda: Cambaridae) is a triploid organism. *J Zool Syst Evol Res*, 54: 13-21. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jzs.12114>
- McAfee, A., Pettis, J.S., Tarpy, D.R., Foster, L.J.** (2019) Feminizer and doublesex knock-outs cause honey bees to switch sexes. *PLoS Biol* 17(5): e3000256.
<https://journals.plos.org/plosbiology/article?rev=2&id=10.1371/journal.pbio.3000256>
- Meyer, P., Linn, F., Heidmann, I., Meyer, H., Niedenhof, I., Saedler, H.** (1992) Endogenous and environmental factors influence 35S promoter methylation of a maize A1 gene construct in transgenic petunia and its colour phenotype. *Mol Gen Genet*, 231: 345-352. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00292701>
- Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., Krause, D., Kohl, C., Wilhelm, R.** (2019) What is the available evidence for the range of applications of genome-editing as a new tool for plant trait modification and the potential occurrence of associated off-target effects: a systematic map. *Environmental Evidence*, 8(1): 27.
<https://link.springer.com/article/10.1186/s13750-019-0171-5>
- Mou, H., Smith, J.L., Peng, L., Yin, H., Moore, J., Zhang, X. O., ... & Li, Y.** (2017) CRISPR/Cas9-mediated genome editing induces exon skipping by alternative splicing or exon deletion. *Genome biology*, 18(1): 108.
<https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-017-1237-8>
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NAS)** (2019) Forest Health and Biotechnology: Possibilities and Considerations. Washington, DC: The National Academies Press.
<http://dels.nas.edu/Report/Forest-Health-Biotechnology-Possibilities/25221>
- Noble, C., Adlam, B., Church, G.M., Esvelt, K.M., Nowak, M.A.** (2018) Current CRISPR gene drive systems are likely to be highly invasive in wild populations. *Elife*, 7: e33423. <https://elifesciences.org/articles/33423>
- Norris, A.L., Lee, S.S., Greenlees, K.J., Tadesse, D.A., Miller, M.F., Lombardi, H.** (2019) Template plasmid integration in germline genome-edited cattle, *BioRxiv*: 715482. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/715482v1.abstract>
- Oliver, T.A. & Palumbi, S.R.** (2011) Many corals host thermally resistant symbionts in high-temperature habitat. *Coral Reefs*, 30: 241-250. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00338-010-0696-0>
- Popkin, G.** (2018) Can a transgenic chestnut restore a forest icon?. *Science*, 361(6405): 830-831.
<https://science.sciencemag.org/content/361/6405/830.short>
- Popper, K.R.** (1995) *In Search of a Better World: Lectures and Essays from Thirty Years*, Routledge
- Rang, A., Linke, B., Jansen, B.** (2005) Detection of RNA variants transcribed from the transgene in Roundup
- Reeves, R.G., Voeneky, S., Caetano-Anollés, D., Beck, F., Boëte, C.** (2018) Agricultural research, or a new bioweapon system? *Science*, 362(6410): 35-37. <https://science.sciencemag.org/content/362/6410/35.summary>

- Roldan, M.V.G., Périlleux, C., Morin, H., Huerga-Fernandez, S., Latrasse, D., Benhamed, M., Bendahmane, A.** (2017) Natural and induced loss of function mutations in SIMBP21 MADS-box gene led to jointless-2 phenotype in tomato. *Scientific reports*, 7(1): 4402. <https://www.nature.com/articles/s41598-017-04556-1>
- Rogozin, I.B. & Pavlov, Y.I.** (2003) Theoretical analysis of mutation hotspots and their DNA sequence context specificity. *Mutat Res*, 544(1): 65-85. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574203000322>
- Rosenberg, E. & Zilber-Rosenberg, I.** (2016) Microbes drive evolution of animals and plants: the hologenome concept. *mBio*, 7(2): e01395-15. <https://mbio.asm.org/content/7/2/e01395-15.short>
- Sanchez-Leon, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C.V., Gimenez, M.J., Sousa, C., Voytas, D.F., Barro, F.** (2018) Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnology Journal*, 16:902-910. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pbi.12837>
- Shen, L., Hua, Y., Fu, Y., Li, J., Liu, Q., Jiao, X., ... & Wang, K.** (2017) Rapid generation of genetic diversity by multiplex CRISPR/Cas9 genome editing in rice. *Sci China Life Sci* 60(5): 506-515. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11427-017-9008-8>
- Si, W., Yuan, Y., Huang, J., Zhang, X., Zhang, Y., Zhang, Y., & Yang, S.** (2015) Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F2 plants. *New Phytol*, 206(4): 1491-1502. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/nph.13319>
- Smolker, R. & Petermann, A.** (2019) Biotechnology for forest health? The test case of the genetically engineered american chestnut. The Campaign to STOP GE Trees, Biofuelwatch and Global Justice Ecology Project. <https://stopgetrees.org/chestnut/>
- Steiner, K.C., Westbrook, J.W., Hebard, F.V., Georgi, L.L., Powell, W.A., Fitzsimmons, S.F.** (2017) Rescue of American chestnut with extraspecific genes following its destruction by a naturalized pathogen. *New Forests* 48(2): 317-336. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11056-016-9561-5>
- Sharpe, J.J. & Cooper, T.A.** (2017) Unexpected consequences: exon skipping caused by CRISPR-generated mutations. *Genome Biology*, 18(1): 109. <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-017-1240-0>
- Testbiotech** (2019) Am I Regulated? The US example: why new methods of genetically engineering crop plants need to be regulated, www.testbiotech.org/node/2345
- Testbiotech** (2020) Overview of genome editing applications using SDN-1 and SDN-2 in regard to EU regulatory issues, Testbiotech, www.testbiotech.org/node/2569
- Then C., Kawall K., Valenzuela N.** (2020) Spatio-temporal controllability and environmental risk assessment of genetically engineered gene drive organisms from the perspective of EU GMO Regulation Integrated Environmental Assessment and Management. doi:10.1002/ieam.4278. i
- Then, C., Lorch, A.** (2008) A simple question in a complex environment: How much Bt toxin do genetically engineered MON810 maize plants actually produce? In: Breckling, B., Reuter, H., Verhoeven, R. (eds.) *Implications of GM-Crop Cultivation at Large Spatial Scales. Theorie in der Ökologie 14*. Frankfurt, Peter Lang. ISBN: 978-3-631-58939-7
- Trtikova, M., Wikmark, O.G., Zemp, N., Widmer, A., Hilbeck, A.** (2015) Transgene expression and Bt protein content in transgenic Bt maize (MON810) under optimal and stressful environmental conditions. *PLOS ONE*, 10: e0123011. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0123011>
- Tuladhar, R., Yeu, Y., Tyler Piazza, J., Tan, Z., Rene Clemenceau, J., Wu, X., ... & Lum, L.** (2019) CRISPR-Cas9-based mutagenesis frequently provokes on-target mRNA misregulation. *Nature Communications*, 10(1): 4056. <https://www.nature.com/articles/s41467-019-12028-5>
- Vacher, C., Weis, A.E., Hermann, D., Kossler, T., Young, C., Hochberg, M.E.** (2004) Impact of ecological factors on the initial invasion of Bt transgenes into wild populations of birdseed rape (*Brassica rapa*). *Theor Appl Genet* 109: 806-814. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1696-7>

- Vogel, G., Angermann, H.** (1998) Dtv Atlas der Biologie, 10. Auflage, Band 3.
- Vogt, G., Huber, M., Thiemann, M., van den Boogaart, G., Schmitz, O.J., Schubart, C.D.** (2008) Production of different phenotypes from the same genotype in the same environment by developmental variation. *Journal of Experimental Biology*, 211(4): 510-23. <https://jeb.biologists.org/content/211/4/510.short>
- von Gleich, A. & Schröder, W.** (eds.), (2020) Gene drives at tipping points: precautionary technology assessment and governance of new approaches to genetically modify animal and plant populations. Springer International Publishing, <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-38934-5>.
- Windels P., De Buck S., Van Bockstaele E., De Loose M., Depicker A.** (2003) T-DNA integration in Arabidopsis chromosomes. presence and origin of filler DNA sequences. *Plant Physiol* 133(4):2061-2068. doi:10.1104/pp.103.027532.
- Yang, X., Li, L., Jiang, X., Wang, W., Cai, X., Su, J., Wang, F., Lu, B.-R.** (2017) Genetically engineered rice endogenous 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (epsps) transgene alters phenology and fitness of crop-wild hybrid offspring. *Scientific Reports*, 7(1): 6834. <https://www.nature.com/articles/s41598-017-07089-9>
- Young, A.E., Mansour, T.A., McNabb, B.R., Owen, J.R., Trott, J.F., Brown, C.T., Van Eenennaam, A.L.** (2019) Genomic and phenotypic analyses of six offspring of a genome-edited hornless bull. *Nature Biotechnology*. <https://www.nature.com/articles/s41587-019-0266-0>
- Zeller, S.L., Kalinina, O., Brunner, S., Keller, B., Schmid, B.** (2010) Transgene × environment interactions in genetically modified wheat. *PLOS ONE*, 5: e11405. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0011405>
- Zhang, B., Oakes, A.D., Newhouse, A.E., Baier, K.M., Maynard, C.A., Powell, W.A.** (2013) A threshold level of oxalate oxidase transgene expression reduces *Cryphonectria parasitica*-induced necrosis in a transgenic American chestnut (*Castanea dentata*) leaf bioassay. *Transgenic Research* 22(5): 973-982. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11248-013-9708-5>
- Zhu, X., Sun, L., Kuppu, S., Hu, R., Mishra, N., Smith, J., Esmaceli, N., Herath, M., Gore, M.A., Payton, P., Shen, G., Zhang, H.** (2018) The yield difference between wild-type cotton and transgenic cotton that expresses IPT depends on when water-deficit stress is applied. *Scientific Reports*, 8: 2538. <https://www.nature.com/articles/s41598-018-20944-7>
- ZKBS, Zentrale Kommission für biologische Sicherheit** (2012) Stellungnahme der ZKBS zu neuen Techniken für die Pflanzenzüchtung, https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/04_Pflanzen/Neue_Techniken_Pflanzenzuechtung.html?nn=1644534
- Zsögön, A., Čermák, T., Naves, E.R., Notini, M.M., Edel, K.H. Weini, S., Freschi, L., Voytas, D.F., Kudla, J., Peres, L.E.P.** (2018) De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nature Biotechnology*, 36: 1211-1216. <https://www.nature.com/articles/nbt.4272>

