

Compte rendu de la rencontre débat du mardi 4 mars 2025

L'édition du génome pour l'amélioration des plantes, révolution ou continuité ? Nouveaux OGM ou pas.

animée par **Fabien NOGUÉ**,

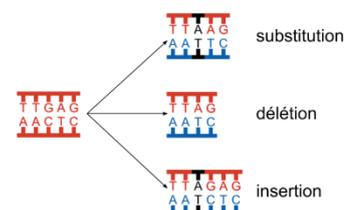
Directeur de Recherches INRAE, membre de l'EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments)

Résumé

Depuis des millénaires, l'homme sélectionne et croise les plantes pour améliorer leur rendement, leur résistance aux maladies ou leur adaptation aux conditions climatiques. Cette amélioration est basée sur l'exploitation de la variabilité des génomes causée par les mutations qui apparaissent naturellement. Bien qu'à une fréquence faible à l'échelle individuelle, on arrive à des nombres énormes à l'échelle d'une population. Il y a ainsi 400 millions de mutations dans les grains de blé sur un hectare. Le but des sélectionneurs a toujours été de pouvoir exploiter la plus large variabilité possible. Un des moyens a été de pratiquer la mutagène aléatoire avec des agents mutagènes (UV, RX, produits chimiques). Avec les avancées en biotechnologie, la transgénèse a marqué un tournant en permettant l'introduction de gènes étrangers. Aujourd'hui, l'édition génomique, notamment avec CRISPR-Cas9, va encore plus loin en modifiant de façon très précise l'ADN, des plantes en particulier, sans ajout de matériel génétique extérieur. On peut la présenter comme une évolution logique des techniques traditionnelles, offrant simplement des outils plus précis. Elle a l'avantage par rapport aux OGM classiques de ne pas être limitée à l'introduction de gènes de résistance aux pesticides et d'offrir la possibilité de modifications multigéniques. Cela permet de s'adresser à des caractères au déterminisme génétique complexe tels que les qualités agronomiques ouvrant la voie à une transition vers une agriculture plus durable, en limitant l'usage des pesticides et en optimisant les ressources. A partir des exemples donnés le lecteur pourra se former un jugement sur les interrogations éthiques et philosophiques soulevées par la technique de l'édition du génome quant à la manipulation du vivant et à l'avenir de l'agriculture. Ces débats façonneront les choix technologiques et sociétaux des prochaines décennies.

De tous temps on a amélioré les plantes en exploitant la diversité génétique

La diversité génétique provient des mutations spontanées qui modifient la séquence de l'ADN. Elles sont de trois types : substitution, délétion ou insertion de paires de bases dans la



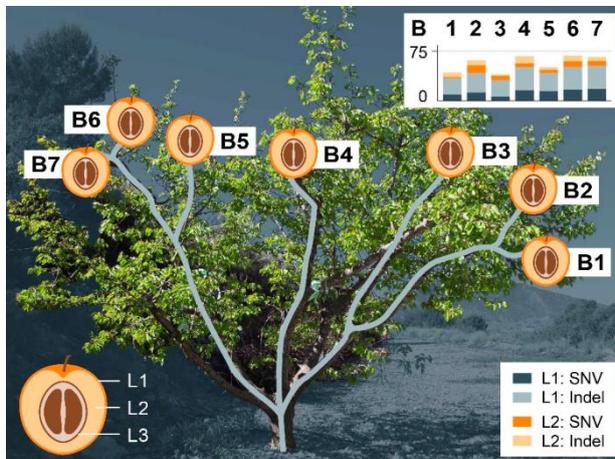
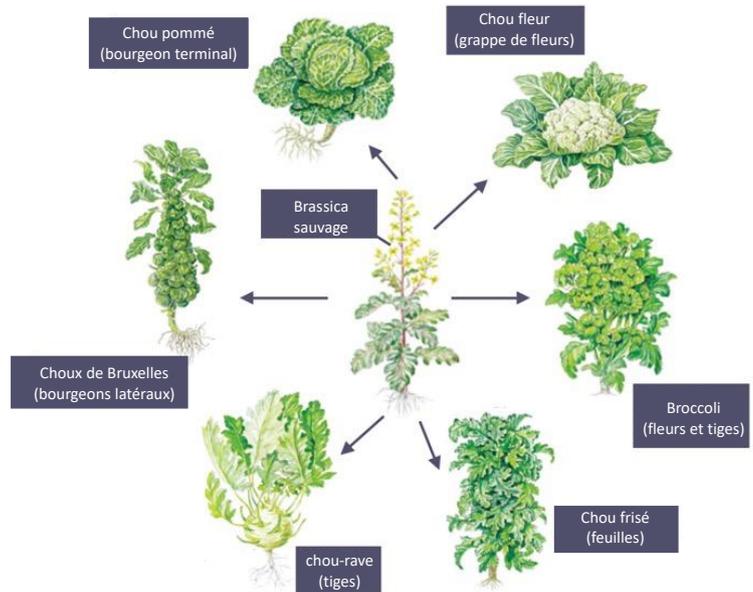
séquence de l'ADN. Elles sont dues à des dommages endogènes (dérivés réactifs de l'oxygène, erreurs de réplication...) ou exogènes (UV, produits chimiques.).

➤ Chez la plante modèle *Arabidopsis* de la famille du chou, il y a, comme chez l'homme, une mutation pour 100 millions de paires de bases. 1 à 2 mutations par génération pour un individu.

➤ Les mutations induisent par exemple une diversité morphologique comme dans l'exemple des choux

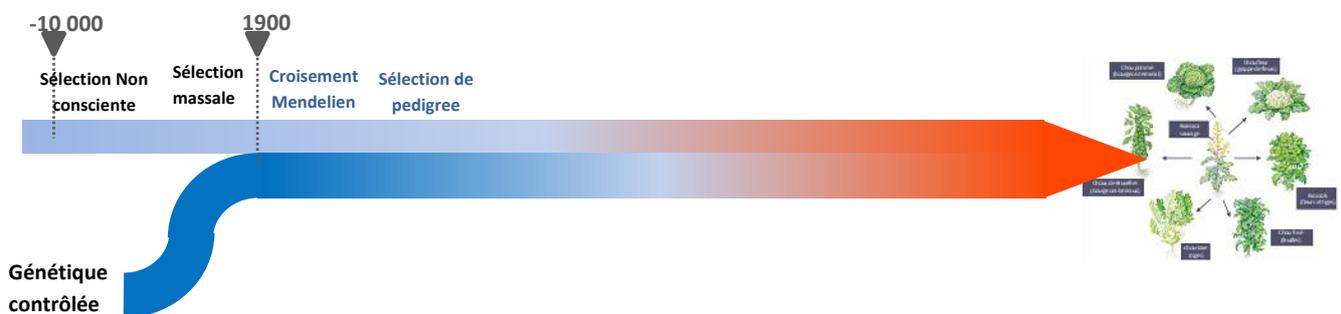
➤ Dans un champ d'un hectare le génome de chaque grain de blé a été muté au moins une fois de manière « spontanée ». Comme il y a 200 mutations entre le grain et la plante mère et que l'on a environ 2 millions de semis/ha on trouve 400 millions de mutations dans un champ d'un hectare. Chez le maïs il y a une 30^{aine} de mutations spontanées entre le grain et sa plante mère.

➤ Chez les arbres chaque branche et chaque fruit porte des mutations différentes



- ✓ En moyenne, 56 mutations entre le fruit et l'arbre qui le porte.
- ✓ En moyenne, 20 mutations entre les différents fruits.
- ✓ Des mutations différentes entre les différentes parties du fruit.

Conclusion : Les génomes végétaux ne sont donc pas « gravés dans la pierre ». L'instabilité génétique étant vraie pour tous les types de semences elle est à la base de la sélection variétale ou massale. Depuis le néolithique un continuum de techniques permet d'obtenir de nouvelles variétés. Mais cette diversité génétique reste limitée



La mutagénèse aléatoire pour augmenter la biodiversité

Les traitements des graines par les rayons X, les rayons Gamma ou les produits chimiques mutagènes comme l'EMS (Ethyl-Methyl-sulfonate) permettent d'augmenter très fortement la fréquence de mutation et donc la biodiversité. Cette technique est utilisée en amélioration des plantes depuis le milieu du 20ème siècle.

- ✓ Plus de 3200 variétés identifiées par la FAO à partir de plus de 200 espèces de plantes. Voir les trois exemples ci-dessous



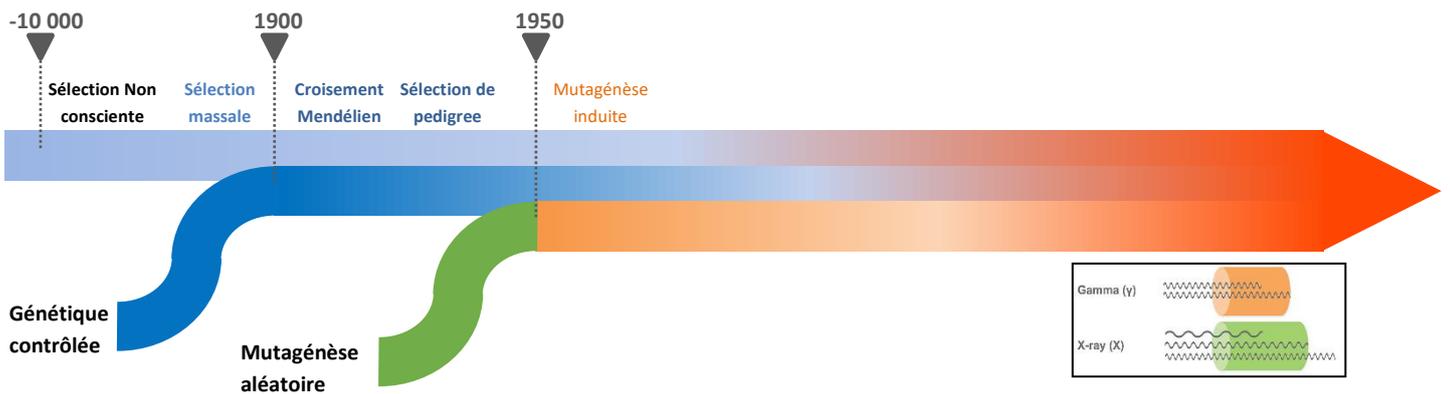
Cerisier
auto-fertile, 1985



Blé
Résistance à la rouille, 1966

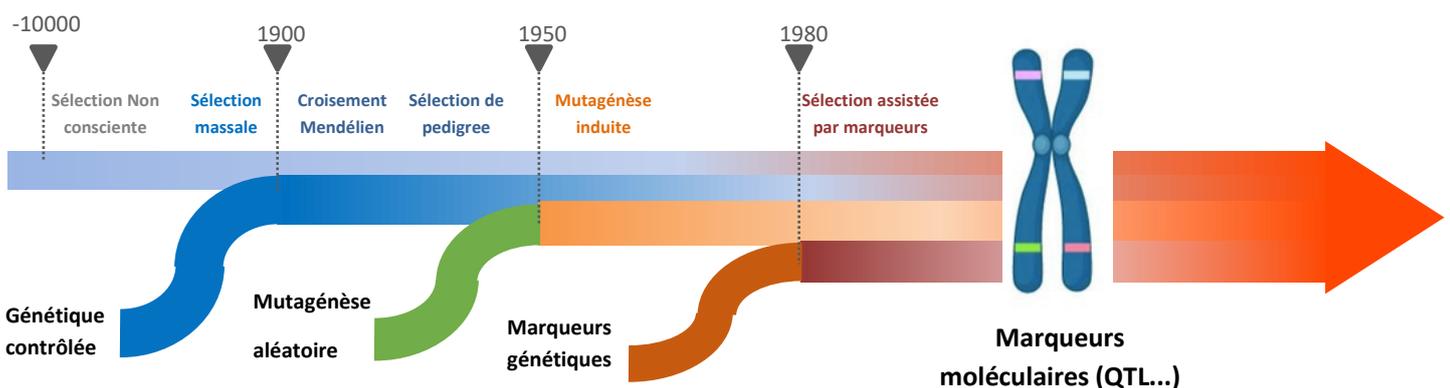


Tomate
Haute teneur en vitamine C, 1977



La sélection assistée par marqueurs génétiques

A partir des années 1980 on a pu associer un certain nombre de caractères génétiques à des marqueurs localisés sur l'ADN. Ces marqueurs ont pu être utilisés pour sélectionner plus rapidement dans le croisement les caractères que l'on veut garder et associer. On peut ainsi mieux tirer parti de la diversité génétique.

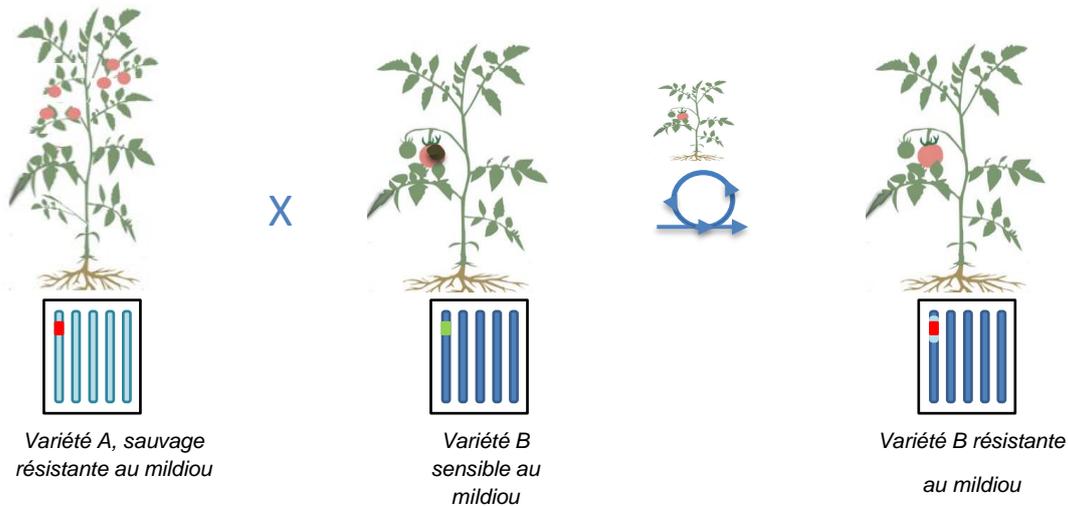


Les limites de l'amélioration « classique »

La sélection génétique a augmenté la diversité morphologique cependant, dans certains cas, elle a réduit la diversité génétique des espèces cultivées par rapport à leur ancêtre sauvage. Cette réduction est variable selon les espèces : la diversité génétique de l'ancêtre sauvage est conservée à 83% chez le maïs, 64% chez le soja et 38% chez la tomate.

Pour réintroduire de la variabilité génétique, en particulier par aller chercher des gènes de résistance à des maladies, présents dans les espèces sauvages voisines on procède à des croisements avec ces espèces plus distantes pour « introgresser » ces gènes d'intérêt.

Cependant cette technique se heurte à plusieurs contraintes. La première est que le croisement avec l'espèce sauvage voisine soit possible c'est-à-dire qu'il n'y ait pas de barrière



d'incompatibilité sexuelle. Cela signifie que ce n'est pas possible avec toutes les plantes. La deuxième est que l'on introduit dans la nouvelle variété hybride des caractères indésirables en même temps que le gène d'intérêt. En conséquence, il faut faire plusieurs cycles de retrocroisement avec la variété sensible pour éliminer les caractères indésirables et garder le caractère recherché. C'est donc un processus qui s'étale sur plusieurs années en fonction de la durée du cycle végétatif de la plante

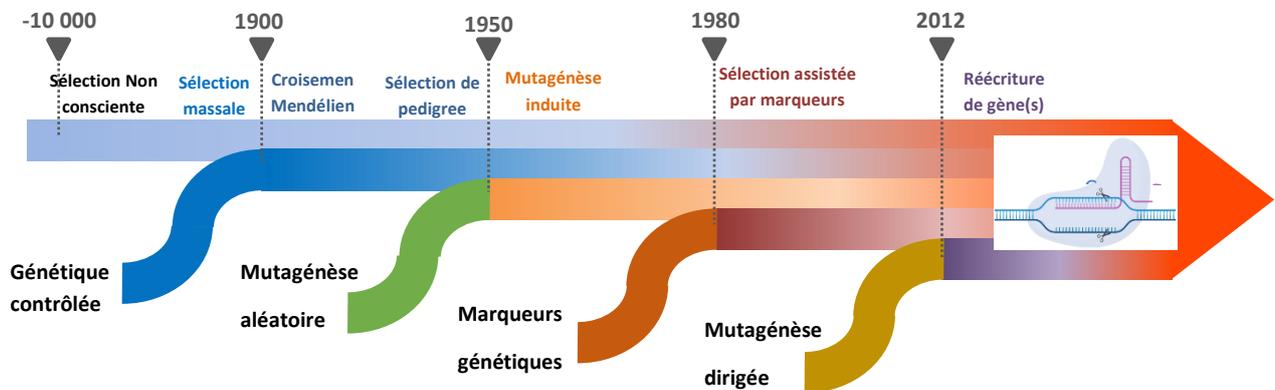
La nouvelle technique d'édition génomique (NGT) avec CRISP-Cas9, une révolution ?

OGM et NGT, quelles différences ? Les OGM sont des organismes vivants (animal, végétal, bactérie) modifiés par l'introduction d'un gène étranger dans le produit final. À l'inverse, les NGT ou NBT (nouvelles techniques de sélection végétale) sont produits par la modification d'un gène déjà existant dans l'organisme.

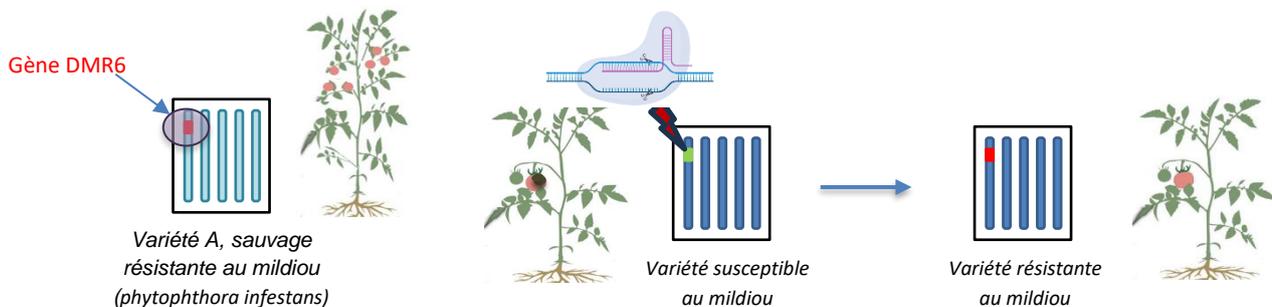
- **Qu'est-ce que cette technique : des ciseaux moléculaires ciblant une séquence spécifique d'ADN**

Elle est basée sur l'utilisation de ciseaux moléculaires capables de couper l'ADN à un endroit spécifique prédéterminé à l'avance. Cet outil est dérivé d'un système de résistance des bactéries aux virus qui les infectent. Ce sont deux jeunes femmes, Emmanuelle Charpentier, une française et Jennifer Doudna, une américaine qui ont adapté cet outil intitulé CRISPR-

Cas9, pour pouvoir modifier n'importe quel génome de façon précise. Elles ont obtenu conjointement le Prix Nobel pour cette découverte en 2020. La molécule est constituée de deux éléments, un ARN guide qui contient la séquence de la région à modifier dans l'ADN et l'enzyme CAS9 qui coupe l'ADN à l'endroit spécifié (plus de détails voir la conférence de [Comprendre sur la découverte de CRISPR-Cas9](#)).



Si l'on revient au mildiou de la tomate dû au champignon *Phytophthora infestans*, on peut proposer un cas théorique où un allèle de résistance du gène nommé DMR6, a été identifié dans une espèce de tomate sauvage, voisine de la tomate cultivée. Ce même gène existant sous une autre forme allélique chez la tomate cultivée il suffit d'utiliser CRISPR-Cas pour « copier » la séquence gène présente chez la tomate sauvage résistante. Cette opération de réécriture s'appelle une édition de gène par analogie à un typographe qui modifie des lettres dans un mot. [NdR un allèle est une variante d'un gène]



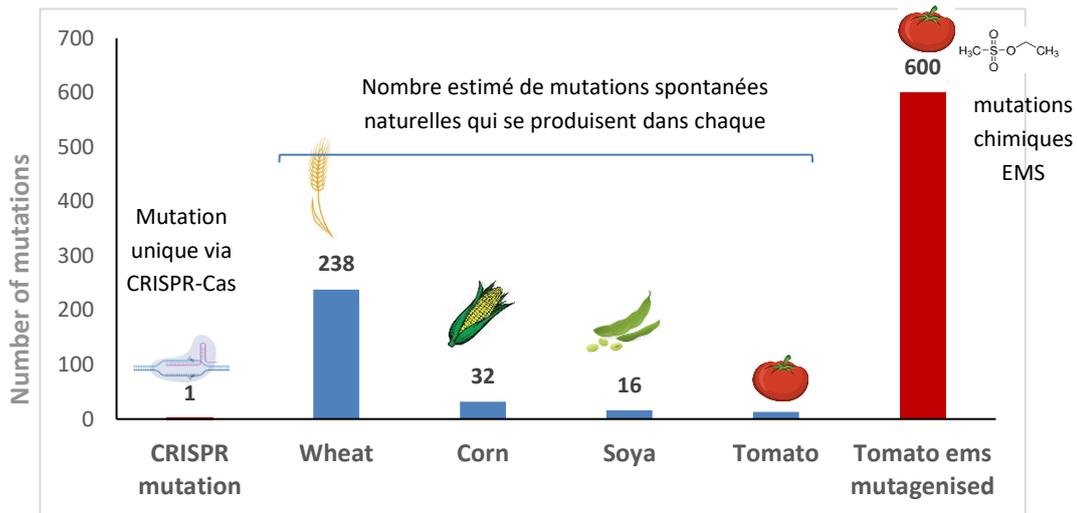
➤ **Avantages de l'édition de gène par rapport à la sélection classique :**

- Modification du gène cible uniquement
 - Possibilité de modifier plusieurs gènes et d'utiliser des gènes d'intérêt d'autres espèces
 - Réduction du temps de création de nouvelles variétés : une seule génération suffit
- Par rapport aux autres techniques antérieures de réécriture de gènes CRISPR est à la fois très facile à mettre en œuvre et très peu coûteux (10 € contre 1000 voire 5000 € pour les

autres). CRISPR est ainsi à la portée de n'importe quel laboratoire équipé en biologie moléculaire.

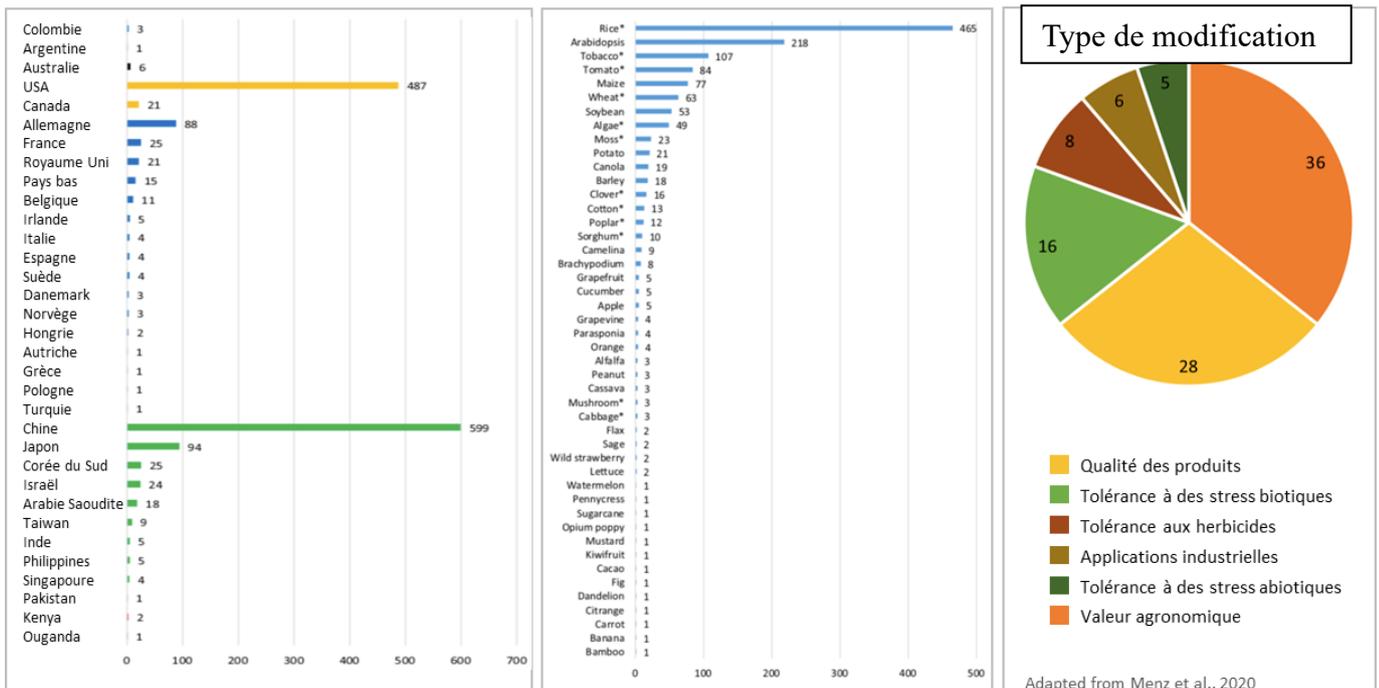
➤ **Avantage par rapport à la mutagénèse naturelle ou la mutagénèse chimique :**

- Une seule mutation ciblée avec CRISPR, accompagnée éventuellement de certains sites « hors-cible », contre des dizaines de mutations spontanées et des centaines par mutagénèse chimique (EMS, Ethyl métyl sulfonate). Voir figure ci-dessous



➤ **L'explosion dans l'utilisation de CRISPR**

C'est l'outil privilégié dans l'édition des génomes comme en témoigne l'explosion du nombre de publications faisant appel à CRISPR-Cas9. Elles proviennent majoritairement de la Chine et des USA comme le montre la figure ci-dessous.



- **Quelles plantes sont concernées et pour quel caractère ?**

Parmi les plantes cultivées le riz est de loin l'espèce la plus étudiée, viennent ensuite le tabac, le maïs, le blé et le soja. Il est intéressant de voir que les caractères sur lesquels portent les améliorations sont majoritairement la valeur agronomique (36%) et la qualité (28%) alors que la tolérance aux herbicides (8%) représente une faible proportion. C'est une très grande différence par rapport à ce qui se passe avec les OGM « classiques » où l'on a introduit par transgénèse presque exclusivement des gènes de résistance aux herbicides ou aux pesticides provenant d'autres organismes.

Exemples d'utilisation de CRISPR-Cas, en amélioration des plantes

- **CRISPR-Cas pour la valeur agronomique des variétés, exemple du riz**

Chez le riz on a identifié les gènes agissant sur la taille des grains (*gs3-5*), le nombre de grain par panicule et la hauteur des plantes. L'édition du gène *gs3-5* donne par exemple le résultat ci-dessous par rapport au type de référence (WT)



- **CRISPR-Cas pour la qualité des produits : tomate enrichie en lycopène**

Un des carotinoïde de la tomate le lycopène que l'on trouve aussi dans le pamplemousse rose aurait un effet protecteur contre le cancer de la prostate. De plus, la consommation régulière d'aliments contenant du lycopène est associée à une réduction des risques de maladie cardiovasculaire, du diabète, de l'ostéoporose. Le gène SGR1 contrôlant sa synthèse a été identifié. En éditant ce gène chez la tomate on a pu augmenter la quantité de lycopène par un facteur 5.

- **CRISPR-Cas pour la qualité des produits : blé sans gluten**

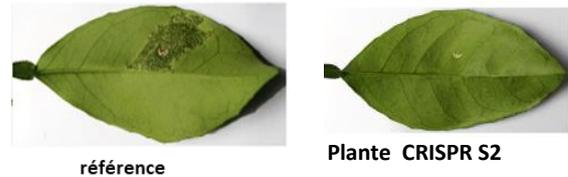
Le gluten est un ensemble de protéines, les gliadines, qui proviennent des grains de blé, d'orge et de seigle. Certaines parties de ces protéines peuvent déclencher une maladie auto-immune appelée la maladie cœliaque. La famille des alpha-gliadines est codées par 45 gènes. La modification simultanée de 35 ces gènes a permis d'obtenir un blé à faible teneur en gluten qui abouti à une réduction de 85% de l'immunoréactivité. Elle ouvre la voie à un blé sans gluten « gluten-free ».

- **CRISPR-Cas pour la résistance à la sécheresse chez le maïs**

Une hormone végétale, l'éthylène qui est libérée en cas de sécheresse a un effet négatif sur le rendement en grain. Le gène du maïs ARGOS8 a été identifié comme un régulateur négatif des réponses à éthylène. L'édition du promoteur du gène ARGOS8 a permis d'obtenir des plantes qui ont une sensibilité réduite à l'éthylène et un rendement en grain amélioré dans des conditions de stress hydrique

- **CRISPR-Cas pour la résistance à une maladie bactérienne du citronnier**

Le gène CsLOB1 de l'oranger est impliqué dans la sensibilité au chancre bactérien dû à la bactérie *Xanthomonas citri*. L'édition du gène CsLOB1 permet de réduire la sensibilité de l'oranger et éviter l'infection (voir ci-contre)



- **CRISPR-Cas pour la résistance aux champignons pathogènes de la vigne**

Dans le cas de la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) un gène de la famille des facteurs de transcription du raisin WRKY a montré un rôle dans la tolérance à ce champignon pathogène. En corrigeant la séquence de ce gène, la résistance au mildiou a été améliorée récemment en modifiant le gène DMR6 comme pour celui de la pomme de terre dans une collaboration entre l'INRAE de Versailles et de Colmar.

- **CRISPR-Cas pour la résistance à un champignon pathogène du blé**

Les modifications génétiques sont plus difficiles chez le blé car il possède trois génomes (A, B et D) ce qui signifie que chaque gène est en trois exemplaires. Il faut donc modifier la zone consensus entre les trois génomes. La technique CRISPR est bien appropriée pour ces espèces polyploïdes car on peut faire des modifications simultanées. Un blé résistant à la pourriture blanche (*Oidium*) a ainsi été obtenu en intervenant sur le gène MLO (Mildew Resistance Locus) en mimant une mutation observée chez l'orge.

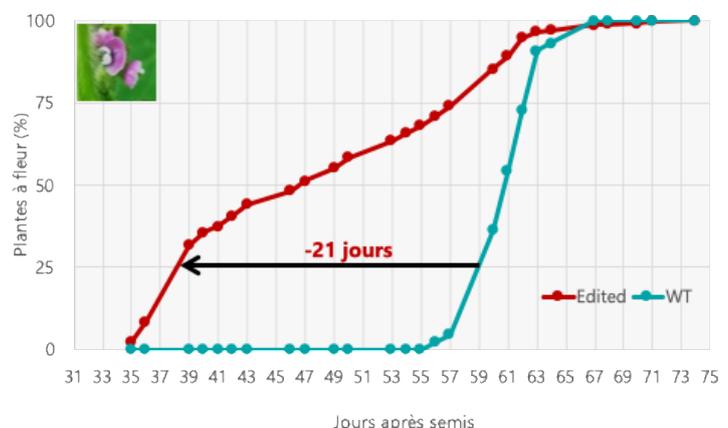
- **CRISPR-Cas pour la résistance à un virus de la tomate**

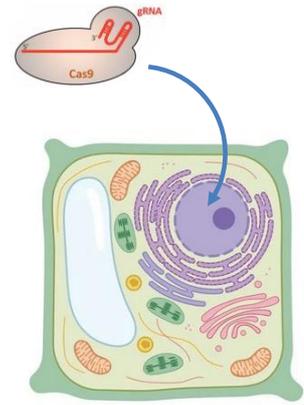
La tomate sauvage est naturellement résistante au Potyvirus PVY. La mutation présente chez cette tomate sauvage a été « mimée » chez une tomate cultivée, c'est-à-dire que le gène de la tomate a été réécrit pour être identique à celui de l'espèce résistante procurant ainsi une diminution de la sensibilité au virus PVY (collaboration INRAE Versailles et Avignon).

- **CRISPR-Cas pour la précocité de floraison chez le soja**

Il s'agit là d'un exemple particulièrement intéressant qui montre la puissance de la technique CRISPR car ce caractère est contrôlé par 12 gènes. L'édition concomitante de ces 12 gènes a un effet spectaculaire. Les variétés de soja modifiées fleurissent jusqu'à 21 jours avant la variété initiale. (collaboration INRAE Versailles et Corteva)

Il est alors possible d'envisager d'utiliser le soja plus au nord de l'Europe ce qui est important car la précocité de floraison est la limite essentielle à l'extension en France de la culture de cette plante qu'il faut importer massivement (fourniture de protéines pour l'élevage).





- Des variétés déjà sur le marché
 - Huile de cameline enrichie en omega-3 (USA)
 - Huile de soja riche en acide oléique (USA)
 - Tomate enrichie en GABA (acide γ -aminobutyrique, neuro transmetteur régulateur de l'humeur) (Japon)
 - Champignon de Paris ne brunissant pas (USA)
- Des variétés en cours de sélection dans des fondations

Plante	Caractères	Gène édité	Stade* 5 = culture en champ
 Banane	Résistance à la fusariose	<i>DMR6</i>	3
 Manioc	bactériose vasculaire	<i>SWEET</i>	3
	Sécurité alimentaire (cyanure)	Linamarin synthase	3
 Maïs	Nécrose létale du maïs (NLM)	<i>C6 QTL</i>	1
	Résistance au <i>Striga</i>	Strigolactone	3
 Pomme de terre	Résistance potyvirus	<i>eIF4E</i>	2
	Résistance mildiou	<i>StDMR6, StCHL1</i>	2
 Riz	bactériose vasculaire	<i>SWEET, AGO4, STV11</i>	4, 3
	Sécurité alimentaire (arsenic et cadmium)	<i>OsNRAMP5, OsPT8, LS1, LS2</i>	3
 Blé	Rouille et oïdium	<i>Lr67</i>	3

(*) Le stade 5 (culture au champ) est le stade final avant la mise sur le marché

Potentiel et limites des NGT pour l'amélioration des plantes

- Quelles sont les limites biologiques à l'utilisation des NGT ?

Pour beaucoup de caractères, les **connaissances** restent **trop parcellaires** pour savoir quel gène doit être modifié pour changer le phénotype de la plante.

Particulièrement vrai pour les caractères associés à la **transition agroécologique**.

Une autre limite est que la possibilité d'inactiver par mutation ciblée n'importe quel gène du génome n'est applicable en routine qu'à un nombre limité de plantes : le riz, le blé, le maïs, la tomate, le soja.

Les verrous à lever sont l'entrée dans la cellule végétale du module CRISPR-Cas9 et/ou la régénération d'une plante entière à partir la cellule dont l'ADN a été modifié.

➤ Quelles sont les limites réglementaires pour l'utilisation en Europe

Actuellement la commercialisation en Europe des variétés produites par édition de gènes entre dans le cadre du règlement applicable aux OGM classiques qui est basée sur la pratique de la transgénèse c'est-à-dire de l'introduction de gènes étrangers qui laissent des marqueurs facilement identifiables. Cette réglementation basée essentiellement sur la technique utilisée semble difficile à appliquer à la technique d'édition de gène qui, de plus, ne peut être distinguée de l'apparition de mutations naturelles. La question se pose donc de reprendre la réglementation en prenant en compte le caractère apporté à la nouvelle variété et non la technologie d'obtention. La discussion d'un nouveau règlement est en cours au niveau de la Commission et du Parlement européens. La proposition consisterait à considérer certaines de ces nouvelles variétés comme similaires à celles obtenues par l'amélioration des plantes classique ce qui allégerait notamment, les coûts de mise sur le marché. Elle rendrait possible la mise sur le marché par de petites sociétés voire des fondations alors que le coût de la réglementation OGM n'est actuellement accessible qu'à des sociétés semencières multinationales.

Conclusion

La nouvelle technique d'édition de gène basée sur le système CRISPR-Cas offre la possibilité d'introduire des modifications du génome qui sont indistingables de celles apportées par les mutations naturelles. Elle permet de réécrire des gènes bien ciblés pour leur procurer des propriétés agronomiques plus intéressantes et une réponse plus adaptée aux facteurs climatiques ou aux attaques parasitaires. De plus, elle offre la possibilité de modifier de façon simultanée de nombreux gènes ce qui est très utile car les caractères à modifier sont le plus souvent polygéniques. C'est aussi une opportunité pour augmenter la diversité génétique (concept de « rewilding ») et un outil additionnel de la transition agroécologique. Son coût faible de mise en œuvre rend accessible cette méthode puissante d'amélioration des plantes à des petites sociétés ou à des fondations, à condition qu'une réglementation adaptée soit mise place, au niveau européen en particulier.

Questions

Q. Pourquoi y-a-t'il un retard en France, n'est-ce pas la conséquence de l'abandon par l'INRAE de la création plantes transgéniques d'intérêt agronomique en raison des campagnes anti-OGM ?

R. Pas vraiment, les travaux de recherche utilisant la transgénèse ont toujours été très actifs à l'INRAE car c'est un outil essentiel pour comprendre les mécanismes de fonctionnement des plantes. CRISPR-Cas a été utilisé à l'INRAE dès qu'il a été disponible et plusieurs exemples d'application à des plantes d'intérêt agronomiques ont été décrits dans l'exposé (vigne résistante à la pourriture grise, tomate résistante au potyvirus). Ce qui limite la diffusion est la réglementation en Europe.

Q. Où en est-on pour la réglementation européenne ?

R. La réglementation actuelle sur les OGM qui a été créée pour les plantes issues de la transgénèse qui consiste à introduire un nouveau gène, possiblement originaire d'organismes très éloignés des végétaux, ne peut pas s'appliquer aux plantes issues de l'édition de gènes. Une réglementation nouvelle est en cours de discussion au niveau de la commission européenne. La Pologne qui préside actuellement l'Europe pour 6 mois a l'intention de faire adopter le règlement avant la fin de son mandat. Le principe serait de considérer que les gènes issus de l'édition des gènes natifs ne sont pas différents de ceux des plantes issues de la sélection classique. Les plantes éditées seraient alors dispensées de tous les tests de non-toxicité imposés aux OGM. Ces tests étant extrêmement coûteux, plusieurs centaines de milliers de dollars, ils ne sont accessibles qu'aux multinationales des semences.

Q. Qu'en est-il des brevets ?

R. Il y a deux sortes de brevets potentiellement applicables, ceux liés à l'utilisation de l'outil CRISPR et ceux liés à la plante ? La situation des brevets pour l'utilisation de CRISPR est très complexe, certains sont notamment détenus par l'université de Stanford et par le MIT. A priori les redevances ne s'appliquent pas pour les travaux de recherche mais elles sont à négocier en cas de commercialisation des semences. En revanche, le brevetage du vivant (variétés végétales, races animales et corps humain) n'est pas autorisé en Europe (NdR directive 98/4). Toute nouvelle variété y est traditionnellement protégée par le COV (certificat d'obtention végétale) qui permet la rémunération de l'obteneur mais le COV autorise tout nouvel obtenteur à utiliser cette variété pour en dériver une nouvelle, sans paiement de redevance. Ce système ouvert a permis de favoriser l'innovation et est une garantie de protection du « bien commun » que peuvent être certains caractères d'intérêt (résistance etc...).

Q. La réglementation en cours semble placer à 20 le nombre maximum de gènes édités pour bénéficier du même régime que pour la sélection classique.

R. C'est exact, cela peut poser un problème pour certains caractères comme pour le blé sans gluten où 35 gènes doivent être modifiés

Q. L'une des critiques des anti-OGM est l'existence de modifications hors-cible

R. En effet, il peut exister dans le génome des copies de la séquence ciblée que l'on veut modifier. Ces copies peuvent se situer dans des gènes dont l'expression peut être perturbée et avoir des effets négatifs sur la plante. Outre que ce nombre de copies est bien inférieur à celui des mutations provoquées par la mutation aléatoire on peut maintenant savoir exactement à quel endroit se trouvent les modifications hors cible grâce au séquençage du génome qui est disponible en quelques jours à un coût très abordable. Par ailleurs, même par l'amélioration classique on peut créer des variétés toxiques. Un exemple célèbre est celui de la pomme de terre Lenape issue de la sélection classique. Il s'est avéré que ce gène produisait une toxine non seulement contre des pathogènes mais aussi pour l'homme.

Q. Le coût de ces techniques ne représente-t'il pas une barrière pour l'utilisation à des plantes cultivées par des populations à faible moyen dans des zones tropicales par exemple.

R. Oui mais le problème n'est pas différent de celui posé par la sélection classique (NdR. Il se pose aussi pour les vaccins). Néanmoins, ces coûts seraient à la portée de fondation ou d'organismes de coopération internationale comme ICRSAT (Institut international de recherche sur les cultures des zones tropicales semi-arides) si l'on sort de la réglementation OGM.