

Les nouvelles techniques d'amélioration des plantes : quelques éclairages du quatrième semencier mondial, Limagrain, sur l'innovation en agriculture

Par Jean-Christophe GOUACHE

Directeur des Affaires internationales de Limagrain

Le groupe coopératif agricole international Limagrain, le quatrième semencier mondial, soutient l'innovation agricole, notamment les nouvelles techniques d'amélioration des plantes (*New Plant Breeding Techniques*) comme vecteurs cruciaux de progrès génétiques pour répondre aux multiples défis que doit relever l'agriculture. Ces nouvelles techniques constituent des outils complémentaires de ceux qui ont été historiquement utilisés dans les programmes d'amélioration des plantes. Elles permettent un gain d'efficacité et peuvent générer de la diversité génétique. Néanmoins, pour permettre leur utilisation sur un grand nombre d'espèces végétales et par tous les sélectionneurs en Europe (et garantir ainsi le maintien de la diversité des acteurs), les contraintes réglementaires et les coûts induits doivent être acceptables au regard de la taille des marchés ciblés. Limagrain défend une approche réglementaire proportionnée aux risques, prévisible, transparente et fondée sur des bases scientifiques. Une telle approche est nécessaire pour ne pas restreindre l'innovation de façon injustifiée, éviter de conduire à la stigmatisation des nouvelles techniques et promouvoir la confiance du public vis-à-vis des produits agricoles. Dans cette perspective, Limagrain soutient la proposition, qui a été faite par cinq organisations professionnelles ⁽¹⁾, de classer certaines de ces techniques hors du champ d'application de la directive OGM de la Communauté européenne (2001/18/CE).

En ce début de XXI^e siècle, l'agriculture doit relever de nombreux défis : nourrir l'humanité, avec une demande sans cesse en augmentation ; garantir la sécurité sanitaire ; réduire son empreinte environnementale et préserver la biodiversité ; participer à la lutte contre le changement climatique et s'y adapter ; fournir des matières premières adaptées aux usages énergétiques, chimiques ou utilisables en tant que matériaux ; et garantir la compétitivité économique des agriculteurs.

Les réponses à ces défis sont multiples. Elles intègrent de nouvelles pratiques agro-écologiques, des techniques digitales et robotiques, la génétique et les biotechnologies, comme le préconise le rapport « Agriculture et Innovation 2025 » ⁽²⁾, en France, et la stratégie européenne « A strategic approach to EU agricultural research and

innovation » ⁽³⁾. Parmi ces réponses figure la **sélection végétale** : parce qu'elle détermine les **caractéristiques et le potentiel productif de la plante**, elle constitue en cela un **enjeu stratégique**.

Ainsi, l'augmentation des rendements, la résistance des plantes aux insectes et aux maladies, l'amélioration de la

(1) En décembre 2015, cinq organisations (FNSEA, Jeunes agriculteurs, Coop de France, Union française des semenciers et GNIS) ont déposé une contribution auprès du Comité économique éthique et social du Haut conseil aux biotechnologies proposant une grille d'analyse réglementaire des NPBT.

(2) <http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/rapport-agriculture-innovation2025.pdf>

(3) <http://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/news/designing-path-strategic-approach-eu-agricultural-research-and-innovation>

qualité nutritionnelle et sanitaire des aliments ainsi que la recherche d'une utilisation plus raisonnée des ressources naturelles (eau, sol, etc.) constituent des programmes de recherche prioritaires et de puissants axes d'innovation. Des semences plus performantes permettront aux agriculteurs et aux maraîchers de mieux répondre aux besoins des consommateurs et aux défis sociétaux, tout en assurant la pérennité de leur exploitation.

Une étude européenne ⁽⁴⁾ a montré qu'au cours des 15 dernières années les activités d'amélioration des plantes dans l'Union européenne (UE) ont donné lieu à de nombreux bénéfices clairement quantifiables pour l'économie, l'environnement et la société. En particulier, la sélection variétale contribue pour environ 74 % du total de la croissance de la productivité agricole : cela équivaut à une augmentation des rendements de 1,24 % par an (en moyenne, pour les principales cultures de l'UE). La sélection variétale contribue aussi à réduire les émissions de gaz à effet de serre : environ 3,4 milliards de tonnes d'émissions directes de CO₂ ont été évitées en Europe, ces 15 dernières années.

Quatrième semencier mondial (créé et dirigé par des agriculteurs français), Limagrain sélectionne, produit et commercialise des semences d'espèces potagères et céréalières. Limagrain soutient l'innovation agricole, notamment les nouvelles techniques d'amélioration des plantes (*New Plant Breeding Techniques – NPBT*) comme vecteurs cruciaux de progrès génétique pour répondre aux multiples défis que doit relever l'agriculture. Ces techniques constituent des outils complémentaires de ceux qui ont été historiquement utilisés dans les programmes d'amélioration des plantes. Elles permettent un gain d'efficacité et peuvent générer de la diversité génétique.

Les nouvelles techniques d'amélioration des plantes, facteurs d'innovation en matière de création variétale

L'expression générique de « nouvelles techniques d'amélioration des plantes » (*New Plant Breeding Techniques – NPBT*) recouvre un certain nombre de biotechnologies appliquées au végétal qui ont été développées depuis la fin des années 1990 sur la base de techniques préexistantes. La Commission européenne en a établi une première liste en 2007. Depuis lors, de nouvelles techniques sont apparues, comme les techniques TALENs ⁽⁵⁾, et surtout CRISPR ⁽⁶⁾-Cas9 ⁽⁷⁾, qui a fait l'objet de nombreux articles scientifiques et a remporté le prix Science 2015 de la meilleure avancée scientifique.

Très diverses, ces techniques peuvent néanmoins être regroupées en plusieurs catégories. Il s'agit :

- des techniques d'édition du génome qui rassemblent la mutation ciblée par nucléases dirigées ⁽⁸⁾ (SDN1, 2 : *Zinc Finger Nucleases* (ZFN), méganucléases (MN), TALEN, CRISPR-Cas) et la mutation dirigée par oligonucléotides (ODM) ⁽⁹⁾.
- des techniques d'intégration ciblée d'une séquence d'ADN par nucléases dirigées (SDN3),

- des techniques exploitant les mécanismes épigénétiques qui modulent l'expression des gènes : *RNA-dependent DNA methylation* (RdDM),
- et d'autres techniques qui certes ne sont pas nouvelles, mais qui posent une question d'interprétation juridique : agrofiltation, greffe végétale, cisgénèse et intragenèse, ségréants négatifs...

Les potentialités de ces techniques ont été montrées par de nombreux travaux de recherche et la plupart d'entre elles continuent d'évoluer rapidement. Les techniques d'édition de gènes sont particulièrement prometteuses, car elles peuvent permettre, de façon ciblée et efficace, à l'aide de « ciseaux moléculaires », d'éteindre ou de modifier l'expression d'un ou de plusieurs gènes. Elles permettent donc d'élargir la diversité génétique des plantes. CRISPR-Cas9 et ses variantes sont d'un intérêt majeur en raison de leur relative simplicité de mise en œuvre et de leur coût réduit en consommables, de telle sorte que de nombreux laboratoires dans le monde utilisent aujourd'hui cette technique. Cependant, l'utilisation de cette technique dans des programmes de sélection nécessite de mobiliser le savoir-faire et les infrastructures des professionnels de l'amélioration des plantes, qu'ils soient publics ou privés.

Dans la plupart des cas, les nouvelles techniques produisent des plantes qui n'ont pas intégré d'ADN étranger à leur espèce et qui ne sont pas distinguables de variétés qui pourraient être issues de mutations spontanées (moteur de l'évolution darwinienne) ou induites, ou de croisements sexuels.

Le ciblage moléculaire des modifications à apporter au génome est le progrès le plus significatif apporté par les techniques d'édition du génome. Le ciblage peut être obtenu par le biais de nucléases (qui jouent le rôle de « ciseaux moléculaires ») dirigées vers une séquence choisie de l'ADN (techniques SDN : ZFN, MN, TALEN et CRISPR-Cas9).

L'utilisation de ce ciblage moléculaire peut répondre à trois objectifs différents :

- un objectif de mutation (par insertion ou délétion) ponctuelle ou concernant un petit nombre de nucléotides et ciblant un site particulier du génome (SDN1),
- un objectif de conversion allélique consistant à modifier la séquence d'un gène donné sur une partie de sa séquence, de façon contrôlée (SDN2),
- enfin, un objectif d'intégration ciblée d'une séquence (endogène ou exogène) d'ADN. L'application des SDN3 permet une telle intégration. C'est ce ciblage du site

(4) http://www.plantetp.org/images/stories/stories/documents_pdf/HFFA_Research_Paper_03_16_final_protected.pdf

(5) TALENs : Transcription activator-like effector nuclease (nucléases effectrices de type activateur de transcription).

(6) CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (courtes répétitions palindromiques regroupées et régulièrement espacées).

(7) Cas9 : CRISPR associated protein 9.

(8) SDN : Site Directed Nuclease.

(9) Oligonucleotide Directed Mutagenesis.



Photo © Christophe Maître/INRA

Croisement d'une plante génétiquement modifiée avec une plante malade.

« L'introduction de nouveaux caractères génétiques de résistance aux maladies permet de réduire le besoin de traitements phytosanitaires des cultures et d'en stabiliser le rendement. »

d'insertion du transgène qui distingue cette technique de la transgénèse classique.

Le nombre des applications mises sur le marché est encore limité.

La première variété mise sur le marché, en 2014, aux États-Unis, est un colza ⁽¹⁰⁾ tolérant à un herbicide obtenu par mutation dirigée par oligonucléotides (ODM).

Obtenues par cisgenèse, deux variétés de pommes ⁽¹¹⁾ qui ne brunissent pas lorsqu'on les coupe et une variété de pomme de terre ⁽¹²⁾ qui elle aussi ne brunit pas et qui, surtout, est à faible teneur en asparagine (réduisant la formation d'acrylamide ⁽¹³⁾ lors de la cuisson) vont être commercialisées aux États-Unis et au Canada.

Néanmoins, le nombre des projets de recherche et donc celui des variétés en développement augmente très fortement.

Des techniques essentielles pour répondre aux multiples défis que doit relever l'agriculture

Ces nouvelles techniques constituent des outils complémentaires à ceux qui ont été développés au fil du temps dans les programmes d'amélioration des plantes ; elles ont notamment l'avantage de pouvoir être appliquées à

toutes les espèces végétales. À ce titre, elles modernisent la boîte à outils du sélectionneur, mais ne changent pas fondamentalement sa façon de travailler.

Leurs avantages identifiés sont les suivants :

- elles créent de la **diversité génétique nouvelle** et élargissent le réservoir de gènes disponibles et utilisables pour les programmes de sélection : activer/désactiver des gènes, optimiser l'expression de certains gènes (nouveaux allèles) et cumuler les allèles favorables à l'expression d'un caractère recherché, dans les espèces polyploïdes ;
- elles permettent de **mieux comprendre le déterminisme génétique** de certains caractères et d'explorer des champs de recherche, comme les modalités de contournement des parasites et pathogènes ;

(10) <http://www.cibus.com/products.php>

(11) <http://www.arcticapples.com/>

(12) <http://www.simplotplantosciences.com/>

(13) Selon l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation (ANSES), « l'acrylamide est une substance qui se forme au moment de la cuisson à haute température de certains aliments riches en asparagine (un acide aminé) et en amidon. Cette molécule est reconnue comme cancérigène avéré pour l'animal et possible pour l'Homme par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) » – voir <https://www.anses.fr/fr/content/!%E2%80%99acrylamide-dans-les-aliments>.

- elles permettent d'apporter des **solutions nouvelles**, dans **certains cas** où l'amélioration des plantes est **difficile à réaliser**, en termes de **temps** et de **coûts**.

Exemples d'applications de ces nouvelles techniques intervenant au bénéfice des filières agricoles et de la société

Plusieurs types d'application sont désormais à notre portée :

- l'introduction de nouveaux caractères génétiques de **résistance aux maladies** permet de réduire le besoin de traitements phytosanitaires des cultures et d'en stabiliser le rendement. Elle apporte un bénéfice environnemental par la moindre utilisation de produits phytopharmaceutiques et un bénéfice économique pour l'agriculteur par la stabilisation de son revenu et des coûts réduits en intrants. De plus, une meilleure résistance aux maladies simplifie la conduite culturale pour l'agriculteur. Il s'agit de l'application la plus prometteuse à mettre en œuvre à court/moyen terme (le plus souvent par délétion ou par activation d'un gène majeur). De nombreux exemples sont déjà disponibles dans la littérature, comme celui de la résistance à l'oïdium chez le blé par inactivation simultanée des 3 copies d'un gène de sensibilité (mutation de type SDN1, réalisée par CRISPR-Cas9) ⁽¹⁴⁾ obtenue par une équipe de chercheurs chinois.
- l'amélioration de la **qualité nutritionnelle** et de la **conservation** des denrées, qui apporte un bénéfice santé pour le consommateur et un bénéfice environnemental et économique pour les acteurs de la chaîne de valeur, en réduisant les déchets alimentaires. Il s'agit, par exemple, de la modification de la qualité de l'huile de soja destinée à la consommation humaine par inactivation d'un gène par mutation de type SDN1 (réalisée avec TALEN) ⁽¹⁵⁾. Le soja amélioré présente un taux d'acides gras mono-insaturés de 81 % (qui sont bénéfiques pour la santé) et son huile présente un taux d'acides gras saturés (qui eux sont mauvais pour la santé) plus faible que l'huile de colza classique.
- la **résistance aux stress abiotiques** (sécheresse, froid) et l'**amélioration de l'utilisation de l'eau et des nutriments**, toutes deux contribuent à la résilience des végétaux face au changement climatique et génèrent un bénéfice économique pour l'agriculteur par une stabilisation du rendement. Il s'agit là de caractères génétiques complexes pour lesquels l'utilisation de l'édition du génome nécessite de connaître le déterminisme génétique de ces caractères (une application est envisageable, mais à plus long terme). Ainsi, un riz *Green Super Rice* a été développé, qui accumule des allèles favorables sur plusieurs gènes : de croissance racinaire, d'efficacité d'utilisation des nutriments (azotés et potassiques) et de tolérance à la sécheresse ⁽¹⁶⁾.

Un contexte réglementaire incertain

Au niveau européen, la directive 2001/18/EC ⁽¹⁷⁾ relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés (OGM) dans l'environnement et la directive

2009/41/EC relative à l'utilisation confinée de microorganismes génétiquement modifiés (MGM) établissent la base réglementaire des OGM/MGM dans l'Union européenne. L'Annexe 1B de la directive 2001/18/CE exclut de son champ d'application la mutagenèse et la fusion de cellules entre espèces interfertiles. La directive 2001/18/CE ne fournit, quant à elle, aucune précision sur le statut réglementaire des nouvelles techniques d'amélioration des plantes.

La Commission européenne travaille depuis 2007 sur l'interprétation juridique du statut d'un certain nombre de techniques, mais en repousse régulièrement la publication. Cet avis ne sera pas contraignant. Il a pour objectif de proposer une réponse harmonisée. Seule la Cour de Justice de l'Union européenne pourra trancher d'éventuels litiges.

Au niveau français, le Comité scientifique (CS) du Haut conseil aux biotechnologies (HCB) a rendu public, en février 2016, une note d'étape ⁽¹⁸⁾ sur les nouvelles techniques d'amélioration des plantes. Le Comité scientifique propose une analyse qui rejoint et valide les arguments produits conjointement par les associations agricoles (Coop de France, Fédération nationale des syndicats d'exploitants agricoles (FNSEA), syndicat des Jeunes agriculteurs) et le secteur semencier (UFS, GNIS), qui proposent les principes de base d'une classification de ces techniques en s'appuyant sur les domaines d'exclusion déjà prévus dans la directive 2001/18/CE. Selon ces organisations, les produits obtenus avec les nouvelles techniques d'amélioration des plantes qui devraient être exclus du champ de la directive sont :

- les produits qui pourraient être obtenus par croisements sexuels ;
- ceux qui ont été ou pourraient être, à l'avenir, obtenus par mutagenèse ;
- et ceux pour lesquels il n'y a pas eu d'introduction d'ADN héréditaire étranger.

Un cadre réglementaire déterminant pour le développement des nouvelles techniques d'amélioration des plantes

Le cadre réglementaire qui sera retenu pour les NPBT aura un impact décisif sur le développement et la structuration du marché des biotechnologies. En effet, les techniques qui entreraient dans le champ d'application de la directive 2001/18/CE seraient soumis à **des coûts extrêmement élevés liés aux procédures d'homologation**. Actuellement, l'homologation, à l'échelle mondiale, d'un seul produit entrant dans le champ d'application de la directive

(14) YANPENG (W.) & al., Nature biotechnology 32, 2014, pp. 947-951.

(15) HAUN (W.) & al., Plant Biotech Journal 12, 2014, pp. 934-940.

(16) SIBIN (Yu) & QIFA (Zhang), FAO symposium, Feb 2016.

(17) http://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:303dd4fa-07a8-4d20-86a8-0baaf0518d22.0004.02/DOC_1&format=PDF

(18) http://www.hautconseilidesbiotechnologies.fr/fr/system/files/file_fields/2016/03/30/cs_1.pdf

Limagrain, un groupe coopératif agricole international ancré dans un territoire, l'Auvergne, et tourné vers la recherche et l'innovation

En 1942, pour maîtriser la fourniture des semences nécessaires à leur activité, des agriculteurs de la plaine de la Limagne, en Auvergne, se sont regroupés au sein d'une coopérative. Devenue Limagrain en 1965, cette coopérative a soutenu le développement de leurs exploitations grâce à la production de maïs semence. Aujourd'hui, la coopérative Limagrain regroupe près de 2 000 adhérents producteurs de semences et de céréales et rassemble 45 000 hectares de productions sous contrat, soit environ 50 % des surfaces de production végétale du département du Puy-de-Dôme.

Tourné vers la pérennisation des revenus de ses adhérents, Limagrain est un ardent défenseur des « circuits courts industriels de qualité », c'est-à-dire des filières agro-industrielles de proximité alliant qualité et régularité des productions, avec la création de marchés permettant de valoriser les productions agricoles locales. Ce modèle assure notamment aux agriculteurs adhérents un débouché qui contribue à leur performance économique et renforce leur capacité d'adaptation à des méthodes culturales et environnementales innovantes. Limagrain a investi dans deux filières intégrées de maïs et de blé permettant de valoriser la qualité du terroir local. C'est ainsi que Jacquet Brossard produit en Auvergne et commercialise des pains issus des variétés de blé spécifiques cultivées par les agriculteurs de la coopérative.

Devenu progressivement un groupe international, Limagrain crée, produit et commercialise aujourd'hui des semences de grandes cultures, des semences potagères et des produits céréaliers destinés aux agriculteurs, aux maraîchers et aux jardiniers amateurs, ainsi qu'aux professionnels de l'agroalimentaire et aux consommateurs.

Limagrain réalise un chiffre d'affaires de près de 2,4 milliards d'euros et rassemble dans 55 pays plus de 9 600 collaborateurs.

En ce qui concerne la recherche agronomique, Limagrain considère que l'effort doit être maintenu à un très haut niveau pour que l'agriculture française demeure compétitive. À son échelle, Limagrain se donne les moyens de cette ambition : 14,6 % de son chiffre d'affaires et 2 100 de ses salariés sont dédiés à la recherche.

2001/18 coûte de 130 à 140 millions de dollars ⁽¹⁹⁾, dont de 35 à 40 millions d'euros à l'échelle de la seule Union européenne. Il est important de rappeler que la limitation de l'offre d'innovations issues des techniques de transgénèse à quelques espèces seulement et à un nombre limité de caractéristiques agronomiques utilisables à l'échelle mondiale est en partie due aux coûts d'homologation.

Des coûts exorbitants conduiraient à rendre les nouvelles techniques d'amélioration des plantes inaccessibles aux entreprises et non viables pour de nombreuses applications, avec pour conséquences induites la centralisation du progrès génétique sur un nombre limité d'espèces et sa monopolisation par un nombre limité d'acteurs. Cette situation serait d'autant plus regrettable que, depuis une dizaine d'années, les coûts des équipements et des consommables pour ces techniques

ont considérablement diminué, rendant celles-ci abordables à des entreprises de taille intermédiaire (ETI).

En évitant des contraintes réglementaires coûteuses, la France et l'Union européenne favoriseront le maintien d'une diversité d'entreprises dans un secteur ouvert et dynamique (voire l'émergence de *start-ups* innovantes dans le domaine des biotechnologies végétales) et elles contribueront également au maintien de la diversité des espèces cultivées qui pourront rester (ou redevenir) compétitives au bénéfice d'une agriculture diversifiée.

(19) McDOUGALL (Phillips), The Cost and Time Involved in the Discovery, Development and Authorisation of a New Plant Biotechnology Derived Trait, *United Kingdom, September 2011*.