

# Portée et limites des nouvelles techniques d'obtention végétale, les *New Plant Breeding Techniques* (NPBT)

Par Nils BRAUN

Responsable scientifique des questions de biosécurité et de biosûreté, Haut Conseil des biotechnologies (Paris)

Les NPBT (nouvelles techniques d'obtention végétale) font la une des journaux et voilà que les CRISPR-Cas9 sont censées révolutionner la biologie. Mais, en fait, de quoi s'agit-il ? Les plantes qui en sont issues sont-elles des OGM ? Que dit la réglementation ?

Afin de mieux comprendre les enjeux des débats réglementaires en cours au niveau européen, il est nécessaire de nous interroger sur la nature de ces nouvelles techniques. Quelles sont la portée et les limites des nucléases ciblées ? Pourquoi sont-elles au cœur de débats scientifiques, économiques et sociétaux depuis les récentes révélations sur les potentiels des protéines CRISPR-Cas9 ? S'agit-il d'une révolution en matière d'amélioration des variétés végétales ? La question n'est pas seulement technique.

## D'un débat réglementaire technique à un débat de société

Jusqu'ici limités aux cercles restreints des spécialistes<sup>(1)</sup>, les débats sur les nouvelles techniques d'obtention végétale gagnent peu à peu la sphère publique<sup>(2)</sup>.

Il convient tout d'abord de nous interroger sur la notion même de « nouvelle technique d'obtention végétale » (NPBT). En effet, ces « techniques »<sup>(3)</sup> ne sont, pour la plupart, pas véritablement nouvelles<sup>(4)</sup>, pas plus qu'elles ne s'appliquent exclusivement aux végétaux. Enfin, ce ne sont pas toutes des « techniques ». Il s'agit, en réalité, d'une liste « à la Prévert » non seulement de techniques, mais aussi de nouvelles stratégies utilisant des techniques déjà existantes. Une question lourde de conséquences potentielles est de savoir si elles relèvent des techniques identifiées par la directive européenne 2001/18/CE, c'est-à-dire devant être réglementées en tant qu'OGM.

La directive précitée définit ce que sont les OGM au sens réglementaire du terme, ainsi que les obligations (déclaration, évaluation, traçabilité, étiquetage...) qui s'imposent pour pouvoir les développer et les commercialiser. Cette directive concerne une liste de techniques qui, si elles ont été utilisées à un moment donné du processus d'obtention d'une variété végétale, fondent l'appartenance réglementaire de celle-ci à la qualification d'OGM. La directive

définit cependant des exceptions : deux techniques, la mutagenèse et la fusion cellulaire (dont les produits sont pourtant explicitement reconnus comme des OGM par ce texte), sont exclues des obligations réglementaires pesant sur les OGM. Les techniques listées en 2001 lors de la rédaction de la directive (après plusieurs années de discussion) sont, en 2016, dépassées. On parle ainsi de *nouvelles techniques* au sens où celles-ci ne sont pas encore prises en compte dans la liste établie en 2001, bien que certaines existaient déjà bien avant cette date.

Ainsi, par exemple, c'est l'application de la greffe aux OGM qui est nouvelle. De même, l'intragenèse ou la cisgenèse sont des stratégies particulières de transgenèse et

(1) Une réflexion est en cours à ce sujet au sein du Haut Conseil des biotechnologies.

(2) Le Monde Planète (6 avril 2016, 12 avril 2016 et 25 avril 2016 par BOLIS (A.) et FOUCART (S.), notamment).

(3) Liste des techniques identifiées en 2006 : la greffe entre plantes génétiquement modifiées (GM) et non GM, l'agroinfiltration, la RDdM (modification épigénétique), l'intragenèse, la cisgenèse et les nucléases ciblées.

(4) Sauf à employer l'adjectif « nouvelles » comme une rupture dans la démarche (comme dans les expressions « nouvelles technologies », « nouvelle vague », « nouveau roman » ou « nouvelle cuisine »), la démarche change, mais les outils restent, quant à eux, globalement identiques.

non des techniques. L'agroinfiltration, de son côté, est un outil de production. Quant aux utilisations des nucléases dirigées, elles sont bel et bien au cœur des dernières évolutions des techniques de modification du génome.

Or, un flou réglementaire subsiste quant à la qualification des plantes issues de ces techniques et, donc, quant au régime juridique dont elles relèvent, ce qui ne permet pas aux professionnels des filières végétales de savoir si, et comment, ils peuvent développer ces techniques. L'enjeu est double : d'un côté, la pression réglementaire peut induire des frais grevant notablement les coûts de développement, et donc les espoirs de marchés capables de les rembourser. De l'autre, comme s'en inquiètent des associations de défense de l'environnement ou de consommateurs selon lesquelles nous ne disposons pas encore d'un recul suffisant, le flou juridique interroge sur l'évaluation de risques éventuels pour la santé et l'environnement inhérents aux produits issus de ces techniques.

Pour permettre au lecteur de s'approprier le fond technique de cette question, nous ne traiterons ici que des techniques mettant en œuvre les nucléases ciblées, que la découverte récente du potentiel des CRISPR-Cas9 a mises en avant au point d'éclipser, dans ce débat, les autres NPBT.

## De nouvelles techniques au sens propre du terme : les nucléases ciblées

Les nucléases ciblées sont des enzymes qui sont capables de reconnaître et de couper une séquence d'ADN définie de façon très précise et potentiellement unique, au sein d'un génome donné. Il s'agit d'un ensemble hétérogène de protéines, dont certaines sont utilisées depuis plus d'une décennie. On trouve, parmi celles-ci, les nucléases à doigt de zinc (ZFN), les TALENs et les CRISPR-Cas9. Cette liste n'est pas exhaustive et nombre de nouvelles nucléases de ce type devraient être identifiées dans les années à venir. Lors de la coupure d'un double brin d'ADN, la cellule « réagit » en réparant cet ADN. Cette réparation peut faire intervenir deux mécanismes biologiques distincts, de façon équivalente à ce qui se produit lors de ruptures naturelles de l'ADN.

Le premier mécanisme, lorsqu'aucune copie de l'ADN coupé n'est disponible, consiste à « rabouter » les deux extrémités de l'ADN. Ce collage, parfois approximatif, peut entraîner un changement local aléatoire de la séquence d'ADN. Cette mutation de la séquence d'ADN conduit potentiellement à la modification de l'un des caractères de l'organisme concerné.

Lorsque la cellule dispose d'un fragment d'ADN homologue ou partiellement homologue à la séquence où a eu lieu la coupure, il peut alors servir de « matrice » (de modèle) permettant à la machinerie cellulaire de remplir le vide entre les deux extrémités d'ADN. Il est donc possible au manipulateur de fournir, en plus de la nucléase, une matrice de réparation contenant soit la ou les mutation(s) souhaitée(s) soit une nouvelle séquence (par exemple, un gène codant une nouvelle fonction à insérer au sein de la

séquence coupée). Ce mécanisme de réparation dirigée permet alors soit de réaliser une ou plusieurs mutations choisies soit l'insertion localisée d'un transgène.

Techniquement, les nucléases ciblées offrent donc des possibilités importantes pour modifier de façon précise le génome d'un organisme <sup>(5)</sup> ou pour y introduire un transgène de façon localisée.

Une des questions réglementaires soulevées est la suivante : lorsqu'une nucléase ciblée est utilisée pour obtenir une ou plusieurs mutations ciblées (quel que soit le procédé biologique mis en œuvre), le résultat doit-il être considéré comme un OGM de type transgénèse soumis au niveau européen à évaluation, autorisation, étiquetage, suivi... ou comme un mutant relevant de la qualification d'OGM au titre de la réglementation européenne, mais qui serait exclu de son champ d'application ?

D'un point de vue biologique, on ne peut, à l'heure actuelle, différencier un mutant obtenu par les deux premières méthodes d'un mutant obtenu par mutagenèse, voire d'un variant naturel que l'on aurait sélectionné. Cependant, la méthode d'obtention n'est pas identique et la probabilité d'obtenir ces mutations de façon naturelle est faible. Par l'utilisation de ces techniques, on obtient un événement de mutation qui serait naturellement très improbable à l'échelle de la paillasse ou de la serre, mais qui, à l'échelle de la planète, pourrait avoir des chances d'advenir fréquemment (hors de la vue de l'homme, et donc sans avoir été sélectionné). En outre, si l'on combine plusieurs mutations dirigées, on obtient de façon assez certaine, à l'échelle du laboratoire (voir à l'échelle de la planète), des événements très improbables.

## Portée et limites des nucléases ciblées

### **Une technique ciblée et précise**

C'est la précision accrue de ces nucléases ciblées par rapport aux techniques disponibles qui est mise en avant et qui explique l'intérêt qu'y voient les obtenteurs.

Jusqu'à présent, l'occurrence des mutations était soumise au hasard dans un ensemble de plantes exposées ou non à un agent mutagène (physique ou chimique).

Il y a ici une véritable rupture entre, d'un côté, les techniques permettant d'obtenir des mutations relevant du hasard, puis de sélectionner celles qui présentent un intérêt et, de l'autre, les techniques conduisant à des mutations à des endroits présélectionnés.

Cependant, le ciblage n'est pas nécessairement parfait et des mutations hors cible peuvent apparaître <sup>(6)</sup>. Ces mutations, difficilement quantifiables, ne sont pas nécessai-

(5) Par exemple, pour produire des pommes de terre à faible teneur en acrylamide (Calyxt) ou des champignons qui ne brunissent pas (Penn State University).

(6) La question des risques éventuellement liés à l'utilisation de ces nucléases ne sera pas évoquée dans cet article (elle est actuellement traitée au sein du HCB, appelé à rendre un avis complet à leur sujet).

rement sans effet et il est imaginable qu'elles induisent un effet non souhaité chez la plante ainsi modifiée. Il n'en demeure pas moins que la mutation a été ciblée et que les modifications hors cible sont potentiellement bien moins nombreuses que lors de l'utilisation de techniques reposant sur le hasard et, par définition, sans aucune cible présélectionnée. Lorsqu'elles sont utilisées pour introduire un transgène, les nucléases ciblées permettent aussi de sélectionner une zone précise du génome pour procéder à l'intégration. Les scientifiques espèrent ainsi limiter les effets non intentionnels résultant du hasard de l'intégration du transgène dans le génome en identifiant et en ciblant des zones du génome où l'intégration pourrait avoir un effet réduit. Ces zones, appelées *safe harbors*, permettraient par ailleurs d'intégrer plusieurs transgènes à un même site.

### Une mise en œuvre rapide

Ces techniques permettent d'accélérer le processus d'obtention de nouvelles variétés. Elles permettent d'obtenir simultanément plusieurs modifications, dont la probabilité d'occurrence par voie naturelle est infime. En raccourcissant et en réduisant de façon drastique l'étape de criblage, durant laquelle l'obteneur doit identifier les plantes porteuses des caractères recherchés, et les étapes de croisements successifs pour obtenir l'ensemble des mutations souhaitées dans une plante unique, on a un gain de temps qui peut dès lors être considérable. Cela rend possible des sélections de plantes jusqu'alors impossibles à identifier en raison de la très faible probabilité de les obtenir *via* les mécanismes naturels ou par mutation induite.

### Faible coût et conséquences éventuelles

La portée principale de ces nouveaux outils moléculaires est liée à leur faible coût de mise en œuvre. Le matériel et la technique sont peu chers et la précision des modifications obtenues permet de converger très rapidement vers les résultats attendus. En outre, la disponibilité des données de séquences des organismes et la possibilité de recourir de façon de moins en moins onéreuse au séquençage haut débit laissent supposer que ces techniques deviendront accessibles à un grand nombre de professionnels du domaine.

Selon certains, cette capacité à modifier génétiquement le vivant ne sera ainsi bientôt plus seulement l'apanage de grandes sociétés ou de laboratoires justifiant d'un très haut niveau de compétence leur permettant de viser de gros marchés leur laissant espérer un retour conséquent sur leurs investissements réalisés dans la recherche. Elle pourrait être accessible à de petites entreprises ou à des coopératives locales.

Certes, on ne peut ignorer les risques <sup>(7)</sup> liés à une utilisation dite « de garage » par des acteurs non professionnels ou des individus isolés. Mais les conséquences de ce large accès aux techniques de modification génétique sur le paysage de l'innovation et de l'amélioration variétales sont potentiellement nombreuses.

En effet, les coûts de développement ont jusqu'ici conduit les grandes entreprises agricoles qui cherchent à modi-

fier génétiquement des plantes cultivées, à ne s'intéresser qu'à des plantes dont la culture est répandue (soja, maïs, colza) et à des caractères susceptibles de correspondre aux attentes techniques des plus grands marchés ou aux types de réponse le plus communément souhaités par ces acteurs (tolérance aux herbicides et résistance aux ravageurs). La possibilité pour de plus petites structures d'avoir accès à des outils précis à faible coût pourrait conduire à l'émergence de nouvelles variétés modifiées pour répondre à des contraintes ciblées originales sur des plantes d'intérêt local ou sur des filières d'envergure modeste.

Bien entendu, les traits phénotypiques visés dans ces « micromarchés » pourraient tout à fait intéresser les grosses structures de sélection : les « majors » pourraient aussi profiter de ces outils pour segmenter leur offre et adapter leurs obtentions à des marchés de façon plus souple. Pour certains, nous pourrions alors assister à l'émergence d'une agriculture basée sur l'adaptation biotechnologique à des problématiques locales de variétés locales, un peu sur le modèle de la médecine personnalisée. Cependant, cela doit être relativisé. En effet, d'autres insistent sur le fait que les techniques NPBT et les traits phénotypiques qui en sont issus pourront être protégés, à l'avenir, par des brevets d'invention. Cela serait susceptible de restreindre l'accès au marché à quelques grandes entreprises disposant des moyens soit de déposer lesdits brevets soit d'en acheter les licences. Cela conduirait à une éviction de fait des « petits acteurs » du marché et à la pérennisation de la situation oligopolistique qui a émergé avec la transgénèse. La question de la propriété industrielle est donc ici prépondérante <sup>(8)</sup>.

### Des coûts cachés et les difficultés restantes

Cependant, bien que rendue théoriquement possible, la modification de nouvelles cibles génétiques dans de nouvelles variétés se heurte encore à de nombreuses limites. Ainsi, avant tout, des connaissances théoriques importantes sont nécessaires pour identifier les cibles génétiques à modifier afin de conférer un caractère d'intérêt à une variété. La plupart du temps, le caractère recherché est identifié dans une variété proche (variété ancienne, plante sauvage de la même famille...), dans laquelle il est déjà présent. Une difficulté est de pouvoir lier ce caractère à une séquence particulière d'un gène précis, cela nécessite encore des investissements en matière de recherche.

De plus, la modification génétique de plantes passe par une étape de régénération qui permet, à partir d'une cellule modifiée, d'obtenir une plante dont le génome est lui aussi modifié. Cette étape n'a pu être réalisée, à l'heure actuelle, que sur un petit nombre de plantes cultivées.

(7) Les risques liés à la « biologie de garage » peuvent être divisés en deux grandes classes : les risques de « bio-terreur » à l'initiative d'individus ou d'organisations souhaitant nuire, et les risques de « bio-erreur », qui sont le fait d'individus insuffisamment formés ou insuffisamment équipés pour sécuriser leurs travaux.

(8) Voir la publication du HCB : « Biotechnologies végétales et propriété industrielle », La Documentation Française, ISBN 978-2-11-009729-3

Là encore, l'extension de ces techniques à de nouvelles espèces nécessitera des mises au point techniques et un important effort de recherche.

Enfin, le plus souvent, quelques générations de croisements entre la plante modifiée et une même plante non modifiée sont nécessaires afin d'éliminer d'éventuelles mutations hors cible non souhaitées. En fonction de la biologie de la plante en question, cela peut prendre de quelques mois à plusieurs années (voire des décennies, pour certains arbres, par exemple).

### Les enjeux de la réglementation

La qualification réglementaire de ces plantes et le cortège d'exigences pour une autorisation de mise en marché seront déterminants pour le développement des NPBT. En effet, au coût technique s'ajoute le coût réglementaire. Ce coût comprend, entre autres, les essais réglementaires à mettre en œuvre (à l'heure actuelle, la réglementation européenne et l'usage prévoient notamment des tests agronomiques sur plusieurs années ainsi que des tests toxicologiques sur des animaux) et le coût inhérent au temps nécessaire à la validation d'un dossier au niveau européen pendant lequel la variété ne peut être ni exploitée, ni importée, ni cultivée.

Cette question réglementaire est liée aux risques potentiels identifiés pour les produits issus de ces techniques. Mais elle fait aussi intervenir une composante d'acceptabilité sociale des modifications proposées. À l'heure actuelle, les citoyens français sont dans leur grande majorité sceptiques quant à l'intérêt des plantes génétiquement modifiées, quand ils n'y sont tout simplement pas opposés.

La question des caractères obtenus jusqu'à présent peut y être pour beaucoup, car « la tolérance à un herbicide », par exemple, ne présente, *a priori*, aucun bénéfice aux

yeux du consommateur. Cela peut même être source de craintes. L'émergence de produits dont les modifications ont été réalisées localement pour répondre à une contrainte locale pourrait s'avérer plus intéressante aux yeux du consommateur directement ou indirectement exposé à cette problématique. Il est donc imaginable que la question de l'acceptabilité sociétale évolue aussi avec les nouveaux caractères développés et selon les types d'acteur susceptibles de les promouvoir et de les développer. Même si les techniques pourraient être mises en œuvre par un plus grand nombre d'acteurs pour proposer des produits adaptés aux demandes des consommateurs, répondre à une demande d'information claire et transparente reste indispensable.

### Des nucléases ciblées pour ainsi dire prométhéennes ?

Les nouvelles techniques (et plus précisément, parmi elles, les nucléases ciblées) sont en passe de modifier profondément les méthodes de sélection dans le domaine du végétal. Les conséquences ne seront probablement pas uniquement techniques : elles rejailliront potentiellement sur l'économie du secteur et sur leur acceptabilité pour la société. On ne peut s'empêcher de voir un parallèle avec les sciences de l'informatique, qui ont connu un changement d'échelle dans les années 1970-80 avec l'émergence de la microinformatique personnelle alors que les quelques ordinateurs existants semblaient être l'apanage des grosses firmes.

Pour certains, un changement d'échelle sur les types d'acteur et d'application semble possible, bien que difficilement envisageable. Et, pour d'autres, il est possible que nous voyions émerger une réappropriation de ces techniques biotechnologiques par des acteurs locaux, voire par de simples citoyens.