L'édition du génome au service de la transition agroécologique : enjeux, potentialités et limites.

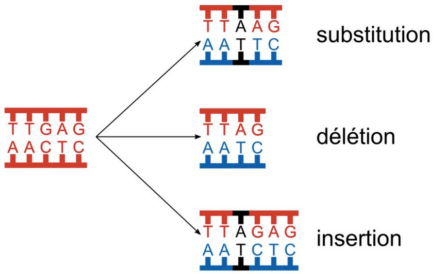
Fabien Nogué
Directeur de Recherche INRAE
Expert panel OGM EFSA
IJPB – INRAE Versailles

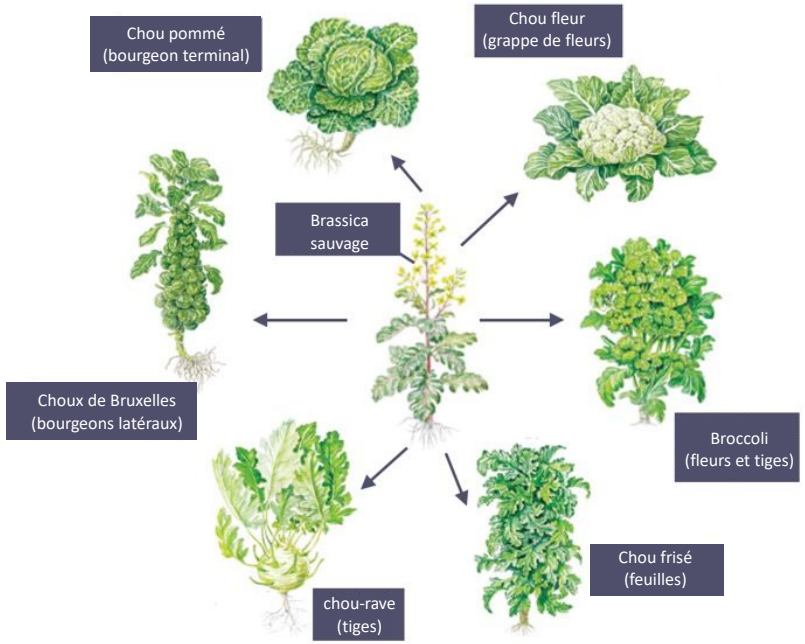
➢ La diversité génétique

Arabidopsis

- une mutation / 100 millions de pb
- 1 à 2 mutations par génération.
- Similaire chez l'homme.

mutations spontanées





Diversité morphologique des choux

- ✓ Dommages endogènes (dérivés réactifs de l'oxygène erreurs de réplication...).
- ✓ Dommages exogènes (UV...).
- ✓ La diversité génétique est un élément clé de l'évolution des espèces et de l'amélioration des plantes.

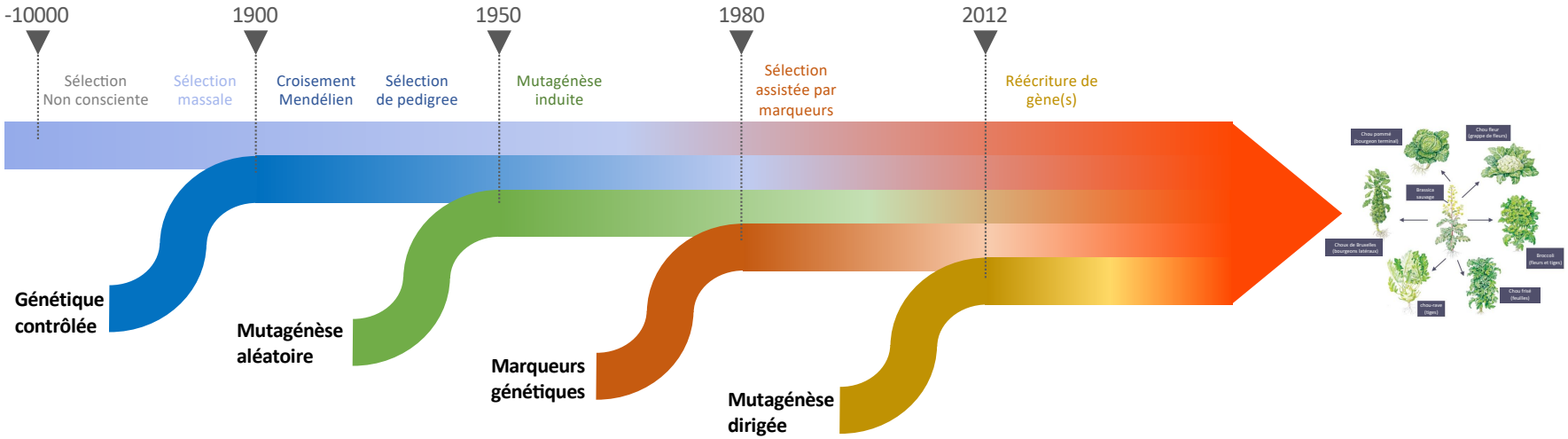
➢ Les mutations, sources de diversité génétique

- ✓ 200 mutations entre le grain et la plante mère.
- ✓ Environ 2 millions de semis/ha, soit 400 millions de mutations dans un champ d'un hectare.

- ✓ Dans un champ de 1 hectare tous les gènes du blé ont été mutés au moins une fois de manière « naturelle ».

- ✓ Vrai en sélection de lignées ou en sélection massale.

➢ L'amélioration des plantes

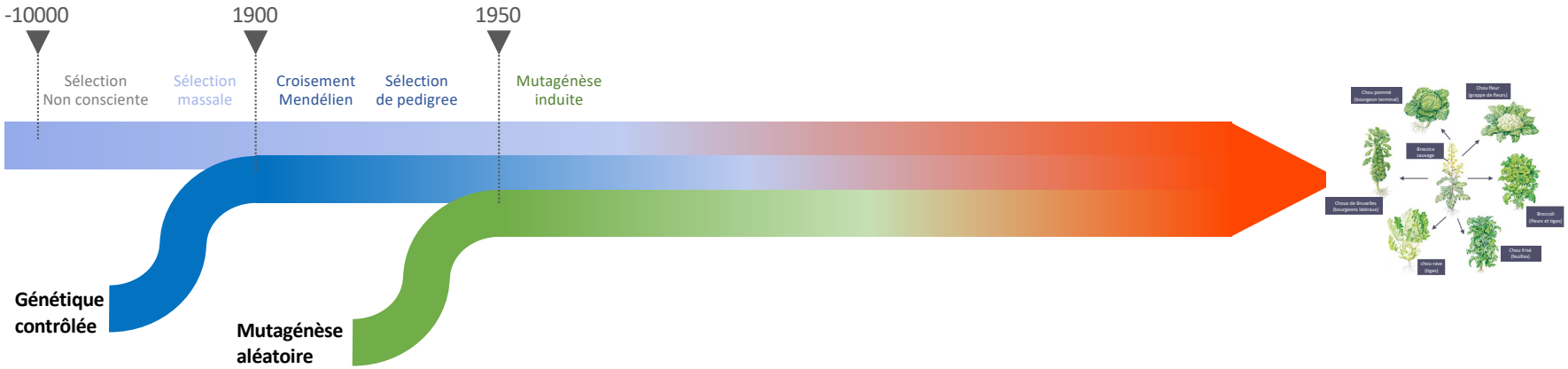


- ✓ Continuum depuis le néolithique de techniques permettant d'obtenir de nouvelles variétés.
- ✓ Toutes ces techniques sont basées sur la diversité génétique, existante ou potentielle, des individus sélectionnés.

➢ Diversité génétique – domestication - sélection

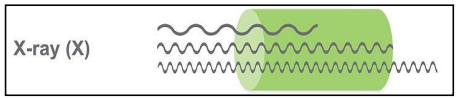
- ✓ Continuum depuis le néolithique de techniques permettant d'obtenir de nouvelles variétés.
- ✓ Cette diversité génétique reste limitée.

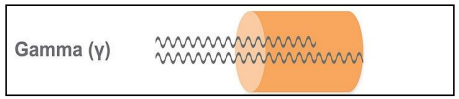
➢ La mutagénèse aléatoire

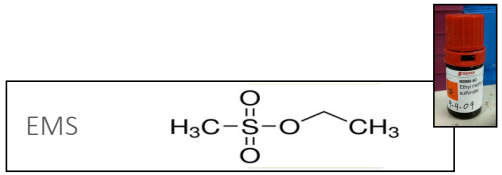


✓ Augmenter les mutations pour augmenter la diversité génétique.

➢ La mutagénèse aléatoire







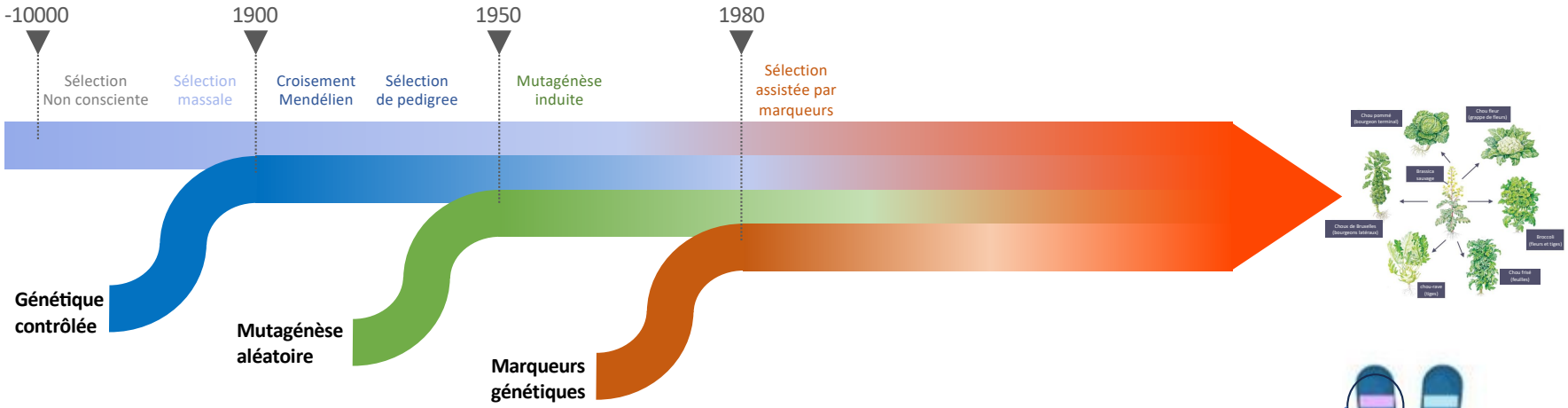
Cerisier
auto-fertile, 1985

Blé
Résistance à la rouille, 1966

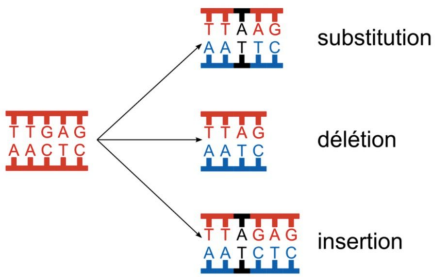
Tomate
Haute teneur en vitamine C, 1977

- ✓ Utilisé en amélioration des plantes depuis le milieu du 20ème siècle.
- ✓ Plus de 3200 variétés identifiées par la FAO (plus de 200 plantes).
- ✓ Utilisation de mutagènes physiques et chimiques

➢ Les marqueurs génétiques



✓ Repérer les mutations pour pouvoir mieux tirer partie de la diversité génétique.



Mutaions spontanées

Marqueurs moléculaires (QTL...)

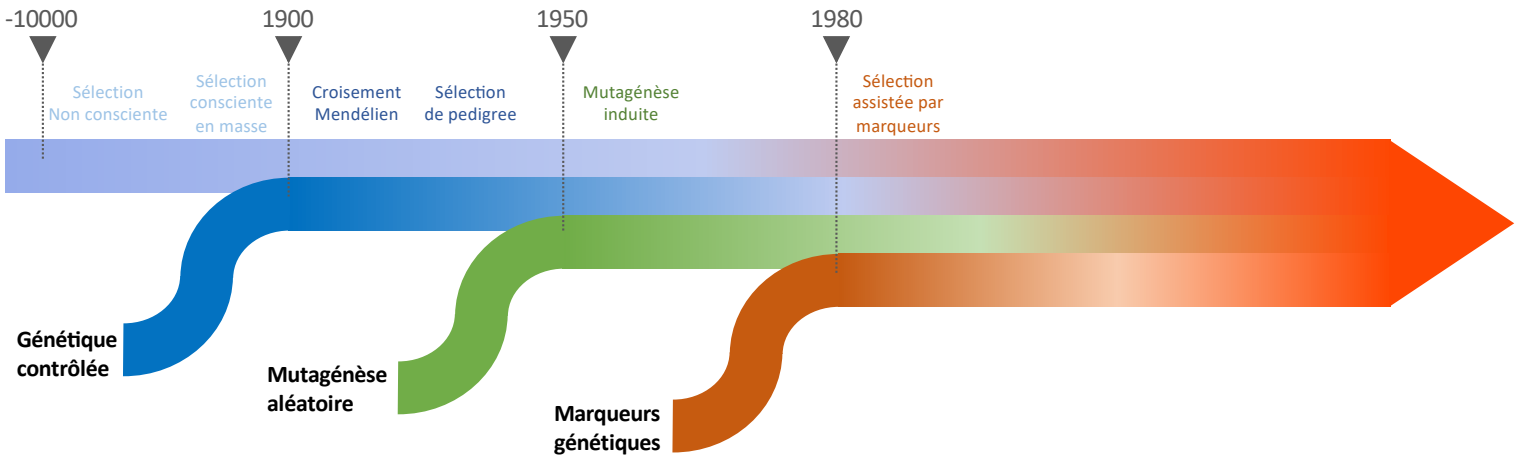
➢ Les mutations, sources de diversité génétique

- ✓ La sélection génétique a augmenté la diversité morphologique mais, dans certains cas, a réduit la diversité moléculaire des espèces cultivées.

Diversité génétique de l'ancêtre sauvage conservée : 83% 64% 38%

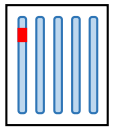
- ✓ L'introgression de gènes (gènes de résistance etc...), par croisements avec des espèces plus distantes, a pu réintroduire de la variabilité génétique.

➢ L'obligation de faire un croisement

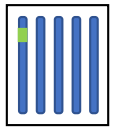


Mildiou de la tomate

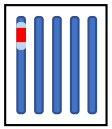
X



Variété A

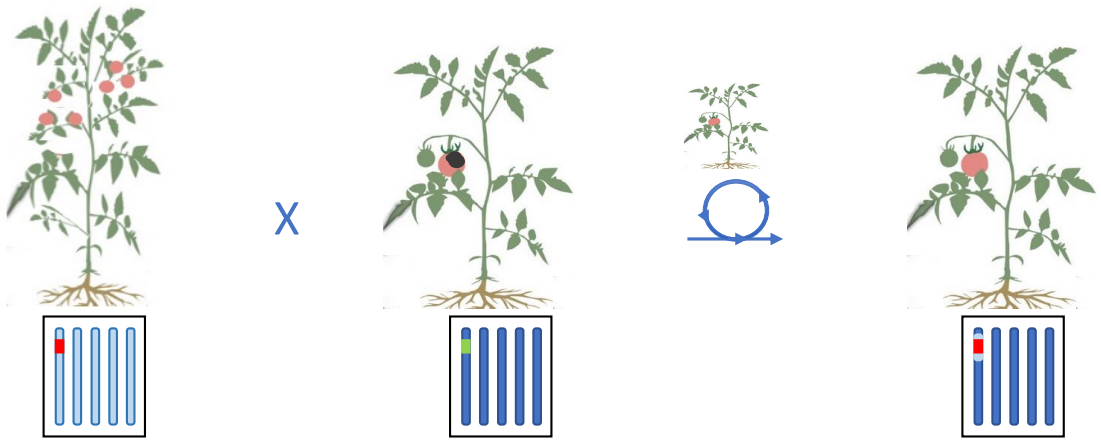


Variété B



Variété B résistante

➢ Les limites de l'amélioration « classique »



Variété A, sauvage résistante au mildiou

Variété B sensible au mildiou

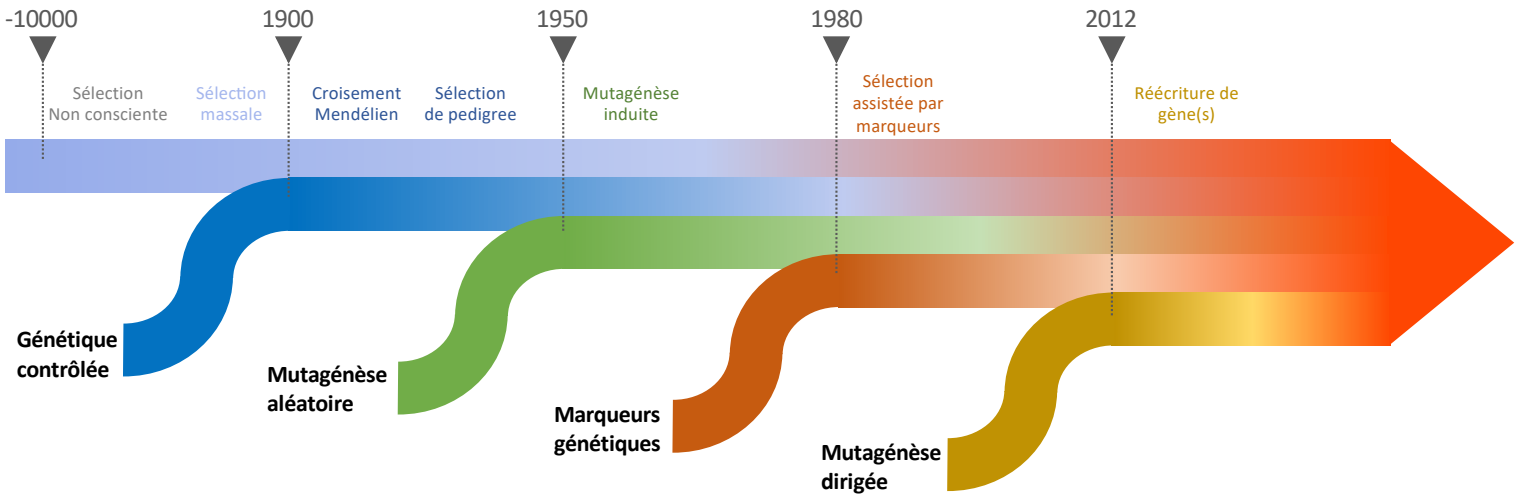
Variété B résistante au mildiou

- Difficulté des croisements interspécifiques
- Risque d'introgression de caractères indésirables dans la nouvelle variété
- Le plan de sélection est contrôlé par la durée du cycle végétatif de la plante
- La barrière de la compatibilité sexuelle

Les nouvelles techniques génomiques

NGT (New Genomic techniques)

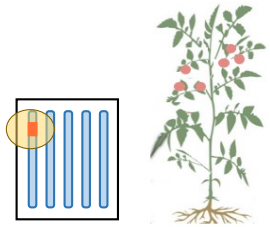
➢ L'intérêt des NGT



➢ L'édition du génome des réponses aux différentes limitations de l'amélioration « classique ».

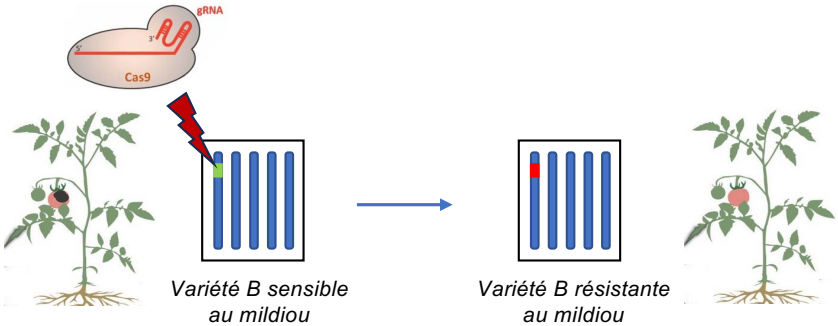
➢ L'intérêt des NGT

1- Identification, basée sur les connaissances scientifiques, d'un gène d'intérêt.



Variété A, sauvage résistante au mildiou

2- Modification ciblée du gène d'intérêt.



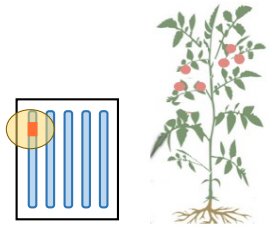
➢ L'édition du génome des réponses aux différentes limitations de l'amélioration « classique »

✓ Risque d'introgression de caractères indésirables dans la nouvelle variété → Modification du gène cible uniquement

✓ Durée du cycle végétatif de la plante → Diminuer le temps de création de nouvelles variétés

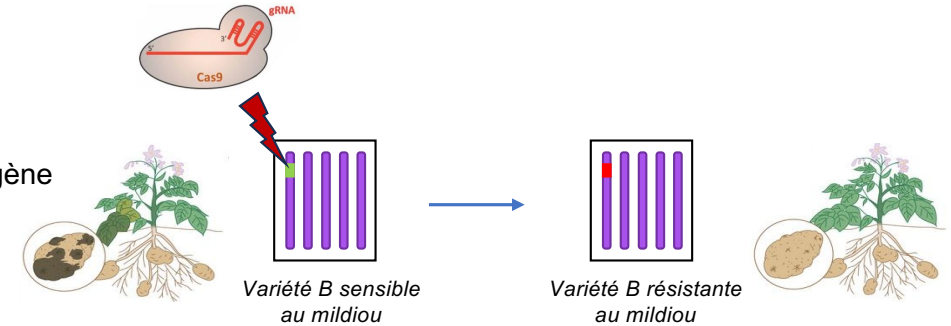
➢ L'intérêt des NGT

1- Identification, basée sur les connaissances scientifiques, d'un gène d'intérêt.



Variété A, sauvage résistante au mildiou

2- Modification ciblée du gène d'intérêt.

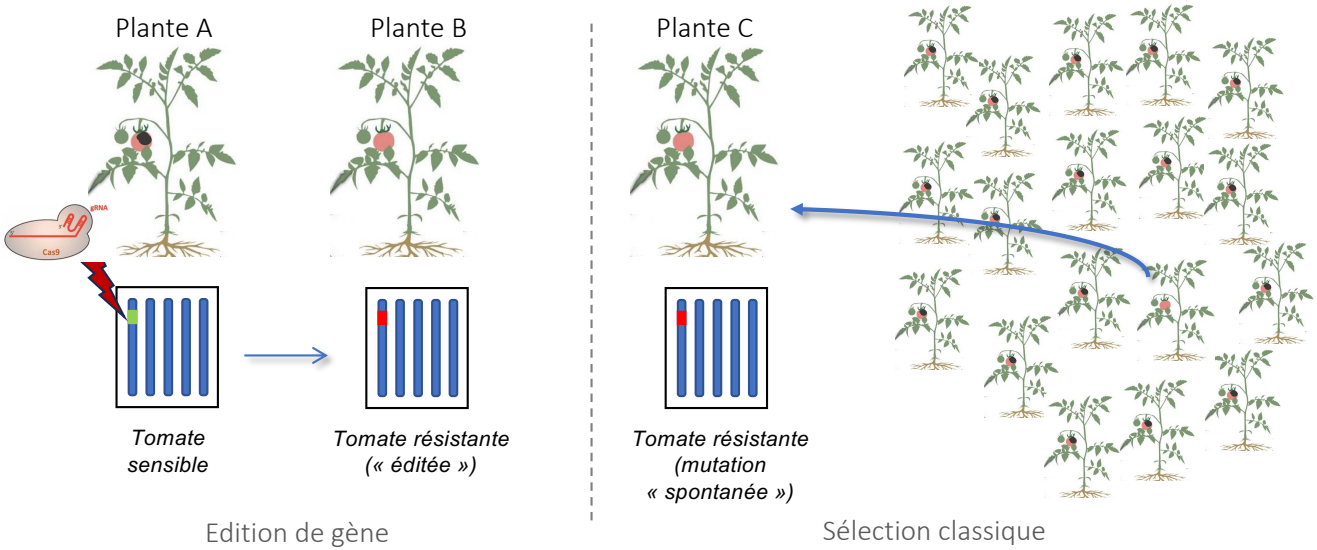


➢ L'édition du génome des réponses aux différentes limitations de l'amélioration « classique »

- ✓ Risque d'introgression de caractères indésirables dans la nouvelle variété → Modification du gène cible uniquement
- ✓ Durée du cycle végétatif de la plante → Diminuer le temps de création de nouvelles variétés
- ✓ Difficulté des croisements / barrière de la compatibilité sexuelle → Possibilité d'utiliser des gènes d'intérêt d'autres espèces

➢ L'intérêt des NGT

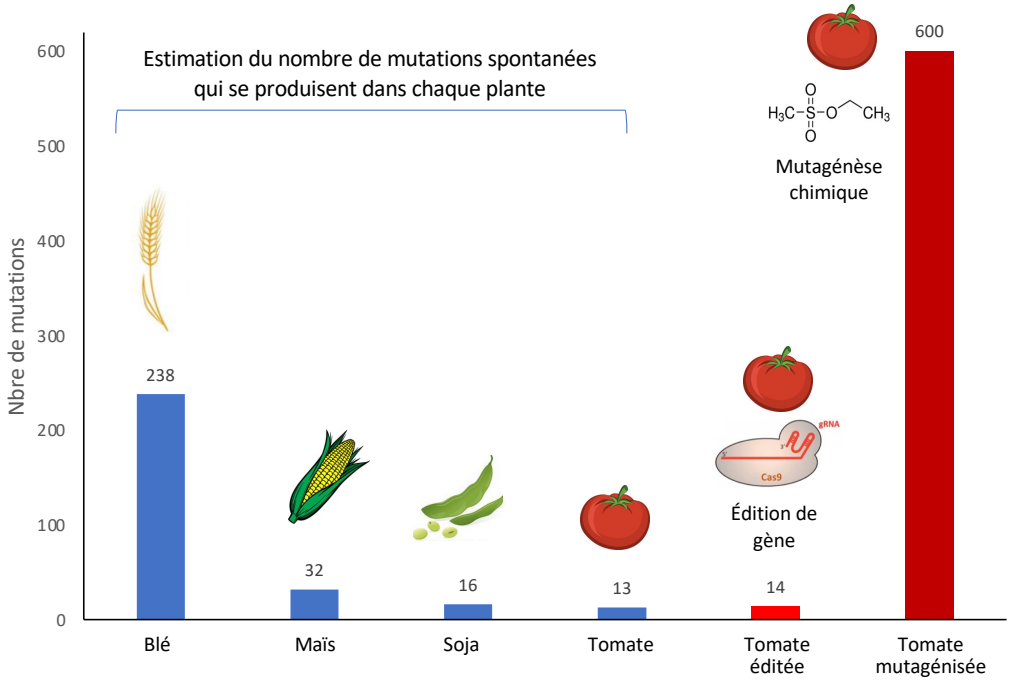
Résistance au Mildiou



- Possibilité d'obtenir une plante dont un gène a été éditée (plante B) qui :
  - Contient une mutation qui pourrait être présente dans le pool génétique de l'espèce.
  - Ne peut pas être distingué phénotypiquement ni moléculairement d'une variété conventionnelle (plante C).

- Cette plante « modifiée » est-elle « équivalente » à une variété conventionnelle ?

➢ L'intérêt des NGT

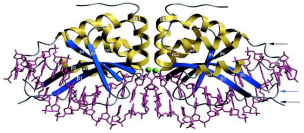


- CRISPR-Cas9 augmente à peine le taux global de mutations spontanées.
- Est loin du nombre de mutations induites par mutagenèse aléatoire.

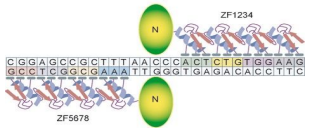
CRISPR-Cas : des bactéries à l'édition du génome

➢ La révolution des NGT

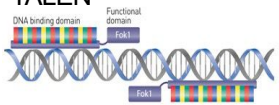
Meganuclease



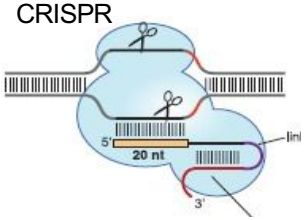
Zinc finger nuclease

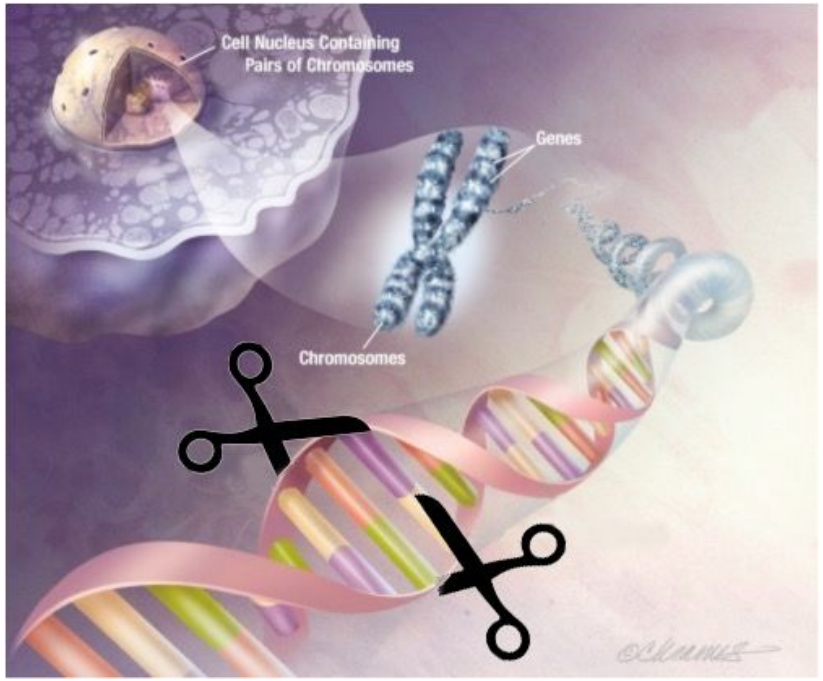


TALEN

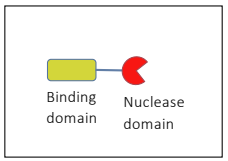


CRISPR

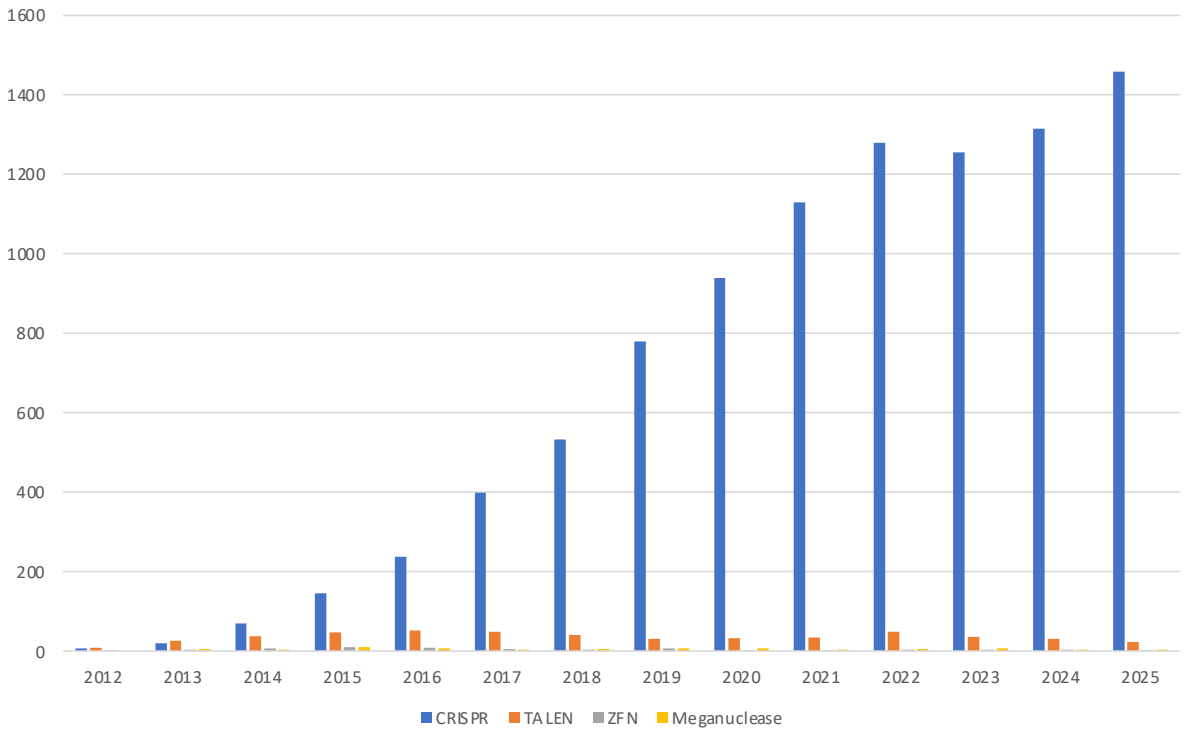


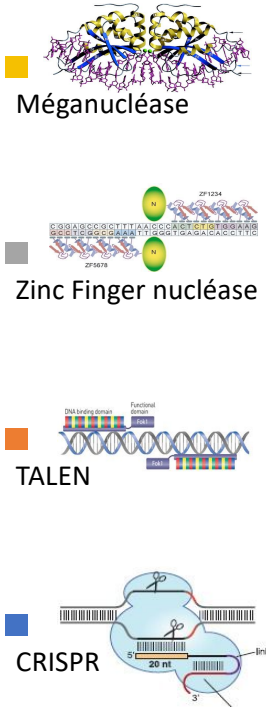


SDN Site Directed Nuclease



➢ CRISPR-Cas9, l'outil privilégié





➢ Plus de 1400 articles sur l'utilisation de CRISPR-Cas9 chez les plantes en 2025.

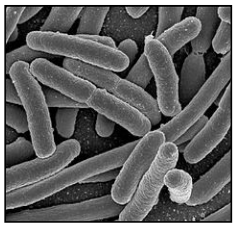
➢ CRISPR-Cas un système immunitaire bactérien

CRISPR-Cas system (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) :

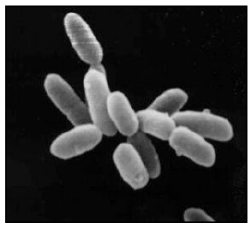
① Acquisition : les séquences invasives sont intégrées dans le locus CRISPR.

① Expression : le locus CRISPR est transcrit et coupé en petits ARN de type crRNAs.

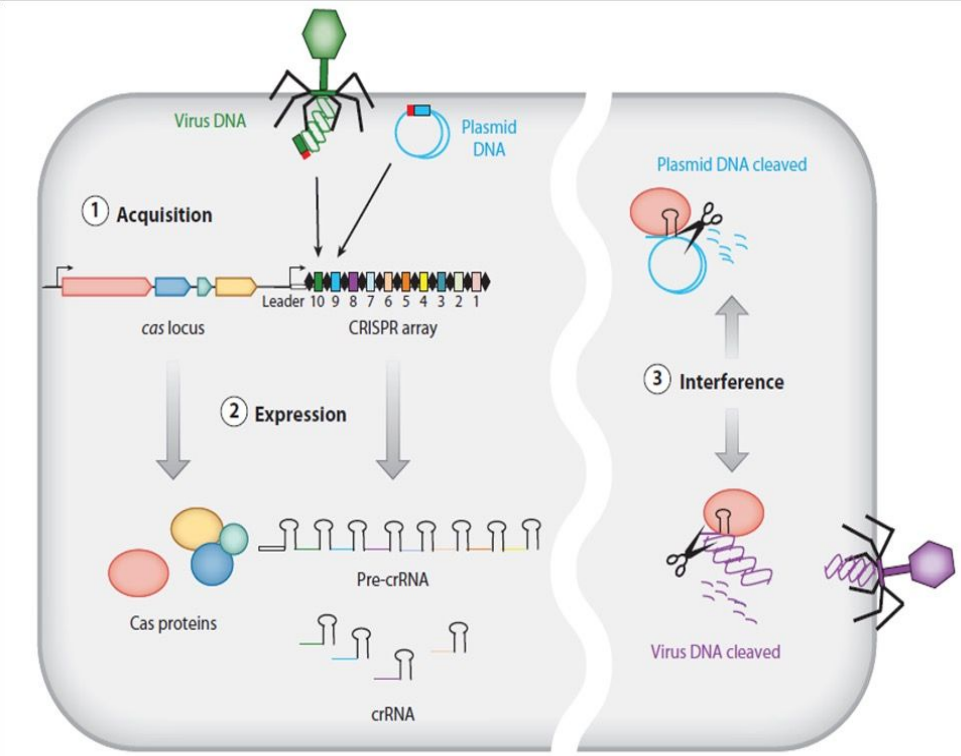
① Interférence : les crRNA s'associent à une nucléase, la protéine CAS (CRISPR-associated protein) qu'ils dirigent vers la séquence virale à couper.



Bacteria

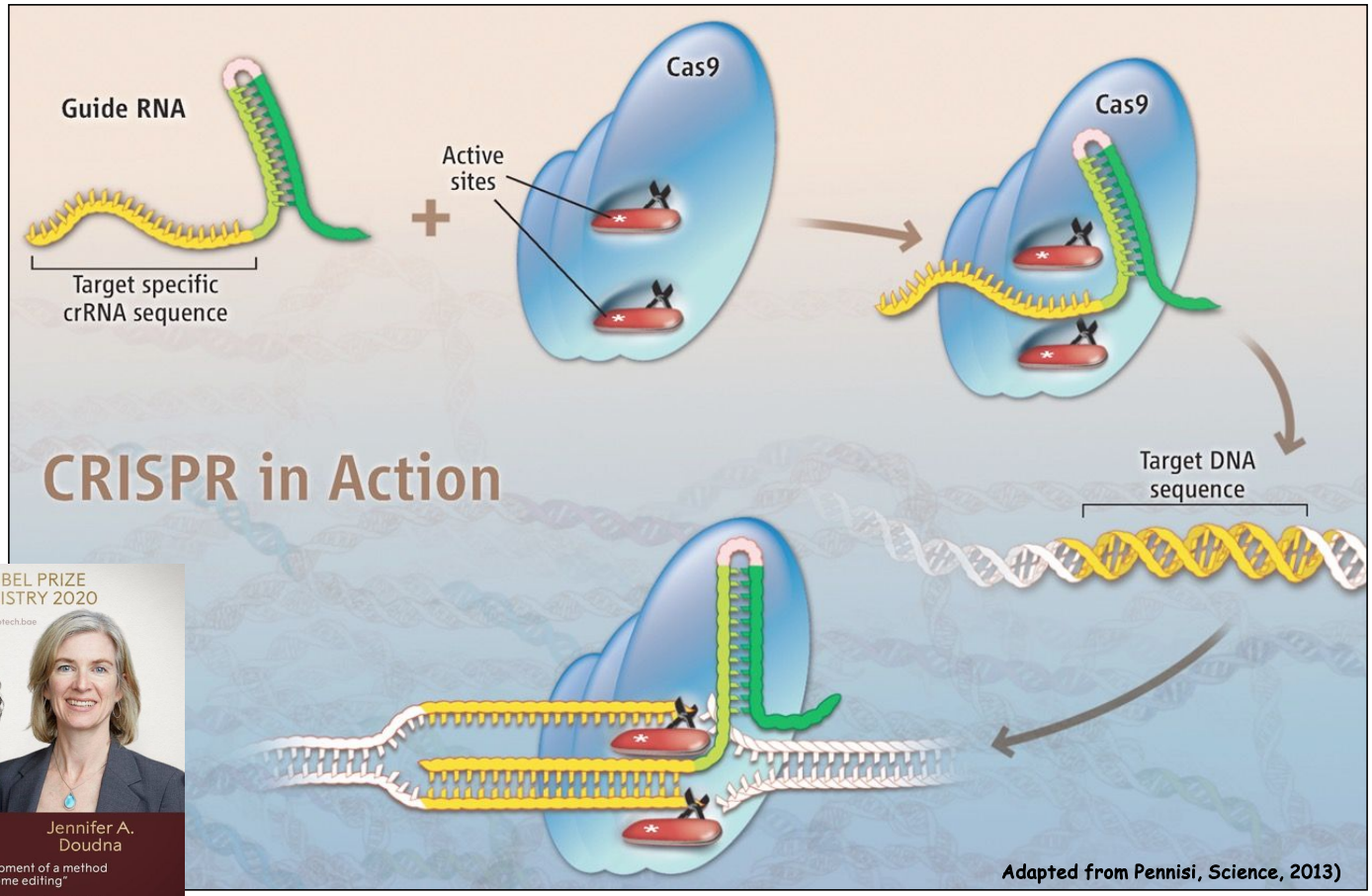


Archaea

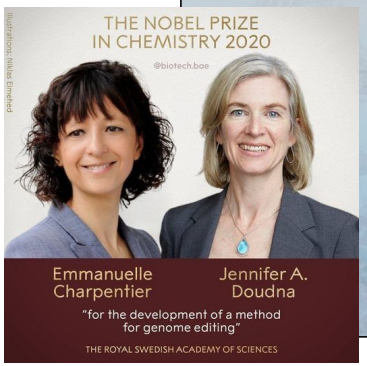


Adapté de Bhaya et al., 2011

➢ CRISPR-Cas un outil biotechnologique

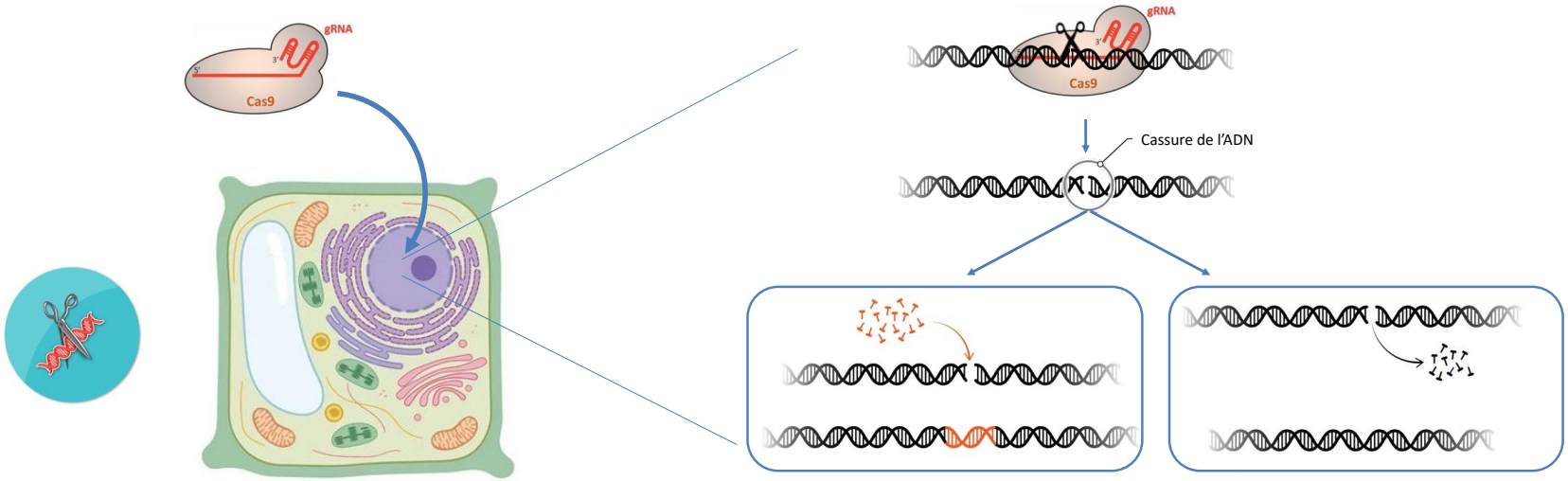


Adapted from Pennisi, Science, 2013)



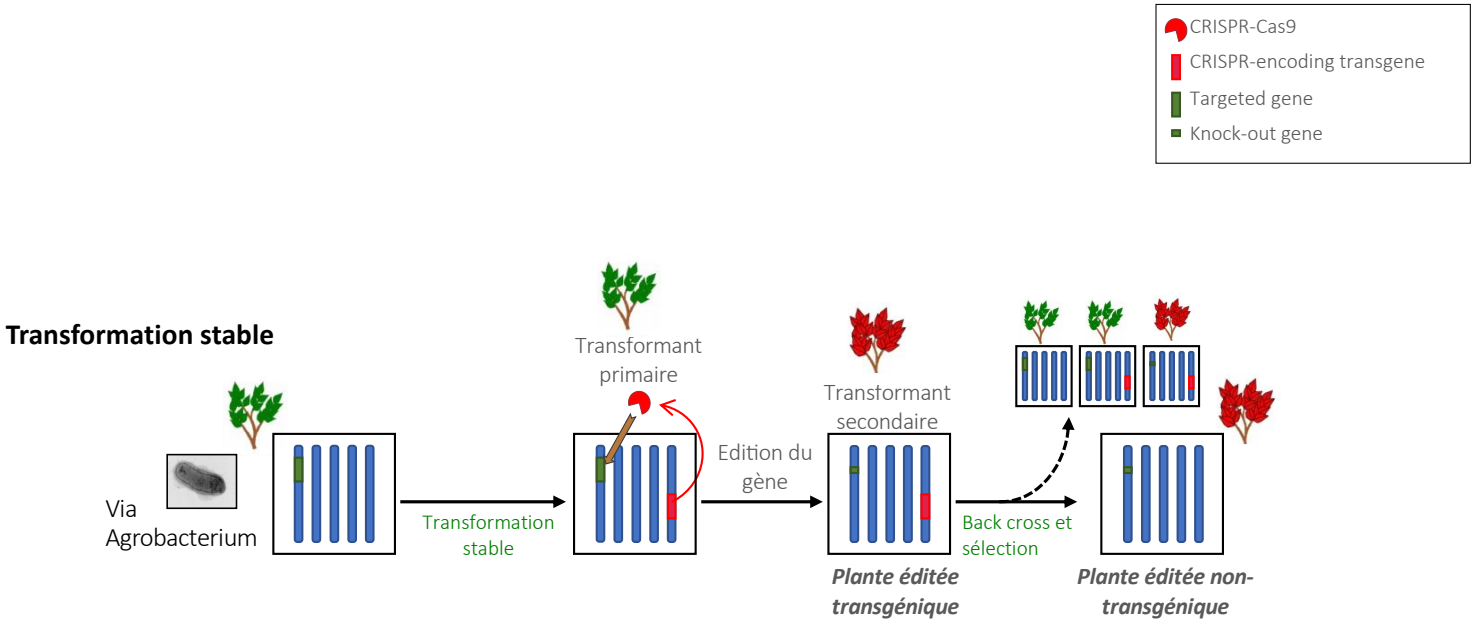
L’édition du génome pour l’amélioration des plantes

➢ CRISPR-Cas pour quoi faire ?



➢ Aujourd'hui l'édition du génome par CRISPR-Cas9 permet d'inactiver par mutation n'importe quel gène.

➢ CRISPR-Cas chez les plantes

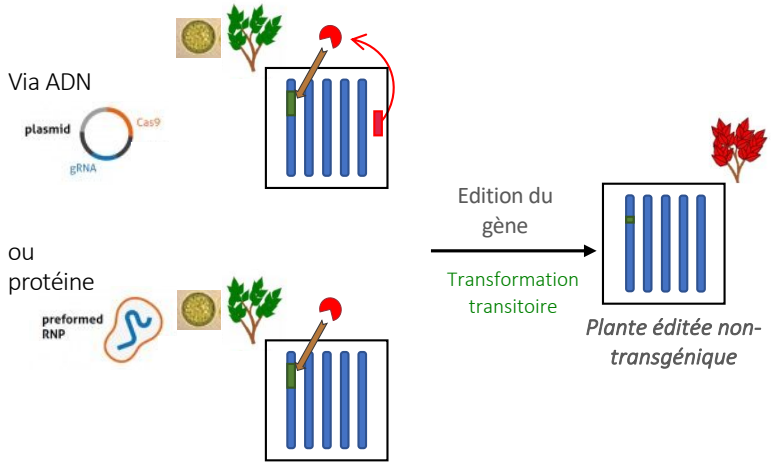


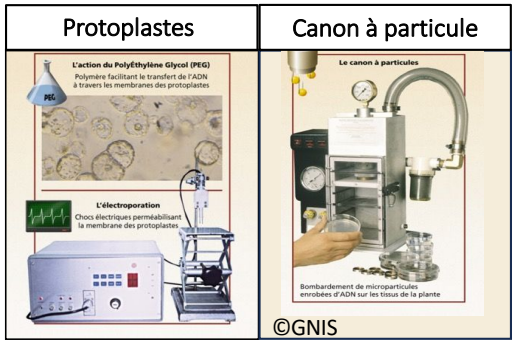
➢ La production de la plante « éditée » passe par une phase de transgénèse mais la plante finale peut être non-transgénique.

➢ CRISPR-Cas chez les plantes

- CRISPR-Cas9
- CRISPR-encoding transgene
- Targeted gene
- Knock-out gene

Transfection transitoire

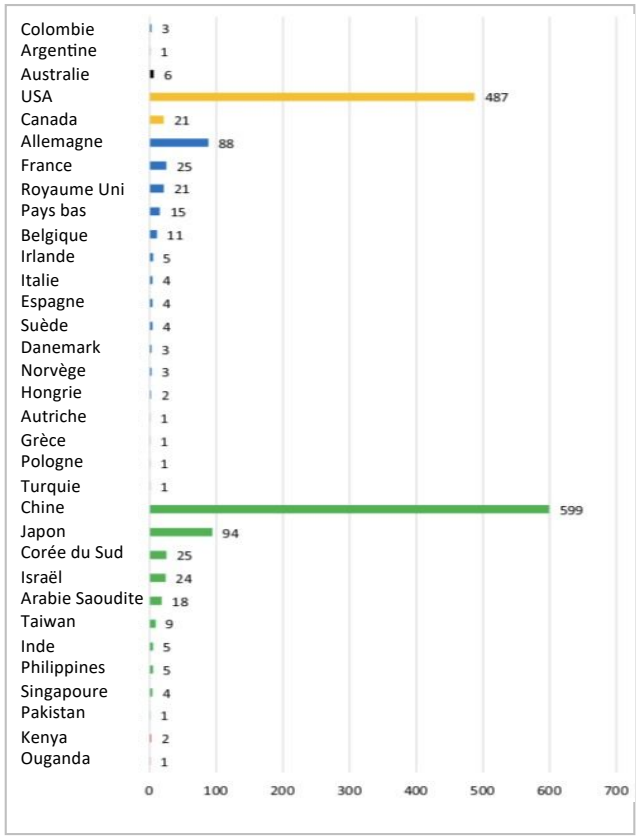




➢ La production de la plante “éditée” ne fait pas intervenir de transgénèse.

➢ CRISPR-Cas et amélioration des plantes

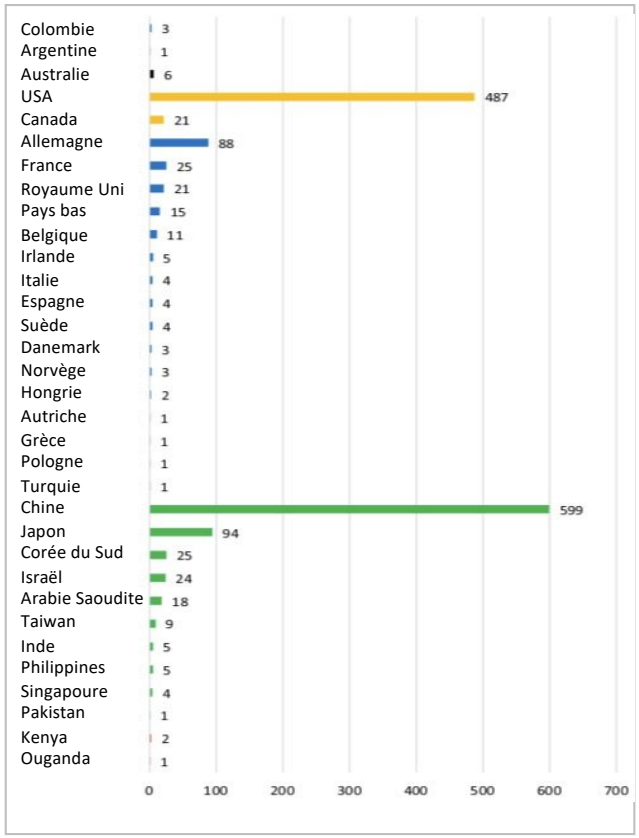
Articles publiés :



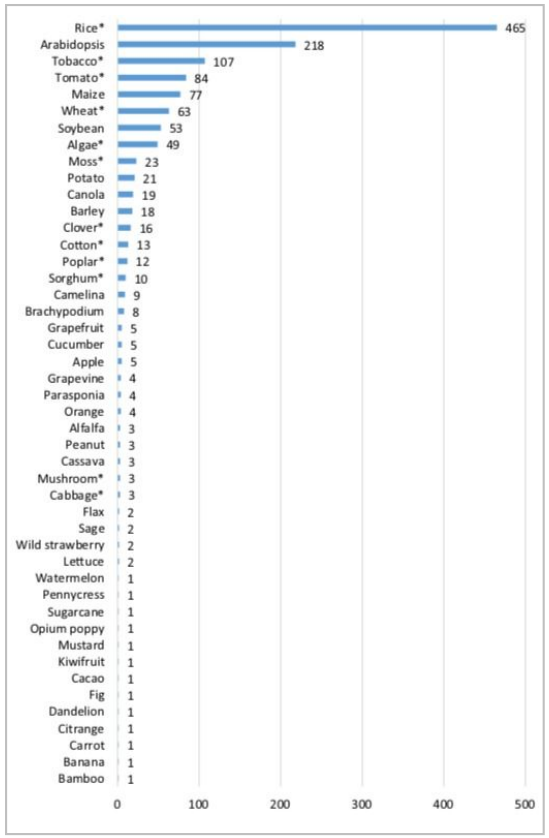
Adapted from Modrzejewski et al., 2019

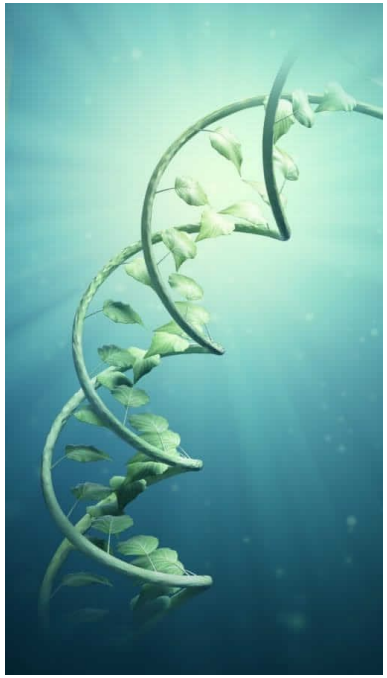
➢ CRISPR-Cas et amélioration des plantes

Articles publiés :



CRISPR-Cas sur quelles plantes :

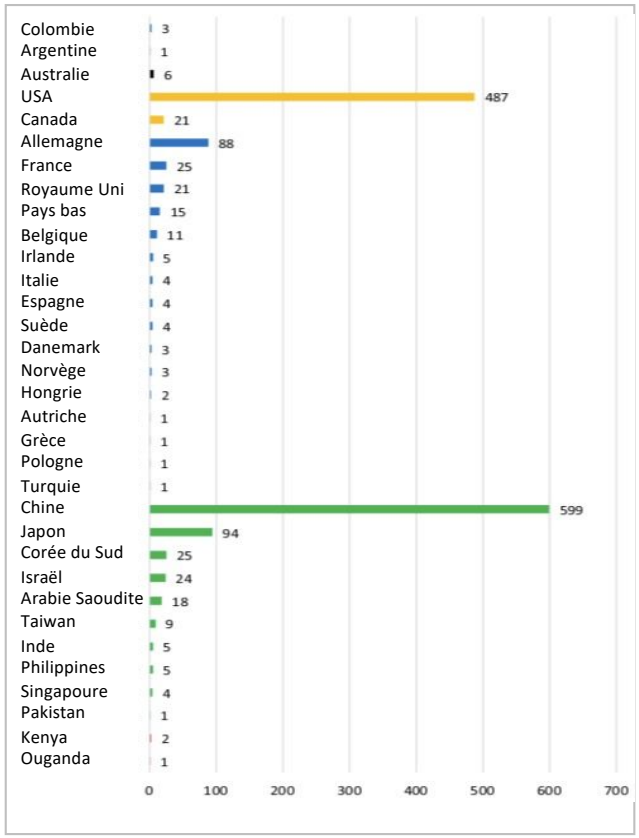




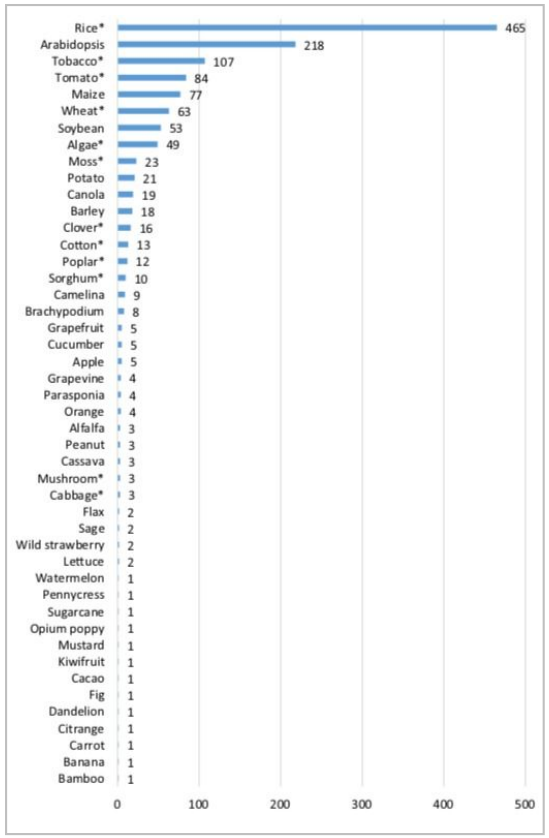
Adapted from Modrzejewski et al., 2019

➢ CRISPR-Cas et amélioration des plantes

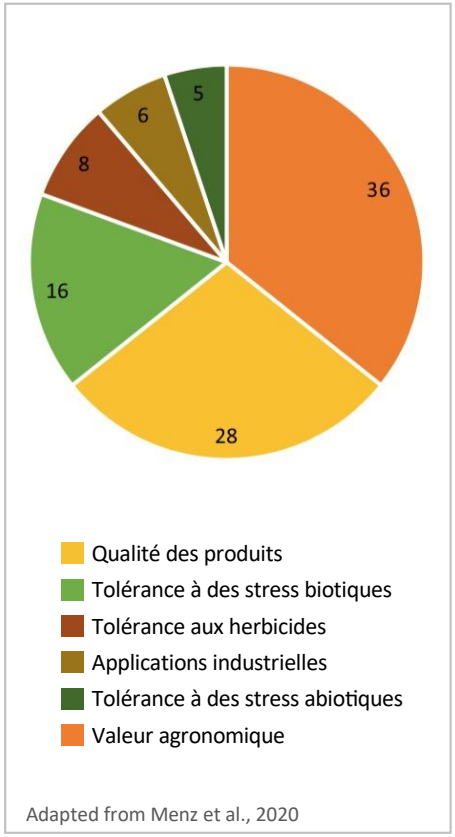
Articles publiés :



CRISPR-Cas sur quelles plantes :



CRISPR-Cas pour faire quoi :



Adapted from Modrzejewski et al., 2019

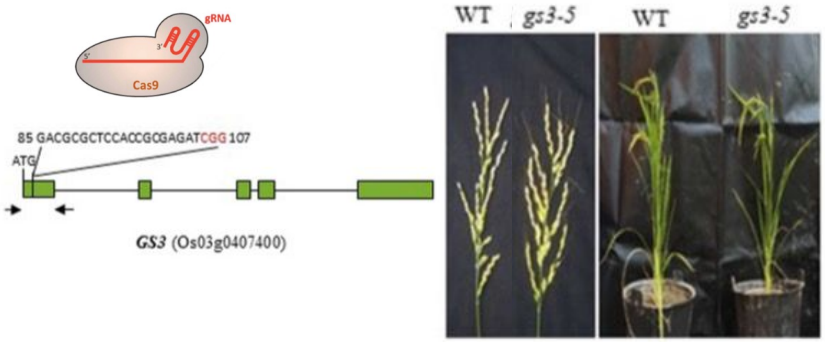
➢ CRISPR-Cas pour la valeur agronomique des variétés

- Identification dans la littérature de gènes impliqués dans la morphologie du grain de riz :

TABLE 1 | Details of the four genes modified in this research.

Gene	RAPDB_Locus	Molecular function	Traits	Reference
Gn1a	Os01g0197700	Cytokinin dehydrogenase2	Grain number per panicle	Ashikari et al., 2005
DEP1	Os09g0441900	γ subunit of G protein	Plant height Erect panicle Grain size	Huang et al., 2009; Taguchi-Shiobara et al., 2011; Sun et al., 2014
GS3	Os03g0407400	γ subunit of G protein	Seed size	Fan et al., 2006; Mao et al., 2010; Botella, 2012
IPA1	Os08g0509600	Squamosa promoter binding protein	Plant height and tiller number	Jiao et al., 2010; Miura et al., 2010

- Modification du gène GS3 par CRISPR-Cas9 :

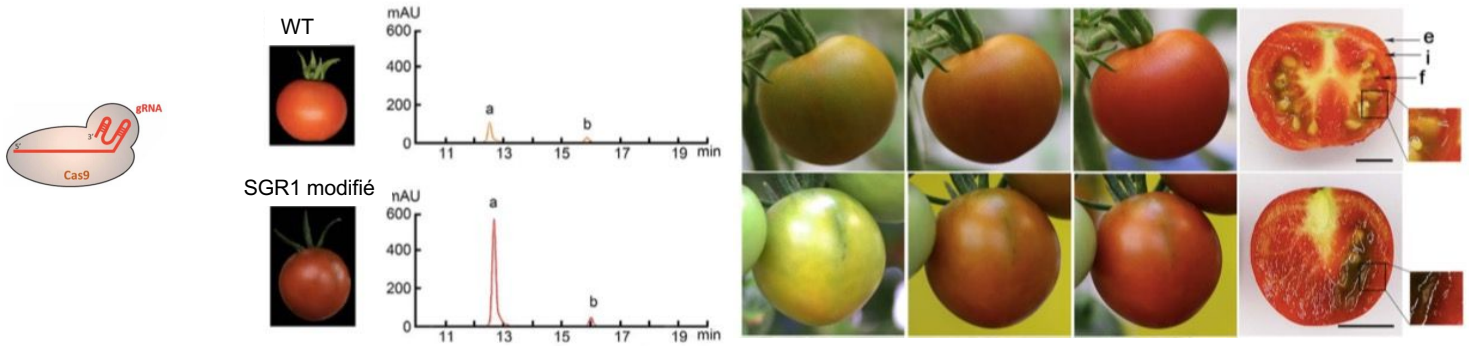


➢ Augmentation du poids du gain de 25,7 mg à 31 mg.

Adapté de Li et al., 2016

➢ CRISPR-Cas pour la qualité des produits

- Le lycopène contenu dans le pamplemousse (mais aussi dans d'autres fruits, dont la tomate) aurait un effet protecteur contre le cancer de la prostate.
- La consommation régulière d'aliments contenant du lycopène est associée à une réduction des risques de maladie cardio-vasculaire, du diabète, de l'ostéoporose.
- Le gène SGR1 est impliqué dans la synthèse de lycopène.



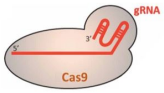
Adapté de Li et al., 2018

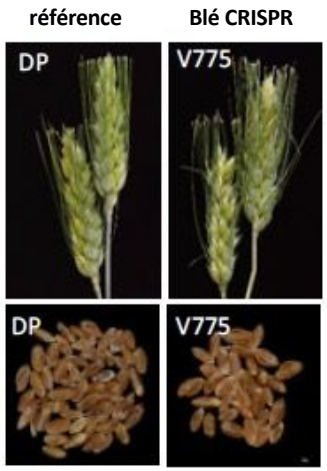
➢ Augmentation de la quantité de lycopène (5 X).

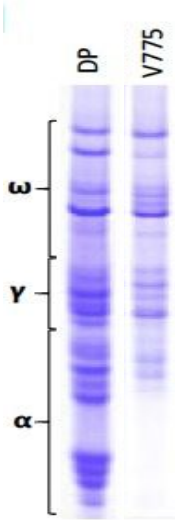
➢ CRISPR-Cas pour la qualité des produits

- La maladie cœliaque est une maladie auto-immune déclenchée par le gluten provenant du blé, de l'orge et du seigle.
- La famille des gènes (45) de l'α-gliadine du blé contient quatre peptides hautement stimulants.

- Modification de 35 gènes de manière concomitante.







Adapté de Sánchez-León et al., 2018

- ➢ L'immunoréactivité a été réduite de 85%.
- ➢ Première étape vers un blé « gluten free ».

Blé « faible gluten »

➢ CRISPR-Cas et agroécologie – Quels caractères ?

Les types de caractères modifiés par CRISPR :

• **Tolérance au stress abiotiques** : sécheresse, salinité...

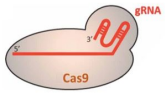
• **Résistance aux maladies, ravageurs ou agents pathogènes** : virus, champignons, bactéries.

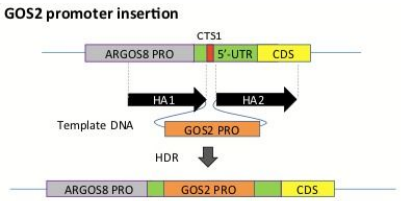
• **Amélioration du rendement ou de l'efficacité d'utilisation des ressources** : rendement accru, efficacité d'usage de l'eau…

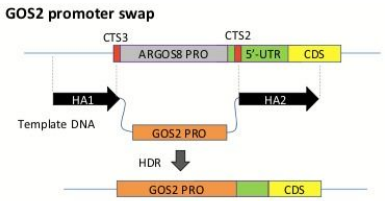
• **Caractères morphologiques ou architecturaux**, comme la taille des grains, la taille des plantes, la structure racinaire, floraison…

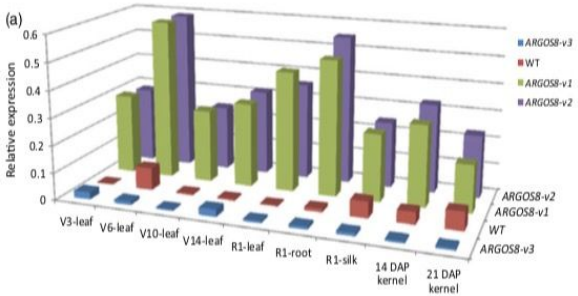
➢ CRISPR-Cas pour la résistance à la sécheresse

- Le gène du maïs ARGOS8 est un régulateur négatif des réponses à une hormone végétale, l'éthylène.
- Des plantes transgéniques surexprimant le gène ARGOS8 ont une sensibilité réduite à l'éthylène et un rendement en grain amélioré dans des conditions de stress hydrique.
- Le promoteur du gène ARGOS8 a été modifié.









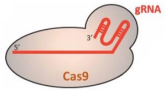
	Flowering Stress
	ton ha^{-1} (bushel acre^{-1})
ARGOS8-v1	8.67 (138.0)*
ARGOS8-v2	8.67 (138.0)*
WT	8.34 (132.8)

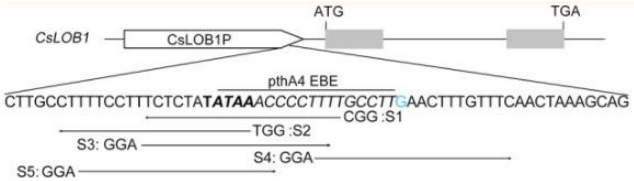
Adapté de Shi et al., 2017

➢ Meilleur rendement en grain en condition de stress hydrique.

➢ CRISPR-Cas pour la résistance à une bactérie

- Le gène CsLOB1 de l'oranger est impliqué dans la sensibilité au chancre bactérien dû à la bactérie *Xanthomonas citri*.





référence

Plante CRISPR S2

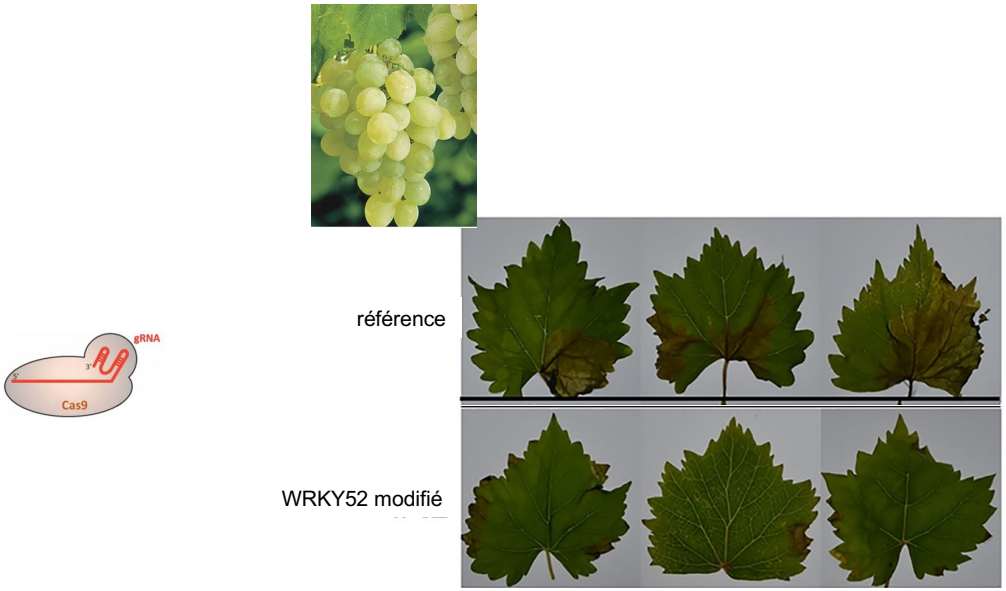
chancre bactérien des agrumes sur fruit

Adapté de Peng et al., 2017

➢ Diminution de la sensibilité à *Xanthomonas citri*

➢ CRISPR-Cas pour la résistance à un champignons

- Le gène VvWRKY52, de la famille des facteurs de transcription du raisin WRKY, joue un rôle dans les réponses aux stress biotique.



Pourriture grise due à *Botrytis cinerea*

Adapté de Wang et al., 2017

➢ Diminution de la sensibilité à *Botrytis cinerea*.

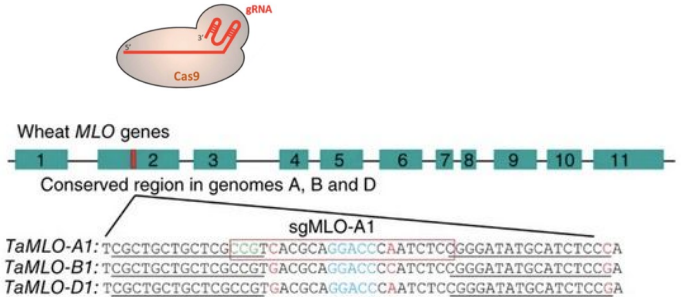
➢ Plus récemment diminution de la sensibilité au mildiou en modifiant le gène DMR6 (collaboration INRAE Versailles et Colmar)

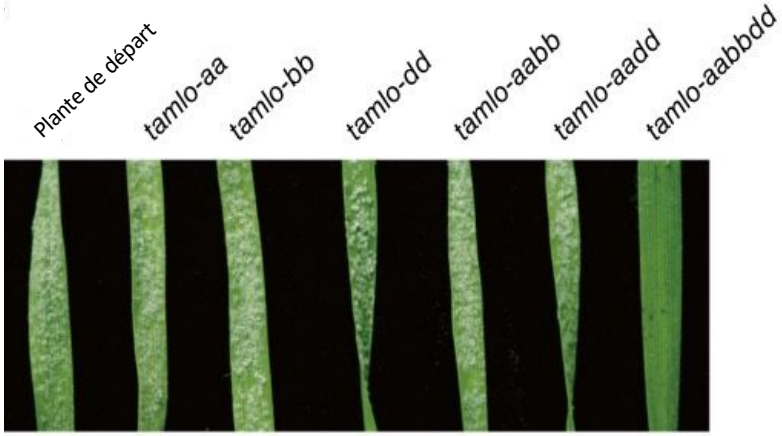
Djennane et al., 2023

➢ CRISPR-Cas pour la résistance à un champignons

- Le gène MLO (MILDEW RESISTANCE LOCUS) du blé est impliqué dans la résistance à l'oidium.

Pourriture blanche sur blé





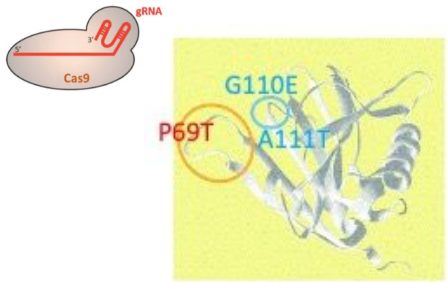
Wang et al., 2014

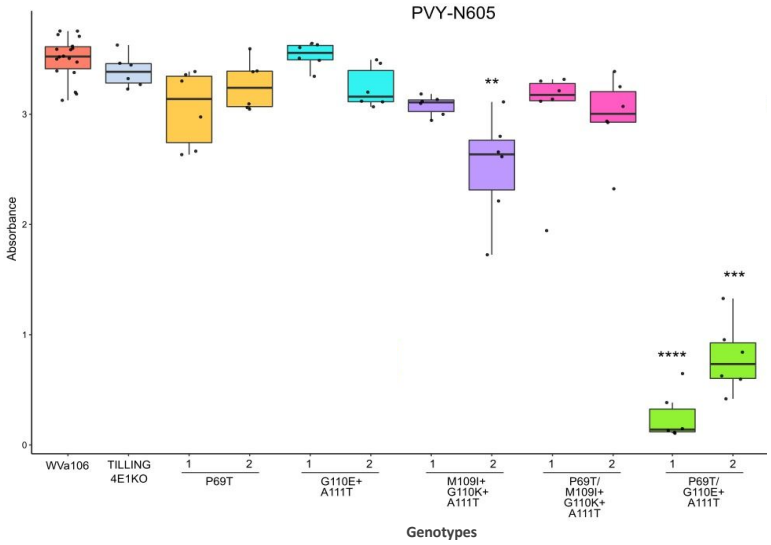
- ✓ Une mutation présente chez l'orge a été « mimée » chez le blé.
- ✓ Diminution de la sensibilité à la pourriture blanche (oïdium).
- ✓ Intérêt pour des espèces polyploïdes.

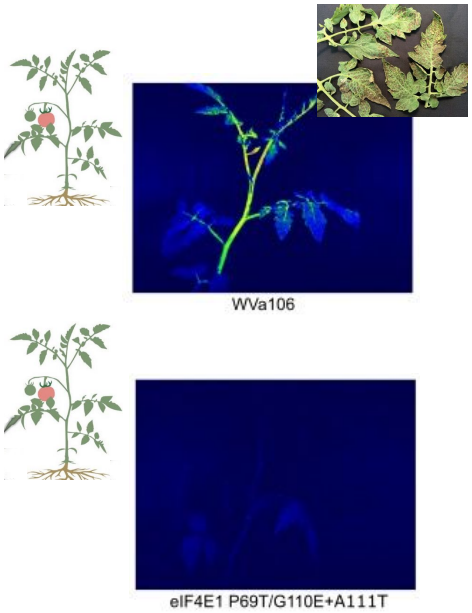
➢ CRISPR-Cas pour la résistance à un virus

- La protéine eiF4E est impliquée dans la résistance au potyvirus PVY d'une tomate sauvage.

Solanum habrochaites







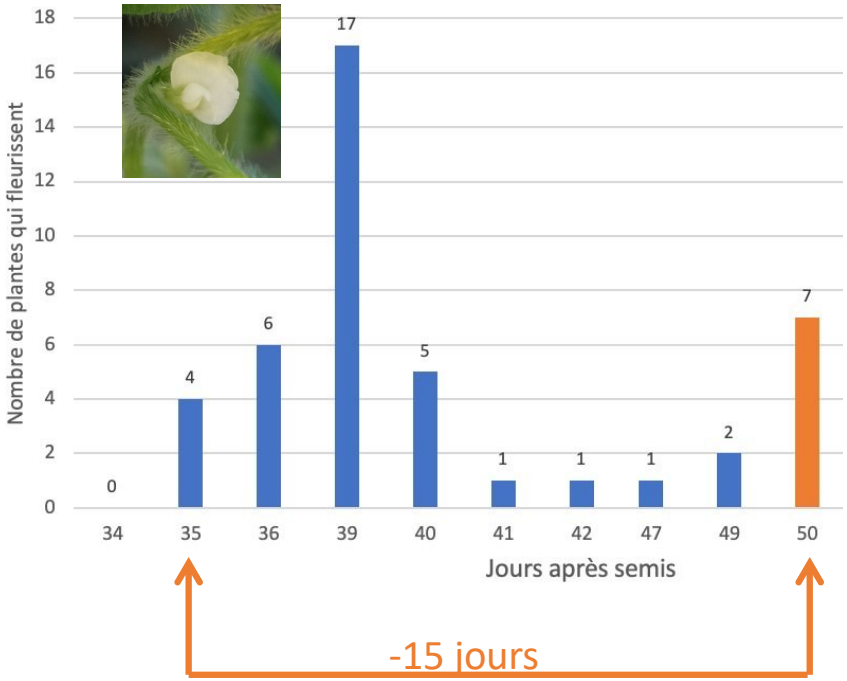
Kuroiwa et al., 2023

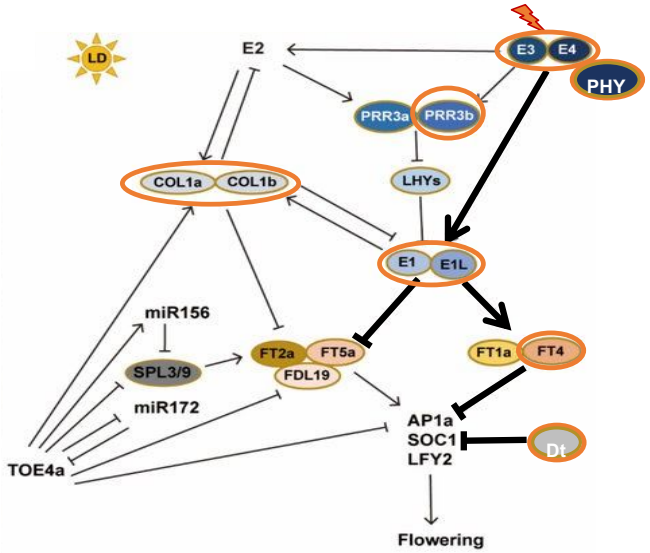
- ✓ Une mutation présente chez une tomate sauvage a été « mimée » chez une tomate cultivée.
- ✓ Diminution de la sensibilité au virus PVY.

(collaboration INRAE Versailles et Avignon)

➢ CRISPR-Cas pour la précocité de floraison

- Différentes protéines sont impliquées dans le contrôle de la floraison chez le soja.





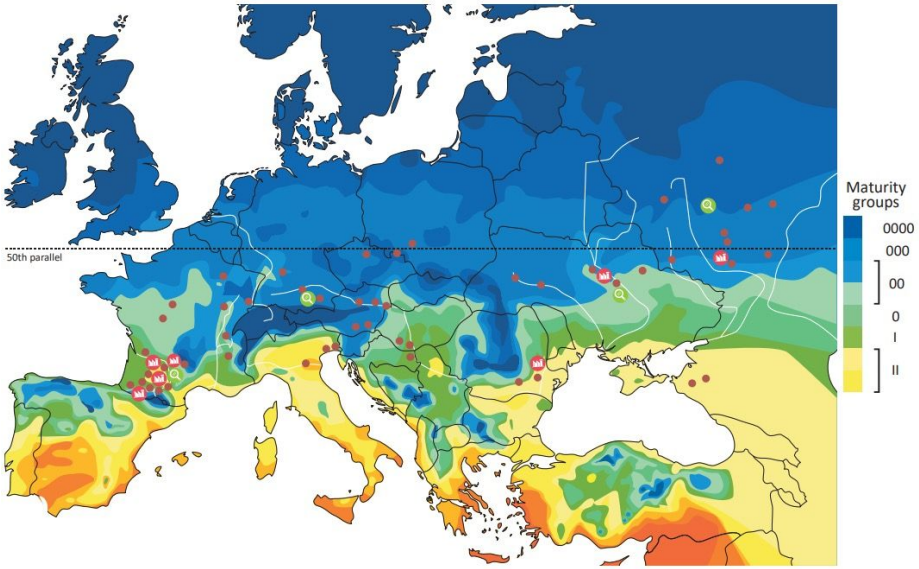
(collaboration INRAE Versailles et CORTEVA)

➢ CRISPR-Cas pour la précocité de floraison

- Possibilité d'utiliser le soja plus au nord de la France et/ou en interculture.

Soja CRISPR
Groupe de Maturité 0/00

Variété de départ
Groupe de Maturité 1



(collaboration INRAE Versailles et CORTEVA)

Les limites et enjeux des NGT

➢ Les limites des NGT

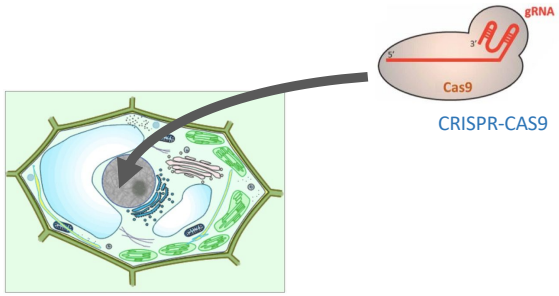
Différents facteurs limitent une application généralisée de l'édition du génome en amélioration des plantes.

- ✓ 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**.

- ✓ Aujourd'hui l'édition du génome par CRISPR-Cas9 permet **<u>d'inactiver par mutation</u>** n'importe quel gène dans le génome **<u>de certaines plantes</u>**.

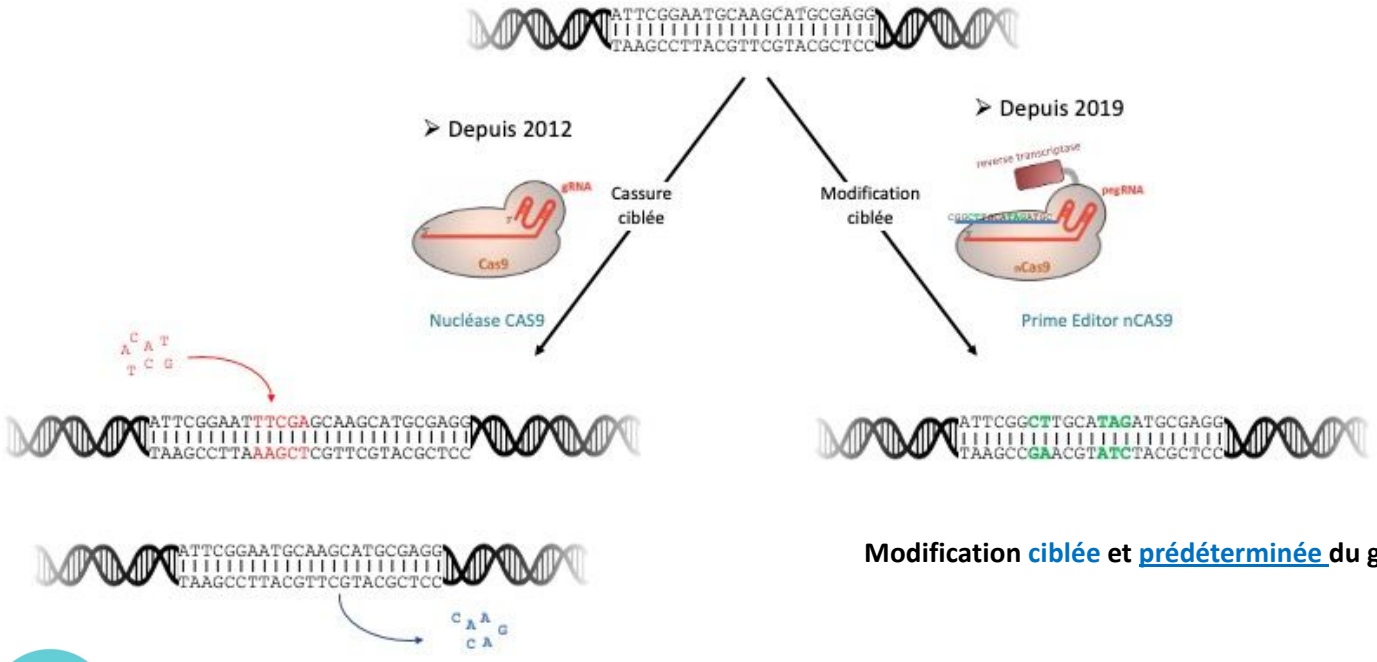
Plantes chez lesquelles CRISPR-Cas9 fonctionne en routine

tomate Blé Maïs Riz Peuplier



➢ Les enjeux des NGT

Premier enjeux : Pouvoir éditer de manière prédite n'importe quel gène.



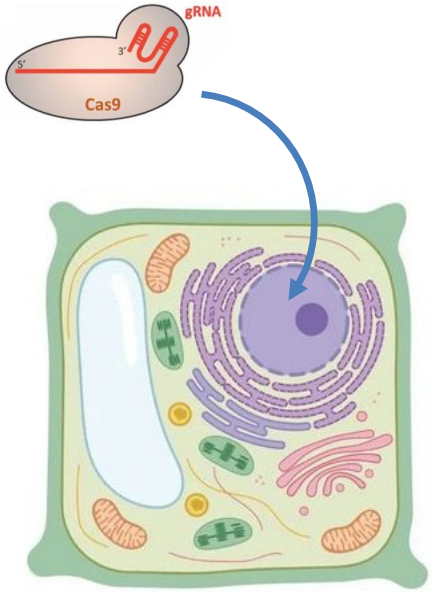
Modification ciblée et prédéterminée du gène

Modification ciblée mais aléatoire du gène

✓ Des progrès très rapides venant de la thérapie génique.

➢ Les enjeux des NGT

Deuxième enjeux : Pouvoir éditer le génome de n'importe quelle plantes.



L'entrée dans la cellule végétale du module CRISPR-Cas9 et/ou la régénération d'une plante entière sont les verrous à lever.

Pois Haricot Vigne Prunier

➢ NGT intérêts et limites

- ✓ Gain de précision
- ✓ Elargissement de la diversité génétique
- ✓ Possibilité de cumul de plusieurs mutations simultanément
- ✓ Gain de temps
- ✓ Concept du « safe by design »

- ✓ Connaissance des bases génétiques des caractères
- ✓ Certaines espèces encore non travaillées
- ✓ Les promesses des technologies émergentes
- ✓ Acceptabilité par les consommateurs
- ✓ Une régulation à mettre en place