

5. Clonage de semences... Premiers pas

Travaux réalisés par l'INRA de Versailles-Grignon, en collaboration avec des chercheurs américains et indiens, février 2011

5.1 Les enjeux en agronomie

semences hybrides :

- cumulent avantages de leurs parents
ex un maïs hybride donnera + de grains comme son père et résistera à un virus λ comme sa mère
- vigueur hybride : rendement en moyenne supérieur de 20%
- Pb: obtention difficile pour certaines plantes qui s'autofécondent: (blé , pois, riz...)
- Couteuses puisque ressemer des graines \Rightarrow réduction de productibilité
En effet: loi mendélienne de ségrégation des caractères

\Rightarrow Recherche depuis les années 80 d'un autre système

5.2 L'apomixie

- L'apomixie ou reproduction clonale par graines est un mode de reproduction particulier observé chez + de 400 espèces de plantes sauvages.
- Les descendants sont génétiquement identiques à la plante mère.

Obtention par modification de 2 étapes de la reproduction sexuée :

- formation de gamètes contenant la totalité de l'information génétique maternelle au lieu de la moitié ($2n$ chromosomes au lieu de n)
- initiation de l'embryogénèse sans pollinisation (c'est-à-dire sans apport de l'information génétique paternelle).

Objectif: Reproduire par apomixie de nouvelles variétés élit

- leur descendance conserverait leurs caractéristiques
- et pourrait être reproduite et distribuée à l'infini

5.3 Etat d'avancement des recherches

2000: impasse : fautes de résultats recherches abandonnées

Nouvel espoir : par
mutation dirigée

L'équipe de l'INRA a
identifié 3 gènes
responsables de la
reproduction sexuée



But: Transformation
d'une reproduction
sexuée en asexuée



Création d'une
lignée MiMe :
réalisant une
Mitose au lieu
d'une Méiose en ne
modifiant que 3
gènes!



Mais c'est tj une
plante sexuée



Croisement avec une
lignée GEM :
dt les chromosomes ont
tendance à être éliminés
leur d'un croisement

modification d'un gène

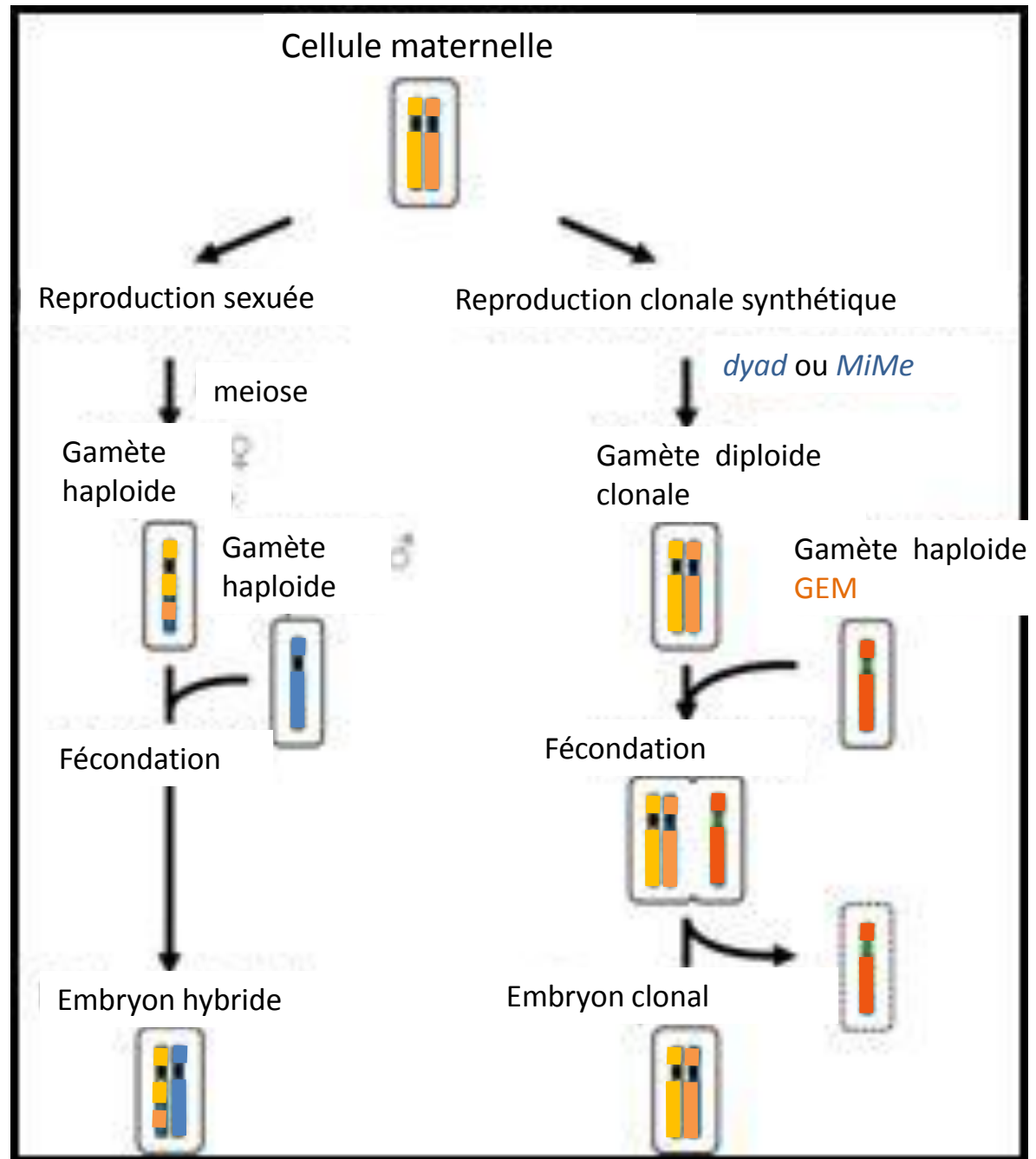
lignée MiMe x

lignée GEM :



Graine clonale

Fiche 15 : Principe de la reproduction clonale par apomixie



Les étapes chez Arabidopsis:

- mutants *MiMe* ou *dyad* : gamètes à $2n$ chromosomes

⇒ descendance avec un doublement du nombre de chromosomes

($4n$ au lieu de $2n$)

- mutant *GEM* : chromosomes de *GEM* ont tendance à être éliminés lors d'un croisement. Ainsi, lorsque *GEM* est utilisé en croisement comme parent mâle, une partie des descendants ne possède que des chromosomes maternels, et lorsque *GEM* est utilisé comme parent femelle, une partie des descendants n'ont que des chromosomes paternels

production de graines clonales, parfaitement identiques à leur mère ou à leur père

Exemple 1^{ère} génération :

MiMe comme plante femelle x *GEM*
comme plante mâle

⇒ 34% sont des clones de leur mère

MiMe comme père x *GEM* comme mère

⇒ 42% sont des clones de leur père

2^{ème} génération

Un clone *MiMe* maternel x *GEM* ⇒ 24% sont des clones de leur mère et de leur grand-mère ⇒ la propagation clonale par graines est possible sur plusieurs générations.

L'arabette n'est qu'une plante modèle

Ms ce sont des résultats encourageants: l'apomixie est théoriquement possible par modification de 4 gènes



Par mutagenèse grâce à des agents chimiques ou des radiations ioniques mais ces méthodes ne st pas précises



Par transgénèse ?

Acceptabilité auprès du public européen ?

6. Génie génétique et éthique

6.1 Etude de l'ADN dans le cas d'une maladie héréditaire

Applications de la technologie de l'ADN recombinant excitantes....

Accepteriez vous de savoir si vous êtes porteur d'un gène qui vous conduira à une mort prématurée?

Oui, et vivre pleinement sa vie... non ne pas connaître sa destinée...

Si cela était obligatoire, prendriez vous une assurance vie???

Au UK les compagnies d'assurance n'ont pas le droit de connaître les résultats du test de la maladie d'Huntington (dégénération du cerveau, maladie fatale, frappe à la quarantaine...)

Beaucoup de débats, les compagnies d'assurance pourraient imposer des tarifs différents en fonction de l'espérance de vie...

Coté +++ :

✓ test des différents gènes impliqués dans le métabolisme des médicaments
(réaction néfaste aux médicaments = 4^{ième} cause de mortalité aux EU)

✓ analyse de l'ADN d'un fœtus peut informer les parents si leur enfant est atteint d'une maladie héréditaire

PCR au stade 8 cellules de l'embryon, si test – alors implantation dans l'utérus de la mère

✓ dans le futur, corriger les anomalies génétiques avant ou après la naissance en remplaçant le gène muté par une copie normale... nombreuses questions éthiques...

6.2 Les plantes génétiquement modifiées peuvent-elles aider à nourrir le monde???



Valeur des produits agricoles OGM ?

Domage sur l'environnement ? Plantes insecticides, résistante à un herbicide...

Produits agricoles meilleurs sur le plan nutritionnel ? ... le riz

- élément de base mais dépourvu de nutriments vitaux
- 800 millions d'enfants souffrent de déficit en vitamine A \Rightarrow cécité+faiblesse système immunitaire

Modification de l'endosperme de riz pour produire de la provitamine A (bêta carotène)

- 4 gènes introduits dans l'endosperme codant pour le bêta carotène
 - 3 gènes du narcisse des prés
 - 1 gène de la bactérie Erwinia

24% population mondiale est déficitaire en fer

- riz modifié avec le gène de ferritine, protéine de fixation du fer
- riz corrige le déficit en fer sur animaux de labo

Objectif :

souches enrichies en
provitamine A et en fer

X

souches d'intérêt
agronomiques



Produit agricole résistant
et de bonne qualité sur le
plan nutritionnel

Le riz jaune offre l'occasion d'améliorer la santé de milliards de gens....

6.3 Les OGMs en France... Les Peupliers de l'INRA, rescapés de la recherche publique les Echos janvier 2008

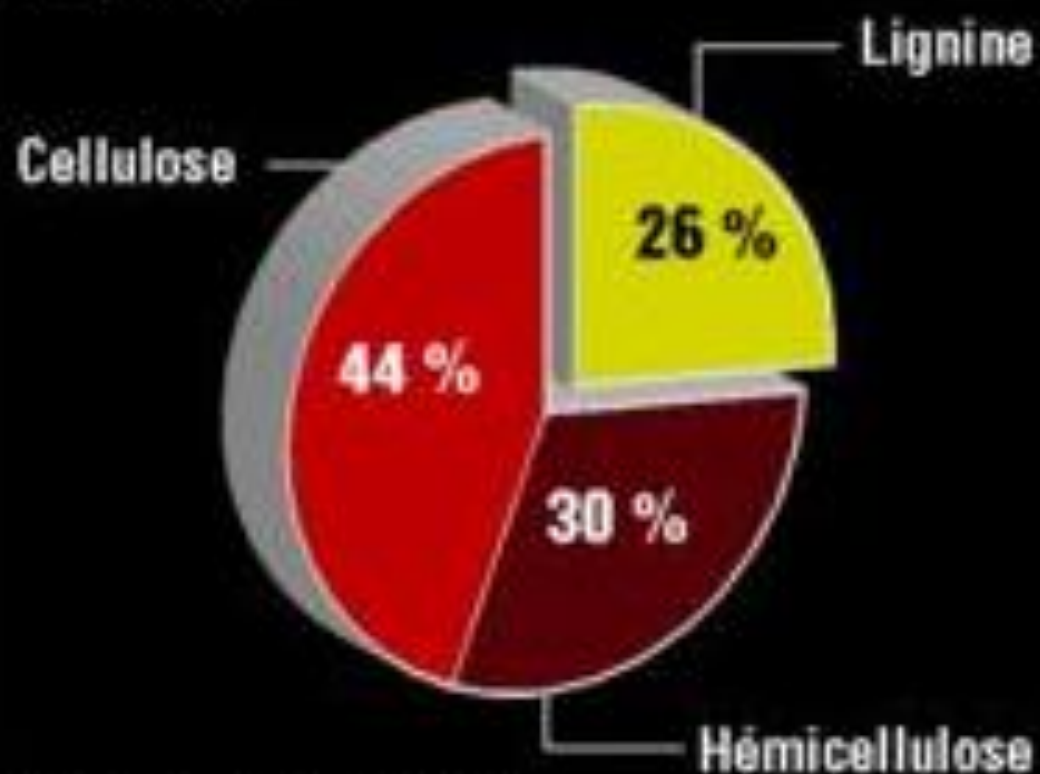
Objectif: diminuer le taux de lignine dans le bois: Ce composé représente de 15 à 36 % du bois et sa rigidité .

Il lui assure trois fonctions:

- soutient mécaniquement l'arbre,
- rend étanche ses conduits
- dissuade de nombreux prédateurs.



Composition conventionnelle du bois



idé / Source : «Les Echos» /
Photos : INRA / Gilles Pilate, Bloomberg

Choix du peuplier:

- pousse très vite et fournit un rendement maximal de production de biomasse sur des rotations de 5 à 7ans.
- les cultures *in vitro* et les essais sont rapides
- son génome reste de taille modeste, car 40.000 gènes, presque 50 fois plus petit que le génome du pin

Gènes d'intérêt:

gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des lignines

Résultats:

dernière lignée la plus avancée joue sur 4 transgènes.

- 40 lignées testées: chacune d'une teneur en lignine et en cellulose différente.
- Vérification à chaque fois si ces modifications n'affectent pas le développement de l'arbre ex: obtention d'une lignée comportant 50 % de lignine en moins, mais elle ne poussait pas. La lignée actuelle offre de 10 à 20 % de réduction, tout en conservant de bonnes caractéristiques

« La transgénèse nous a permis de repérer la quinzaine de gènes impliqués dans cette synthèse. Il faut bien comprendre que cette manipulation génétique ne sert qu'à cette étape. Nous n'utilisons que des gènes d'intérêt provenant d'autres peupliers. La production des plantes pourra donc se faire, à terme, par voie naturelle », assure Gilles Plate

Ce travail a porté ses fruits scientifiquement, mais devrait rester sans suite industrielle:

- *Il n'y a aucune demande* », les papetiers sont aujourd'hui obnubilés par les eucalyptus, espèce phare des pays du Sud.

faible taux de
lignine



production des biocarburants de
seconde génération

- La lignine est la partie la plus difficile à traiter pour produire de l'éthanol. La première génération de bioéthanol s'est affranchie de cet écueil en utilisant de la biomasse facile à faire fermenter, de la cellulose essentiellement (grains de céréales). Pour augmenter les sources de biomasse, la prochaine génération devra utiliser les tiges et le bois des végétaux.

COMMUNICATION...

Jusqu'ici, leurs expérimentations ont évité les foudres des faucheurs.

Les transgènes ne viennent pas d'une bactérie ou d'un autre espace, mais d'autres variétés de peupliers. Comme pour la vigne OGM de Colmar, les chercheurs ont aussi multiplié les précautions dans le protocole expérimental

- ☐ Les individus plantés sont d'abord des femelles, elles ne peuvent disséminer de pollen
- ☐ Par sûreté, les fleurs des arbres sont systématiquement supprimées.
- ☐ Le risque de drageonnage, la repousse de tiges par la racine, est évité par une surveillance régulière des alentours des troncs.



6.4 Les OGMs en France... Scandales des tumeurs sur des rats ayant mangés de maïs Mon 810 Université de Caen, septembre 2012



Des tumeurs grosses comme des balles de ping-pong...

Equipe du professeur de biologie moléculaire et chercheur à l'Institut de biologie fondamentale et appliquée de l'université de Caen, Gilles-Eric Séralini

- Les faits:

200 rats divisés en
sous-groupe de 10
individus

pendant 24 mois
(la durée moyenne de vie de
l'animal)

- régime alimentaire
contenant 11 %, 22 % ou 33
% de maïs transgénique
NK603 (Monsanto), résistant
au Roundup

- Maïs traité ou non par
l'herbicide

- 3 groupes de rats ont été
abreués par une eau
contaminée par l'herbicide

Gilles-Eric Séralini explique : « *Les dosages de maïs OGM sont comparables à ce que mangent en une vie les populations du continent américain. (...) Nous exposons trois groupes de rats à trois dosages de Roundup différents. La dose la moins forte correspond celle qu'on peut retrouver dans l'eau du robinet en Bretagne pendant la période d'épandage. La dose moyenne correspond à la dose résiduelle dans les aliments considérée comme acceptable pour l'homme aux Etats-Unis. La dose la plus forte enfin, correspond à ce qu'un agriculteur peut absorber quand il fait un épandage sans précaution. Nous sommes dans des situations qui correspondent vraiment à la réalité environnementale et aux risques émergents* ». Par ailleurs sur le site du Criei-gen, son équipe note : "Nous avons étudiés 200 rats, 10 rats / groupe" ce qui est conforme aux recommandations de l'OCDE.

•Hécatombe

« Les résultats révèlent des mortalités plus rapides et plus fortes au cours de la consommation de chacun des deux produits, avec des effets hormonaux non linéaires et reliés au sexe. Les femelles développent des tumeurs mammaires importantes et en grand nombre et des perturbations hypophysaires et rénales, et les mâles présentent des atteintes hépato-rénales chroniques sévères ».

« Le premier rat mâle nourri aux OGM meurt un an avant le premier témoin. La première femelle huit mois avant. Au 17ème mois, on observe cinq fois plus de mâles nourris avec 11 % de maïs OGM, morts ».

« A la dose la plus faible de Rondup (...) on observe 2,5 fois plus de tumeurs mammaires ».

« Au début du vingt-quatrième mois, c'est-à-dire à la fin de leur vie, de 50 % à 80 % des femelles nourries aux OGM sont touchées, contre seulement 30 % chez les non-OGM. Et surtout, les tumeurs surviennent nettement plus vite chez les rats OGM : vingt mois plus tôt chez les mâles, trois mois plus tôt chez les femelles ».

« Nous avons 48 % de paramètres rénaux parmi tous les paramètres mesurés, or 76 % des perturbés sont des marqueurs d'activité rénale ! ».

- Biais ?

de nombreux éléments d'appréciation font défaut, comme le remarque cité dans le Figaro le toxicologue Gérard Pascal. « *Il manque des données chiffrées sur les tumeurs et les analyses biochimiques, mais aussi sur le régime alimentaire et l'historique de la souche de rats utilisée* ».

des américains soulignent que les règles d'analyses statistiques ne sont pas respectées

Monsanto rappelle qu'il se plie à toutes les analyses demandées par les différentes organisations et qu'aucune n'a laissé apparaître de tels résultats

indépendance de l'équipe? comment ne pas s'interroger sur l'influence du parti pris affiché clairement et de tout temps par le professeur Séralini ?

= Raz de marée médiatique qui va générer de nouvelles analyses demandées par le gouvernement français