

Quels sont les outils de l'amélioration des plantes ? Les outils modernes

Fiche **QUESTIONS SUR...** n° 01.04.Q23

novembre 2022

Mots clés : édition génomique - mutagenèse dirigée - transgénèse - marqueur moléculaire - sélection assistée marqueur - sélection génomique

La [fiche 01.04.Q22](#) présente les outils de base, traditionnels, de l'amélioration des plantes. L'évolution des connaissances en génétique et en biologie moléculaire a conduit à la mise au point de nouvelles techniques permettant de modifier de façon précise un gène ou d'insérer un gène en un site donné du génome. De plus, l'étude de la structure des génomes nucléaires, par séquençage, a conduit à la mise au point de différents types de marqueurs moléculaires des gènes. Ces nouveaux outils permettent de développer une sélection de plus en plus dirigée.

La mutagenèse dirigée par l'édition d'allèles

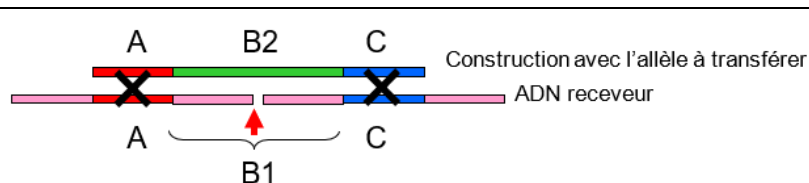
Dans les années 2010, une mutagenèse dirigée a été mise au point chez les bactéries ; elle n'affecte qu'un site du génome déterminé à l'avance. Le résultat est celui d'une mutation ponctuelle ; on parle d'édition d'allèles. Ce progrès est dû à la découverte d'enzymes (nucléases) qui, associées à un ARN guide, reconnaissent une séquence donnée de bases de la chaîne d'ADN et coupent la chaîne au niveau de cette séquence (comme avec le Système CrispR-cas9). Les mécanismes naturels de réparation de l'ADN vont recoller les deux bouts de la chaîne d'ADN, mais cette réparation se fait souvent avec une perte de quelques bases pouvant aboutir à une mutation par une perte de fonction. Cette technique ne demandant pas des effectifs de plantes importants, elle est d'un coût assez faible.

Aujourd'hui, de nouvelles techniques permettent des modifications encore plus dirigées au niveau des bases de l'ADN ; on parle d'édition base à base. Cependant, en Europe, l'ensemble de ces techniques est assimilé à la transgénèse, aussi la commercialisation des plantes obtenues, considérées comme OGM, risque d'être interdite.

La modification et le transfert dirigé d'allèles par l'édition d'allèles

En utilisant les enzymes (nucléases) qui peuvent couper la chaîne d'ADN en un point précis, il est aussi possible de remplacer une séquence donnée de la chaîne d'ADN, voire toute la séquence correspondant à un allèle, par une autre séquence homologue. Dans les pays qui l'autorisent, cette technique est appelée à se substituer aux programmes de rétrocroisements qui ont pour but de remplacer un allèle par un autre allèle ([fiche 01.04.Q22](#)). Elle permet de supprimer l'entraînement de gènes non désirables liés au gène transféré : seul le gène désiré est introduit. Elle présente en particulier un grand intérêt chez les plantes pérennes (arbres fruitiers) où elle fera gagner un temps considérable dans le transfert d'un allèle. Ainsi, chez le pommier le transfert d'un allèle de résistance à la tavelure (maladie grave du pommier) peut se réaliser en moins de 5 ans

Figure 1 : Principe du remplacement dirigé d'un allèle ou d'une séquence d'ADN par un(e) autre, homologue à l'édition d'allèles. Une enzyme est "programmée" pour couper l'ADN double brin en un point donné, au milieu d'un gène par exemple. L'allèle ou la séquence homologue à transférer doit être encadré(e) par des séquences identiques



à celles qui bordent l'allèle ou la séquence B1 à remplacer (séquences A et C). La recombinaison se produit dans ces zones et la séquence B2 est insérée. Les fragments inutiles, situés de part et d'autre du point de coupure, sont éliminés par les nucléases.

alors que, par la voie classique du rétrocroisement, il faut plus de 20 à 25 ans (le parasite a le temps de contourner la résistance), et avec un résultat non complètement satisfaisant¹.

Le transfert de gènes d'une espèce à l'autre : la transgénèse

Le transfert de gènes d'une espèce à une autre, même apparentée, peut être difficile par voie sexuée ([fiche 01.04.Q22](#)). La transgénèse apporte une solution à ce transfert. La transgénèse² peut être définie de façon assez large comme l'introduction d'un nouveau gène dans le patrimoine génétique d'un organisme par des procédés ne faisant pas appel à la voie sexuée. Elle exploite le fait que tous les êtres vivants, de la bactérie à l'éléphant, ont le même équipement pour passer des gènes aux protéines. Schématiquement, on peut dire qu'un gène d'une bactérie peut s'exprimer chez l'éléphant, et réciproquement, un gène d'éléphant chez la bactérie.

Les gènes introduits peuvent être issus de la même espèce, ou d'espèces très éloignées, voire de genres et de règnes différents, mais le plus souvent il s'agit d'une véritable construction, avec une séquence qui contrôle le moment et le lieu d'expression du gène, le gène lui-même (la séquence codante) et une séquence de fin de lecture, chacun de ces éléments pouvant provenir d'une espèce différente. Cela peut donc apporter une variabilité génétique totalement nouvelle au sélectionneur, comme la résistance à certains insectes.

La transformation est réalisée *in vitro*, soit indirectement par l'intermédiaire d'une bactérie, soit directement par biolistique.

- Par l'intermédiaire d'une bactérie, on utilise *Agrobacterium tumefaciens*, qui dans la nature réalise une transgénèse provoquant la galle du collet chez différentes espèces végétales. Cette bactérie a en effet la propriété d'insérer un segment de son ADN (ADN-T contenant plusieurs gènes) dans l'ADN de la cellule végétale pour lui faire produire les substrats dont elle a besoin. Pour utiliser cette bactérie, on remplace l'ADN-T par le gène à transférer, puis en co-cultivant des fragments de la plante (organes, cellules) avec la bactérie, celle-ci va intégrer le gène dans le génome de cellules de la plante qui pourront régénérer une plante transgénique.

- Par la technique de biolistique, des micro-billes de tungstène ou d'or enrobées d'ADN (gène à transférer) sont projetées à grande vitesse sur des cellules de la plante à modifier. Certaines particules pénètrent dans le noyau et, à la suite des ruptures de la chaîne d'ADN, le gène pourra être inséré au cours de la réparation de l'ADN.

Avec ces techniques, l'insertion du transgène se fait plus ou moins au hasard dans le génome. Aujourd'hui par l'utilisation des enzymes qui peuvent couper la chaîne d'ADN en un point donné, il est possible de diriger l'insertion du transgène. La méthode est la même que celle utilisée pour le remplacement d'un allèle par un autre mais ici on ajoute un nouveau gène au génome du receveur.

Pour le sélectionneur, l'avantage de la technique de transgénèse est d'apporter une nouvelle source de variabilité génétique. En supprimant les barrières d'espèces, elle élargit le champ des ressources génétiques et permet, par exemple, d'introduire des gènes de résistance aux maladies ou aux insectes, chez des espèces où aucun gène de résistance facile à utiliser n'était connu (par exemple la résistance à la pyrale chez le maïs). Le quasi-blocage des variétés OGM en Europe fait que la sélection et l'agriculture européennes ne peuvent pas bénéficier des apports de cette technique.

Des outils pour accélérer la sélection et mieux utiliser la variabilité génétique : le marquage moléculaire et la sélection génomique

La découverte des marqueurs moléculaires du génome remonte aux années 1985-90. De façon simple, un marqueur moléculaire du génome peut être défini comme une "étiquette" correspondant à une séquence de bases de l'ADN, qui permet donc de repérer très précisément un site du génome. C'est l'équivalent d'un locus (un emplacement sur la chaîne d'ADN), qui présente plusieurs allèles (liés par exemple à la variation du nombre de répétitions de certaines bases, présence/absence d'une base...) ; un marqueur ségrége donc comme

¹ Il faut toutefois utiliser en plus un gène qui permet une mise à fleur rapide du pommier, gène qui sera éliminé lorsque le transfert aura été réussi.

² Nous écrivons transgénèse et non transgenèse, car il s'agit du transfert de gènes et non de transgression de barrières de la genèse. Cette écriture a été validée par l'Académie des sciences.

[page 2](#) Fiche consultable sur le site internet www.academie-agriculture.fr onglet "**Publications**" puis "**Table des matières des documents de l'Encyclopédie**".

un gène. Si cette étiquette est suffisamment proche d'un locus d'intérêt, elle peut renseigner sur le génotype à ce locus.

L'étude des liaisons entre marqueurs : la cartographie génétique

C'est par l'étude des liaisons entre gènes que la théorie chromosomique de l'hérédité a pu être confirmée par Morgan et ses collaborateurs de façon précise en 1915. Avec les marqueurs moléculaires, en procédant de la même façon, l'étude de la ségrégation simultanée des allèles à différents locus marqueurs va permettre de dire si les locus marqueurs sont plus ou moins proches les uns des autres. On arrive ainsi à ordonner tous les marqueurs qui sont liés entre eux : ils forment un groupe de liaison. Si le marquage est suffisamment dense, alors, le nombre de groupes de liaisons correspond au nombre de chromosomes. Cette cartographie des liaisons entre marqueurs constitue ce que l'on appelle la carte génétique basée sur le taux de recombinaison entre locus.

La détection et la cartographie de gènes à effets quantitatifs

La cartographie génétique des marqueurs moléculaires permet de rechercher des gènes difficiles à détecter dans les ségrégations, en particulier les gènes impliqués dans la variation d'un caractère quantitatif (QTL pour *Quantitative Trait Loci*). Le principe est de détecter les liaisons pouvant exister entre différents marqueurs et le phénotype du caractère étudié. Ces liaisons peuvent être étudiées sur des descendance F₂ ou tout autre type de descendance en ségrégation où la liaison ne peut correspondre qu'à une liaison physique (par exemple, un ensemble de lignées dérivées d'un hybride F₁) en comparant les moyennes des différents génotypes pour chaque locus marqueur³. La précision de l'estimation de cette liaison étant insuffisante pour identifier un gène en cause, on identifie en fait une zone chromosomique appelée QTL. On peut donc faire, pour un croisement donné, une cartographie des zones du génome impliquées dans la variation du caractère quantitatif étudié. Pour chaque zone, il y a un fragment venant d'un parent et un autre fragment allèle venant de l'autre parent : l'un est favorable, l'autre est défavorable. Ces fragments allèles sont identifiés par les marqueurs, avec plusieurs marqueurs pour un segment. Le sélectionneur peut donc transférer les segments favorables d'un génotype à un autre.

Le transfert d'allèles assisté par marqueurs

Au niveau du rétrocroisement (voir [fiche 01.04.Q22](#)), le fait d'avoir un gène marqué (c'est-à-dire très lié à un marqueur) permet d'identifier directement les génotypes porteurs de ce gène. Pour conduire le rétrocroisement assisté par marqueurs moléculaires, il faut aussi des marqueurs assez proches du gène à transférer (de chaque côté), ce qui permet de contrôler la longueur du fragment chromosomique transféré avec le gène. Un autre ensemble de marqueurs est nécessaire pour accélérer le retour vers le parent récurrent. Pour cela, il faut des marqueurs régulièrement répartis sur le reste du génome, au moins de l'ordre de 4 par chromosome, non porteurs du gène transféré. Une stratégie proche de la stratégie optimale demande trois rétrocroisements. Par rapport à la voie conventionnelle qui demande au moins cinq générations, il y a donc un gain de deux générations de rétrocroisement.

La sélection assistée par marqueurs pour des caractères quantitatifs

Le but de la sélection assistée par marqueurs est de réunir dans un même génotype le maximum de segments chromosomiques (QTL) favorables par plusieurs cycles de sélection suivie de croisement.

La sélection sur marqueurs seuls après détection de QTL

Au cours d'une première étape, par l'étude des liaisons entre les marqueurs et les caractères quantitatifs sélectionnés, il est possible d'identifier les marqueurs liés aux QTL de ces caractères et de sélectionner les meilleurs génotypes qui sont intercroisés. La sélection sur marqueurs seuls peut alors commencer. À une génération quelconque de sélection sur marqueurs seuls, la valeur d'un individu candidat à la sélection est calculée à partir des marqueurs "favorables" (liés aux segments favorables) présents. Les plantes sélectionnées sont alors croisées entre elles, et un nouveau cycle de sélection sur marqueurs seuls peut recommencer. L'avantage de la sélection sur marqueurs seuls est que, après la détection des segments chromosomiques impliqués dans la variation du caractère, elle ne nécessite pas d'évaluation phénotypique :

³Dans une F₂, si pour un marqueur donné il y a une différence entre les moyennes des génotypes au marqueur (M1M1, M1M2, M2M2) alors c'est que le marqueur est lié à un locus impliqué dans la variation du caractère quantitatif (QTL). Cela revient à une étude des liaisons entre le phénotype et le génotype aux marqueurs.
[page 3](#) Fiche consultable sur le site internet www.academie-agriculture.fr onglet "**Publications**" puis "**Table des matières des documents de l'Encyclopédie**".

la sélection portant seulement sur les marqueurs, elle peut être conduite en générations accélérées pendant trois ou quatre générations. Ainsi, pour une plante annuelle, la durée d'un cycle peut être divisée par plus de 3 par rapport à des cycles de sélection sur descendances de trois ans.

La sélection génomique

L'inconvénient des méthodes de sélection assistée par marqueurs basées sur la détection de QTL est qu'elles ne permettent pas de prendre en considération les gènes à faibles effets ou trop éloignés d'un marqueur. Avec l'évolution des techniques et la forte diminution du coût du marquage moléculaire, il est possible aujourd'hui d'avoir un marquage très dense du génome de telle sorte que tout gène a de fortes chances d'être très lié à un marqueur. Avec un tel marquage, grâce à un traitement particulier de l'information, on peut mieux prévoir la vraie valeur génétique d'un caractère complexe influencé par le milieu : le marquage très dense du génome fait que tout gène, même à effet très faible non détectable, peut contribuer aux valeurs génétiques prédites. Une autre forme de sélection sur marqueurs peut alors être envisagée, non limitée aux marqueurs liés significativement à la valeur phénotypique : la sélection génomique.

Dans cette démarche, pour un caractère quantitatif, la valeur génétique de chaque plante candidate à la sélection est calculée à partir de l'étude de la liaison statistique entre la valeur phénotypique et l'ensemble des marqueurs du génome⁴. En fait, les équations de prédiction de la valeur génétique sont établies sur une population de référence, proche de la population d'amélioration. Ces équations peuvent être ensuite utilisées pendant trois ou quatre cycles de sélection sur marqueurs seuls, réalisés sans évaluation phénotypique, donc très rapides. Un seul cycle de sélection génomique peut pratiquement être aussi efficace qu'un cycle de sélection phénotypique, mais en un temps nettement plus court, d'où un progrès génétique plus élevé par unité de temps.

André GALLAIS, membre de l'Académie d'Agriculture de France

Ce qu'il faut retenir :

Avec le développement du marquage moléculaire, la sélection pour les caractères complexes subit une profonde transformation. Depuis le début du XX^e siècle, le sélectionneur ne faisait essentiellement appel qu'aux outils de la sélection "phénotypique" avec croisement, autofécondation, et évaluation au champ. Aujourd'hui, avec la sélection assistée par marqueurs et la sélection génomique, la sélection devient de plus en plus basée sur le génotype. La valeur des génotypes tend en effet à être appréciée sur la base des gènes qu'ils portent et les réassociations de gènes non-allèles sont de plus en plus "dirigées" par le choix des génotypes à croiser et l'identification des recombinaisons favorables dans les descendants. Les techniques d'édition du génome renforcent encore cette évolution. C'est donc une ère nouvelle qui s'ouvre pour l'amélioration des plantes.

Pour en savoir plus :

- André GALLAIS : *Méthodes de création de variétés en amélioration des plantes*. Ed Quae, 2011, 278 p.
- André GALLAIS : *Pour comprendre l'amélioration des plantes. Enjeux, méthodes, objectifs et critères de sélection*. Ed Quae, 2015, 240 p.
- André GALLAIS : *Histoire de la génétique et de l'amélioration des plantes*. Ed Quae, 2018, 287 p.

⁴ Mais le grand nombre de marqueurs, toujours supérieur au nombre de plantes disponibles pour ces études, rend le problème difficile à résoudre du point de vue statistique, d'où l'utilisation de méthodes statistiques particulières qui ne sont pas évoquées ici. [page 4](#) Fiche consultable sur le site internet www.academie-agriculture.fr onglet "**Publications**" puis "**Table des matières des documents de l'Encyclopédie**".