



HAL
open science

État des connaissances sur la contribution des technologies d'édition du génome à l'amélioration des plantes pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique

Carole Caranta, Mathilde Causse, Fabien Nogué, Annabelle Déjardin, Emilie Gentilini, Philippe Debaeke, Laurent Hazard, Sophie Le Perchec, Stéphane Lemarié, Guy Richard, et al.

► To cite this version:

Carole Caranta, Mathilde Causse, Fabien Nogué, Annabelle Déjardin, Emilie Gentilini, et al.. État des connaissances sur la contribution des technologies d'édition du génome à l'amélioration des plantes pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique. INRAE. 2022. hal-03943821

HAL Id: hal-03943821

<https://hal.inrae.fr/hal-03943821>

Submitted on 23 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



INRAE



État des connaissances sur la **contribution des technologies d'édition du génome à l'amélioration des plantes** pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique



État des connaissances sur la contribution des technologies d'édition du génome à l'amélioration des plantes pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique

Cette étude, basée sur une analyse de la bibliographie du domaine, a été réalisée par un groupe de chercheurs de différents départements de recherche d'INRAE appuyé par des documentalistes de la Direction pour la Science Ouverte d'INRAE. Son contenu n'engage que la responsabilité de leurs auteurs.

Le groupe a été animé par Carole Caranta et Guy Richard.

Liste des auteurs : Carole CARANTA, Mathilde CAUSSE, Philippe DEBAEKE, Annabelle DEJARDIN, Émilie GENTILINI, Laurent HAZARD, Sophie LE PERCHEC, Stéphane LEMARIE, Fabien NOGUE, Guy RICHARD, Peter ROGOWSKY, Marie-Violaine TATRY

Pour citer ce document :

Caranta, C., Causse, M., Debaeke, P., Dejardin, A., Gentilini, E., Hazard, L., Le Perchec, S. Lemarié, S., Nogue, F., Richard, G., Rogowsky, P., Tatry, M.V. 2022.
Etat des connaissances sur la contribution des techniques d'édition du génome à l'amélioration des plantes pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique.
<https://dx.doi.org/10.17180/0hcx-tn70>



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.


Décembre 2022

Introduction.....	7
Chapitre 1	
La diversité génétique au cœur de l'amélioration des plantes.....	8
♦ La diversité génétique.....	8
♦ Conservation de la diversité génétique : Les ressources génétiques.....	8
♦ Les mutations, sources de diversité génétique.....	9
♦ Les périodes et approches de l'amélioration des plantes.....	10
Chapitre 2	
L'édition du génome pour l'amélioration des plantes.....	13
♦ Principes de l'édition du génome.....	13
♦ Intérêt de l'édition du génome pour l'amélioration des plantes.....	14
♦ Prérequis technologiques nécessaires à l'utilisation de l'édition du génome pour l'amélioration des plantes.....	16
Chapitre 3	
Analyse de la bibliographie : quels acteurs, quelles espèces et quels caractères?.....	17
♦ Méthodologie.....	17
♦ Dynamique des publications scientifiques.....	18
♦ Pays publiant dans le domaine.....	18
♦ Les espèces végétales concernées par les travaux d'édition du génome.....	19
♦ Caractères ciblés par l'édition du génome.....	21
♦ L'édition du génome en tant qu'outil pour les processus d'amélioration des plantes.....	23
Chapitre 4	
Amélioration des plantes, édition du génome, transition agroécologique et adaptation au changement climatique.....	25
♦ Les besoins pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique.....	25
♦ La capacité des méthodes de sélection des plantes à répondre aux besoins de la transition agroécologique et de l'adaptation au changement climatique.....	27
Chapitre 5	
Enjeux économiques.....	28
♦ Structuration de l'offre d'innovations liées aux technologies d'édition du génome.....	28
♦ La réglementation sur les innovations issues des technologies d'édition du génome.....	30
♦ Les impacts économiques des innovations issues des technologies d'édition du génome.....	31

Chapitre 6	
Controverses et perception sociale.....	32
♦ Garantir la biosécurité et la liberté de choix.....	32
♦ Un public méfiant à l'égard de l'ingénierie génomique.....	33
♦ Une controverse polarisée et politisée.....	33
♦ L'éthique et la responsabilité en recherche.....	34
♦ L'édition du génome au service de quelle(s) agriculture(s)?.....	35
Conclusion	
Synthèse et suites à donner.....	36
♦ Principe.....	36
♦ Intérêts.....	36
♦ Limites.....	37
♦ Intérêts pour la transition agroécologique et pour l'adaptation au changement climatique.....	37
♦ Les controverses.....	38
♦ Les suites.....	38
Liste des références bibliographiques.....	41
Annexe 1: Méthodologie de constitution et d'analyse du corpus bibliographique.....	48
Annexe 2: Différentes formes d'agriculture se rapprochant de l'agroécologie sans être basées en priorité sur l'utilisation des interactions entre organismes vivants.....	52
Annexe 3: Exemples de « nouvelles » cibles de sélection répondant aux besoins de la transition agroécologique.....	53
Annexe 3: Lexique.....	54



Introduction

Répondre aux grands enjeux climatiques et de transition agroécologique des systèmes de production agricole nécessite de mobiliser une diversité de leviers au sein de différents modèles d'agriculture qui coexistent et concourent à améliorer la durabilité des systèmes agricoles et alimentaires. En tant que premier maillon de la chaîne de valeur agricole et alimentaire, les semences et plants, au travers de la sélection et de la création variétale, se positionnent comme un levier majeur pour impulser et accompagner ces changements (Gouleau *et al.*, 2021).

Dans ce contexte, l'avènement des technologies d'édition du génome (*Cf.* lexique en annexe 4), et tout particulièrement du système CRISPR-Cas, constitue non seulement un outil puissant au service de la recherche mais aussi une nouvelle opportunité dans la palette des outils pour l'amélioration des plantes. Comme toutes les révolutions technoscientifiques et particulièrement celles touchant au vivant, il est indispensable d'en analyser les apports potentiels, les promesses, les limites, les usages, les risques, les enjeux socio-économiques et les controverses associées.

Les rapports récents abordant ces sujets sont nombreux. Citons le rapport de l'OPECST « Les nouvelles techniques de sélection végétale en 2021 : avantages, limites, acceptabilité »¹, le rapport de l'EFSA² sur l'évaluation des risques des plantes développées grâce aux nouvelles techniques génomiques, et le rapport sur les « Nouvelles techniques d'édition du génome et évaluation des variétés » issu d'une saisine du Comité scientifique du CTPS par la Direction Générale de l'Alimentation du ministère en charge de l'Agriculture. Le cadre réglementaire d'utilisation de ces technologies constitue également un sujet d'actualité avec (i) le rapport de la Commission Européenne d'avril 2021 qui ouvre la voie à une évolution de la législation encadrant ces technologies, rapport demandé par le conseil européen suite à l'arrêt du 25 juillet 2018 de la Cour de Justice de l'Union européenne (CJUE) statuant que les produits issus de ces technologies devaient être soumis à la réglementation relative aux organismes génétiquement modifiés (OGM) et (ii) une situation réglementaire contrastée entre l'Europe et certains autres pays (par ex. USA, Chine, Inde, Royaume-Uni).

Sur la base d'une analyse de la bibliographie, cette étude propose un bilan des connaissances scientifiques sur la technologie d'édition du génome à partir d'une approche pluridisciplinaire associant les sciences biologiques, agronomiques, économiques et sociales. Un focus particulier est mis sur la technologie dans le contexte des différentes approches de l'amélioration des plantes et sur les apports et les limites que pourraient présenter les variétés et semences issus de ces technologies pour contribuer à répondre à l'enjeu de la transition agroécologique et à l'adaptation au changement climatique.

Après une mise en contexte avec des rappels sur la diversité génétique et l'édition du génome pour l'amélioration des plantes, l'étude détaille les recherches en cours et les preuves de concept apportées en s'appuyant sur une analyse bibliographique. Dans un deuxième temps l'impact économique, la réglementation, l'éthique et les controverses autour de cette technologie sont évoqués. Le sujet des risques n'est pas abordé et le lecteur pourra se référer au rapport récent de l'EFSA. La conclusion tentera de dresser un bilan factuel des contributions possibles de l'édition du génome à de nouvelles formes d'agriculture, notamment agroécologique, et des conditions à remplir pour engager un dialogue avec l'ensemble des parties prenantes.

¹. Procaccia, C.; Prud'homme, L., 2021. *Les nouvelles techniques de sélection végétale en 2021 : avantages, limites, acceptabilité*. Paris : Sénat, Les rapports du Sénat, n°671, 144 p. <http://www.senat.fr/rap/r20-671/r20-6711.pdf>

². Paraskevopoulos, K.; Federici, S.; European Food Safety Authority, 2021. Overview of EFSA and European national authorities' scientific opinions on the risk assessment of plants developed through New Genomic Techniques. *Efsa Journal*, 19 (4): 43. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6314>

Chapitre 1

La diversité génétique au cœur de l'amélioration des plantes

◊ La diversité génétique

La diversité génétique est un élément clé de l'évolution des espèces et de l'amélioration des plantes. Elle est définie comme la variation de caractéristiques hérissables (c'est-à-dire transmises des parents à leurs descendants) au sein d'une population ou d'une espèce, que les caractéristiques soient observées au niveau morphologique, physiologique, biochimique ou génomique. L'apparition de mutations spontanées (Cf. lexique en annexe 4) au niveau des génomes est un des mécanismes permettant de créer naturellement de la diversité génétique. Elles sont héritées de façon mendélienne. D'autres mécanismes permettent d'augmenter la diversité génétique, notamment la méiose, l'hybridation, la polyploïdisation ou le transfert horizontal de gènes (Cf. lexique en annexe 4).

Les mutations peuvent être des mutations ponctuelles (changement d'un nucléotide dans la séquence ADN), de courtes insertions ou délétions (Cf. lexique en annexe 4) de quelques nucléotides, de plus larges remaniements conduisant à des variations du nombre de copies de gènes ou des remaniements chromosomiques (inversions, translocations). D'autres modifications, appelées épimutations, basées sur la méthylation de l'ADN ou sur des états différents de la chromatine, peuvent également modifier l'expression de certains gènes. Ces modifications peuvent être conservées lors des divisions cellulaires nécessaires au développement de la plante. Dans certains cas, les épimutations sont héritées sur quelques générations, mais, contrairement aux mutations classiques, elles sont le plus souvent perdues dans les générations suivantes.

L'analyse de la diversité génétique a porté en premier lieu sur des caractères visibles (couleur, taille, forme...), puis sur des variants biochimiques (isozymes) et, depuis les années 1990, sur la variation de l'ADN et sur l'exploration de grands nombres de polymorphismes (SNP pour «Single Nucleotide Polymorphism»), voire de l'ensemble des polymorphismes d'un individu grâce au séquençage complet des génomes. Ces analyses relèvent de la génétique des populations et ont recours à un ensemble de méthodes statistiques qui permettent d'explorer l'organisation de la diversité génétique au sein des espèces. Il est ainsi possible de comprendre l'évolution des espèces et des populations, de retracer l'histoire de la domestication ou encore d'identifier des régions génomiques ou des gènes soumis à sélection naturelle. La génétique quantitative vise à explorer les bases de l'hérédité de caractères impactés non seulement par la génétique mais aussi par l'environnement au sens large, par la cartographie de QTL («Quantitative Trait Loci», loci à effets quantitatifs) ou par des approches de génétique d'association, en vue de l'identification des gènes responsables des QTL ou de leur utilisation dans les programmes d'amélioration des plantes.

◊ Conservation de la diversité génétique: les ressources génétiques

La domestication des espèces puis la sélection génétique ont augmenté la diversité morphologique mais fréquemment réduit la diversité moléculaire des espèces cultivées lorsqu'on les compare à leur plus proche espèce apparentée. Cela résulte d'une sélection unidirectionnelle qui a fixé un nombre limité de gènes favorables ou d'une sélection qui a été réalisée à partir d'un nombre d'individus limité (Tanksley et McCouch,

1997). Le goulot d'étranglement dû à la domestication, qui dans certains cas n'a retenu que quelques individus, varie suivant les espèces : par exemple, le maïs a gardé 83 % de la diversité génétique de son ancêtre sauvage, alors que ce taux est de 64 % pour le soja et de 38 % pour la tomate (Gaut *et al.*, 2015). Ce taux est moins important pour les espèces pérennes que pour les espèces annuelles. Toutefois l'introgression de gènes (notamment des gènes de résistance à des maladies, mais aussi d'adaptation à différents environnements), par croisements avec des espèces plus distantes, a pu réintroduire de la variabilité génétique. Depuis une quarantaine d'années, on évalue la diversité génétique disponible pour les espèces cultivées dans les compartiments cultivés et sauvages, et on s'attache à sa caractérisation et à sa conservation. La diversité génétique des espèces cultivées est conservée soit dans de larges collections regroupant plusieurs centaines de milliers de génotypes de plantes ayant été cultivés ou leurs espèces sauvages apparentées, soit en conditions naturelles. Par exemple, l'infrastructure AgroBRC RARe (<https://www.agrobrc-rare.org>), inscrite sur la feuille de route nationale des infrastructures de recherche rassemble plus de 220 000 variétés végétales au sein du réseau des Centres de Ressources Biologiques des établissements français de recherche et d'enseignement supérieur.

◊ Les mutations, sources de diversité génétique

Les mutations spontanées

Ces mutations apparaissent spontanément, de façon naturelle, et contribuent à la diversité génétique au sein de chaque espèce. Elles peuvent être de différentes natures : mutation synonyme ou non, délétion ou insertion (Cf. lexique en annexe 4). La fréquence de mutations spontanées est relativement constante entre les différents organismes, de l'ordre d'une mutation tous les 100 millions de paires de bases à chaque génération (Ossowski *et al.*, 2010). En conséquence, le nombre de mutations spontanées entre générations est proportionnel à la taille du génome de chaque espèce. Ainsi, le nombre de mutations spontanées prédit est en moyenne de 13 mutations par génération chez la tomate et de 238 mutations par génération chez le blé (Fig. 1). A l'échelle d'une espèce, et suite à la sélection, l'étendue de la diversité nucléotidique peut varier fortement : deux variétés de maïs diffèrent plus entre elles du point de vue de leur diversité nucléotidique que l'humain et le chimpanzé, par exemple. Les mutations spontanées sont provoquées par des facteurs internes à la plante, liés à la division cellulaire (erreurs de copie de l'ADN) ou au métabolisme cellulaire (effets des dérivés réactifs de l'oxygène), et par des facteurs externes comme des irradiations (UV, radiations cosmiques), des stress chimiques, physiques ou biologiques (attaques parasitaires).

Les mutations induites

Depuis 1950, des agents mutagènes chimiques (méthanesulfonate d'éthyle-EMS, azoture de sodium) ou physiques (rayons gamma, rayons X, UV-C, *fast neutron*) ont été utilisés pour générer des mutations aléatoires en plus grand nombre qu'en conditions naturelles, dont certaines peuvent avoir un effet sur le phénotype et présenter un intérêt agronomique. Ces agents peuvent être appliqués sur des graines ou des organes de plantes (mutagénèse *in vivo*) ou des cellules (mutagénèse *in vitro*). Chez la tomate par exemple, une mutagénèse à l'EMS peut induire plus de 600 mutations chez un individu donné, qui viendront s'ajouter aux mutations naturelles (Fig. 1).

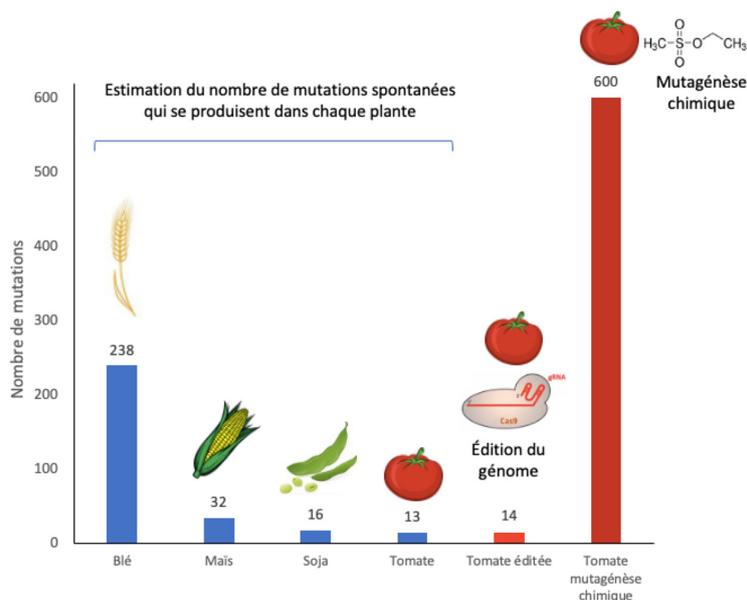


Figure 1 : Nombre de mutations spontanées versus induites (édition du génome ou mutagénèse chimique) chez certaines plantes cultivées (Ossowski *et al.*, 2010)

Le nombre de mutations spontanées chez différentes espèces (barres bleues) est extrapolé à partir de la fréquence de mutations spontanées mesurée chez *Arabidopsis*, à savoir 7×10^{-9} mutation par génération. Le nombre théorique de mutations suite à l'édition du génome chez la tomate (barre rouge) inclut le nombre de mutations spontanées plus une mutation induite par édition du génome dans un gène d'intérêt. Le nombre de mutations aléatoires sur le génome de la tomate (barre rouge) suite à la mutagénèse chimique est estimé d'après les travaux de Minoia *et al.* (2010).

La mutagénèse a récemment été utilisée pour créer de grandes banques de mutants chez une variété donnée, de façon à identifier des variants dans un gène d'intérêt à partir du reséquençage de ce gène dans l'ensemble de la banque (technique de TILLING, *Targeting Induced Local Lesions in Genomes*). Aujourd'hui, plus de 3 300 variétés cultivées issues de mutagénèses induites sont répertoriées dans la base de l'IAEA, *Mutant Variety Database*, toutes espèces confondues. Par exemple, (i) une mutagénèse par rayon gamma a permis d'obtenir une variété de soja présentant un contenu enrichi en protéines, (ii) une mutagénèse par rayon X a permis d'obtenir une variété de blé présentant une meilleure qualité de cuisson, (iii) une mutagénèse à l'EMS a permis d'obtenir une variété de tomate enrichie en vitamine C et (iv) les variétés de lupin blanc d'hiver portent des mutations issues de trois cycles différents de mutagénèse induites : l'absence d'alcaloïdes obtenue dans les années 1930 en Allemagne, la croissance déterminée obtenue en Pologne dans les années 1970, et le nanisme obtenu en France au début des années 1980 (<https://mvd.iaea.org/>).

Depuis une dizaine d'années, des techniques de modification ciblée du génome dites techniques d'édition du génome, ont été développées, notamment dans le règne végétal. Ces techniques permettent d'induire des mutations de façon ciblée dans le génome.

◊ Les périodes et approches de l'amélioration des plantes

Les plantes dans un milieu naturel sont soumises aux fluctuations de l'environnement et à différentes pressions de sélection naturelle. Depuis la naissance de l'agriculture, les humains ont pratiqué une sélection plus ou moins intentionnelle visant à domestiquer les espèces d'intérêt, augmenter leur rendement ou les adapter à des conditions particulières. Depuis le début du 20^e siècle, la sélection s'est progressivement spécialisée et a été réalisée par des généticiens dans des organismes publics de recherche ou des entre-

prises de sélection. La sélection participative implique quant à elle les agriculteurs. Elle vise le maintien de populations locales ou de variétés hétérogènes issues de processus de sélection plus anciens (sélection massale ou sélection variétale de la première moitié du 20^e siècle).

La sélection génétique, telle que pratiquée de façon majoritaire depuis le début du 20^e siècle, s'appuie sur une succession de cycles de reproduction au cours desquels on cherche à accumuler, dans des individus ou des populations, et au travers de croisements, des variants favorables de gènes d'intérêt pour un ou plusieurs caractères. A chaque cycle, se succèdent une phase de « brassage génétique » permettant de créer de nouveaux génotypes candidats, et une phase d'évaluation, au terme de laquelle on sélectionne les candidats les plus intéressants. La sélection génétique requiert une base de diversité génétique large (espèce concernée et espèces apparentées), au moins au niveau phénotypique. Les résistances aux agents pathogènes proviennent, par exemple, souvent d'espèces proches apparentées à l'espèce cultivée. Le progrès génétique dépend entre autres de l'intensité de sélection et de l'architecture génétique du caractère (contrôlé par un ou plusieurs gènes). La recombinaison, qui à chaque méiose recombine les allèles parentaux (différentes « versions » d'un même gène), en est le moteur. La biologie de la plante (niveau de ploïdie, taille du génome, facilité de croisement) vient moduler ce progrès.

Au fil du temps, l'amélioration des plantes a orienté les cultures vers des variétés homogènes (lignées pures, hybrides F1 ou à propagation clonale) et a largement contribué, avec l'amélioration des techniques culturales, à l'augmentation des rendements. L'amélioration des plantes s'intéresse souvent à un grand nombre de caractères simultanément (rendement, adaptation aux contraintes biotiques et abiotiques, qualité des produits...). Elle mobilise les connaissances de la génétique, de la génomique, mais aussi de la physiologie, de la pathologie, de l'agronomie et de la technologie des produits. Pour améliorer un nouveau caractère, il est nécessaire (1) de mettre au point ou adapter les méthodes de mesure, (2) d'identifier des sources d'allèles favorables (le recours à des mutations spontanées ou induites ou aux espèces apparentées peut être envisagé), (3) d'évaluer l'hérédité du caractère (simple si contrôlé par un gène ou complexe si contrôlé par plusieurs gènes), (4) de réaliser l'introgession des gènes d'intérêt suivant des méthodes optimisées pour chaque espèce.

Ramstein *et al.* (2019) en se basant sur **l'évolution des approches et des techniques, divisent l'histoire de l'amélioration des plantes en quatre périodes** (Fig. 2).

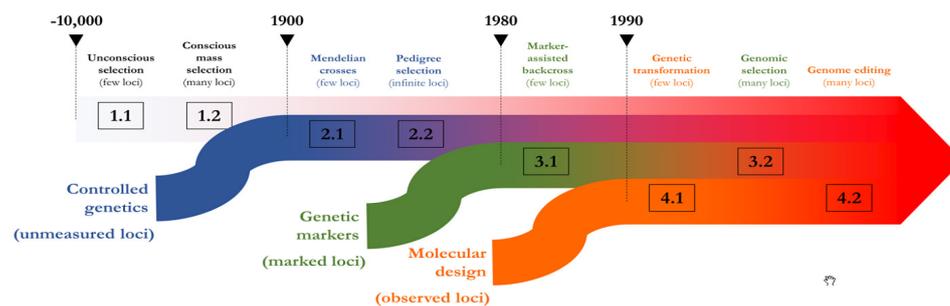


Figure 2 : Les 4 grandes périodes de l'amélioration des plantes (Ramstein *et al.*, 2019)

La première période de l'amélioration des plantes a débuté avec la domestication, des céréales d'abord, puis de toutes les plantes cultivées aujourd'hui, et a été réalisée localement par des agriculteurs travaillant de façon indépendante et artisanale : elle consiste en la conservation des graines des meilleurs individus et se base uniquement sur le phénotype des plantes sans connaissance des loci génétiques impliqués.

Au 20^e siècle, la deuxième période s'est appuyée progressivement sur les lois de la génétique mendélienne et de la génétique quantitative. L'activité de sélection génétique, initialement réalisée par les agriculteurs, s'est progressivement professionnalisée grâce à des acteurs spécialisés comme les sociétés semencières ou des organismes de recherche. Elle se base sur des croisements contrôlés avec des lignées parentales bien identifiées, puis des essais au champ et des analyses statistiques. L'organisation de cette activité est différente selon les espèces compte tenu notamment de leurs contraintes biologiques (durée des cycles de production, taux de multiplication, possibilité de cloner pour les arbres, etc.). Les sociétés semencières sont apparues dans les cas où il était possible de rentabiliser économiquement cette activité sur la base de vente de semences (grandes cultures et espèces maraîchères notamment).

Depuis les années 1980 a débuté la troisième période, avec le développement des marqueurs de l'ADN. Ils sont venus compléter les outils du sélectionneur en lui permettant d'avoir une information sur les régions génomiques porteuses de gènes d'intérêt et d'utiliser ces marqueurs comme cibles de sélection indirecte. La sélection assistée par marqueurs, qui ne nécessite pas la connaissance précise des gènes en jeu mais uniquement des régions du génome comportant ces gènes (régions encadrées par des marqueurs de l'ADN), est désormais largement utilisée pour la sélection de caractères à déterminisme simple. En disposant aujourd'hui d'un très grand nombre de marqueurs de l'ADN, on peut envisager la sélection génomique, qui se base sur l'information de l'ensemble du génome et non plus seulement de quelques marqueurs cibles, et permet de prédire la valeur d'individus sur la seule base de leur génotype.

La connaissance de plus en plus fine des génomes grâce au développement de la biologie moléculaire a permis de rentrer dans la 4^{ème} période de l'amélioration des plantes. C'est celle du haut débit, dont l'objectif est de combiner de façon ciblée et plus rapide des variants fonctionnels de gènes d'intérêt. Elle s'appuie sur la connaissance de la fonction des gènes et de leurs variants, sur le re-séquençage de génomes et sur l'acquisition de données phénotypiques à haut débit. Elle peut mobiliser la transgénèse et a débouché sur des variétés génétiquement modifiées pour certaines espèces. Plus récemment, l'édition du génome a enrichie la boîte à outils de cette nouvelle ère de l'amélioration et permis de réaliser des modifications ciblées de gènes d'intérêt.

Aujourd'hui, ces approches de sélection végétale, nées à différentes époques mais au moins pour certaines encore en développement, coexistent et se complètent. Elles tirent bénéfice des techniques de haut débit, dont l'objectif est de combiner de façon ciblée et plus rapide des variants fonctionnels de gènes d'intérêt. Elles s'appuient plus ou moins fortement sur la connaissance de la fonction des gènes et de leurs variants, sur le re-séquençage de génomes et sur l'acquisition de données phénotypiques à haut débit.

Chapitre 2

L'édition du génome pour l'amélioration des plantes

Principes de l'édition du génome

Les *New Plant Breeding Techniques* (NPBT) regroupent un ensemble de technologies de modification des génomes végétaux³, avec un focus récent sur un sous-ensemble des techniques les plus utilisées sous le vocable *New Genomic Techniques* (NGT)⁴ (Cf. lexique en annexe 4). Parmi ces technologies NGT, l'édition du génome permet de modifier de façon ponctuelle et ciblée le génome des organismes (Cf. lexique en annexe 4), en particulier en mobilisant le système CRISPR-Cas⁵ (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats – CRISPR associated protein*, Fig. 3) qui a révolutionné le domaine de l'ingénierie génétique. Ainsi, en 2020, le prix Nobel de Chimie a été attribué à la française Emmanuelle Charpentier et à l'américaine Jennifer Doudna pour l'invention du système CRISPR-Cas9.

L'édition du génome est une technologie des années 2000 qui permet de modifier ponctuellement le génome d'un organisme vivant. Tout caractère avec une base génétique est potentiellement modifiable par édition du génome. Différentes technologies ont été proposées pour éditer les génomes comme les méganucléases, les nucléases à doigt de zinc, ou les TALEN (*transcription activator-like nuclease*).

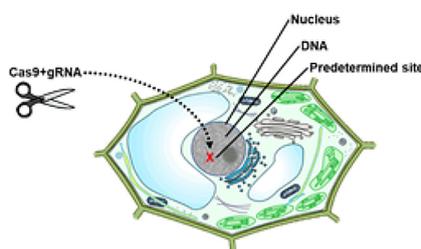


Figure 3 : Schéma du système CRISPR-Cas au niveau d'une cellule végétale (Université de Namur⁶)

Des éléments exogènes (Cas9 et sgRNA) sont introduits dans la cellule et dans son noyau pour provoquer des mutations ciblées au niveau de certain(s) gène(s). La différence avec les OGM classiques est que ces éléments exogènes ne sont pas présents dans le génome de la plante finalement obtenue : ils n'y ont jamais été intégrés, ou bien ils en ont été retirés.

Depuis 2012 le système CRISPR-Cas a pris le pas sur les autres technologies. Le principe du système CRISPR-Cas est le suivant : dans la cellule végétale, la protéine Cas, qui est une nucléase, va s'associer avec un petit ARN guide conçu pour s'apparier par homologie de séquence avec un endroit précis du génome. Le complexe Cas/ARN guide va couper l'ADN du génome précisément à cet endroit. Différents mécanismes de la cellule végétale vont alors tenter de réparer cette cassure, et soit rétablir la séquence originale, soit faire des erreurs. En fonction du mécanisme en jeu et en fonction de l'utilisation ou pas d'une matrice de réparation (Cf. lexique en annexe 4), on distingue deux modalités dites SDN1 ou SDN2 pour *Site Directed Nuclease* (Cf. lexique en annexe 4) :

³. Lusser M, Parisi C, Rodriguez Cerezo E, Plan D. *New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development*. EUR 24760 EN. Luxembourg (Luxembourg): Publications Office of the European Union; 2011. JRC6397. <http://dx.doi.org/10.2791/54761>

⁴. https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/new-genomic-techniques_en

⁵. En particulier le système CRISPR-Cas9 (le plus connu et utilisé), mais pas uniquement.

⁶. <https://www.unamur.be/sciences/enligne/transition/biologie/Fichesderevision/revision1/cellvegetale.htm>

- **SDN1** : en absence de matrice de réparation, la mauvaise réparation de la coupure par un mécanisme cellulaire constitutif de l'organisme va causer des mutations, généralement des petites insertions ou délétions de quelques bases et ainsi, en général, conduire à **l'inactivation du gène**. Si le site de la mutation est prédéterminé, la nature de la mutation ne l'est pas. 92 % des utilisations actuelles relèvent du SDN1.
- **SDN2** : dans ce cas, à la fois le site et la nature de la mutation sont prédéterminés. Le système associe un fragment d'ADN qui va servir de matrice à la réparation de la coupure, en mobilisant le mécanisme constitutif de la recombinaison homologue. **Il s'agit donc de remplacer quelques nucléotides, par copie de la matrice de réparation, d'une région génomique par d'autres**. Il n'y a pas d'addition de fragments nouveaux. À cause de sa faible efficacité, le SDN2 ne représente que 3 % des utilisations.

Des développements récents de la technologie CRISPR-Cas s'affranchissent de la coupure complète de l'ADN et brouillent les frontières entre SDN1 et SDN2. Par exemple, le « base editing » et le « prime editing » permettent des modifications limitées mais pleinement prédéterminées avec une excellente efficacité (Molla *et al.*, 2021).

- Une troisième modalité, **SDN3**, est utilisable : contrairement aux SDN1 et SDN2, qui permettent de modifier l'existant, il y a dans ce cas **addition d'un nouveau gène** au site de la coupure. Par rapport à la transgénèse classique, caractérisée par l'insertion aléatoire d'un nouveau gène, l'insertion est dans ce cas ciblée. 5 % des utilisations actuelles sont basées sur le SDN3. **Cette modalité SDN3 se rapproche des technologies OGM classiques et n'est pas considérée dans cette étude, sauf signalement particulier.**

◊ Intérêt de l'édition du génome pour l'amélioration des plantes

Perçu comme étant plus précis, plus rapide, plus facile à mettre en œuvre et moins onéreux que toutes les autres méthodes de modification génétique⁷, le système CRISPR-Cas est aujourd'hui employé dans des laboratoires publics et privés du monde entier travaillant sur les plantes. Cette technologie a rapidement trouvé sa place en recherche fondamentale pour comprendre la fonction des milliers de gènes présents dans une plante, tout comme en recherche appliquée. Elle fournit également de nouveaux outils d'amélioration des plantes en permettant d'accélérer les cycles de sélection et/ou de s'affranchir de liaisons entre caractères désirés et non désirés lorsqu'on pratique des croisements.

L'exemple de la résistance du blé à l'oïdium (*Blumeria graminis*) par édition du gène *MLO* (*MILDEW RESISTANCE LOCUS*) illustre bien le potentiel mais aussi les prérequis nécessaires pour l'édition du génome (Wang *et al.*, 2014). Ces travaux sont fondés sur l'identification chez l'orge d'un gène de résistance à l'oïdium. Ce gène de résistance s'est révélé durable malgré une utilisation importante en agriculture (Kusch et Panstruga., 2017). La résistance est causée par une mutation du gène *MLO* de l'orge. À partir de ces connaissances chez l'orge, ce même gène, qui est aussi présent chez le blé, a été modifié par édition du génome (SDN1). Les mutants de blé ainsi obtenus se sont alors avérés résistants à l'oïdium. Ainsi la diversité naturelle actuelle du blé, dans laquelle aucun mutant pour le gène *MLO* n'était connu, a pu être élargie de manière réfléchie, et sur la base des connaissances acquises chez une autre espèce.

Les mutations provoquées par le système CRISPR-Cas ont possiblement existé dans le passé ou pourraient se produire à l'avenir du fait du phénomène naturel de mutagenèse spontanée. Par exemple, chaque fois qu'on sème un grain de blé, la plante issue de cette graine comprend en moyenne 238 mutations aléatoires par rapport à sa plante mère (Fig. 1). Il suffit ainsi, en théorie, de 71 millions de plantes (soit une sole de blé de 35 ha) pour muter chaque base du génome une fois⁸. En d'autres termes, une mutation provoquée par le système CRISPR-Cas a probablement déjà été présente ou sera présente par mutation spontanée dans une plante sans que l'on sache où et quand.

7. European Commission, Directorate-General for Research and Innovation, 2017. *New techniques in agricultural biotechnology*. Publications Office (Explanatory Note 02/2017), 149 p. <https://dx.doi.org/10.2777/574498>

8. Taille du génome du blé : 17 Gbp ; densité de semis du blé : 200 pieds par m².

Par rapport à la mutagenèse induite et aléatoire utilisée depuis un siècle en amélioration des plantes, l'édition du génome induit un nombre beaucoup plus faible de mutations à des positions choisies dans le génome. Après mutagenèse induite, il faut chercher la plante avec la mutation voulue parmi des milliers de plantes mutantes portant chacune des centaines de mutations à des sites aléatoires dans son génome. Par ailleurs, il est statistiquement très peu probable de trouver plus d'une mutation dans un gène donné dans une seule plante. Grâce à l'édition du génome, seul le gène ciblé est modifié à un ou plusieurs endroits, selon la stratégie choisie. Par rapport à la transgénèse, qui ajoute des gènes supplémentaires provenant généralement d'une autre espèce, l'édition du génome permet de modifier ponctuellement le génome existant. L'exception est la variante SDN3, conduisant à des plantes de type OGM classiques et qui n'est pas exemptée de la réglementation OGM, même dans des pays comme l'Argentine ou les USA qui pratiquent des exemptions de la réglementation OGM pour les formes SDN1 et SDN2 de l'édition du génome.

En résumé, l'édition du génome permet de s'inspirer d'un ou plusieurs polymorphisme(s) clé(s) pour un caractère d'intérêt chez la même espèce, une espèce voisine ou même une espèce plus distante et de le reproduire chez l'espèce d'intérêt. Ainsi, lorsque la source d'un allèle intéressant (une version d'un gène donné) est trop éloignée de l'espèce d'intérêt pour être introduite par croisement, cet allèle peut être obtenu par mutagenèse à l'aide de l'édition du génome (Fig. 3). L'introgression d'allèles d'intérêt à partir d'espèces distantes demande plusieurs générations de croisements et s'accompagne fréquemment de l'introgression simultanée de larges fragments de génome pouvant porter des allèles défavorables. C'est à ce niveau que l'édition du génome est intéressante, en ciblant spécifiquement un/quelques gènes et en permettant une introgression rapide (Fig. 4). Cela est bien sûr possible uniquement si les gènes cibles sont identifiés précisément (ce qui peut prendre plusieurs années de recherche) et si les techniques de modification ciblée du génome sont disponibles pour l'espèce.

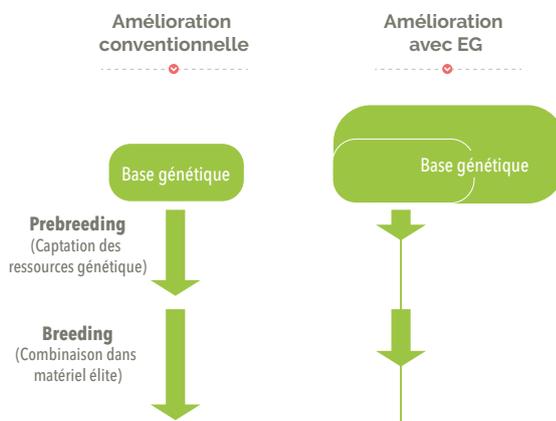


Figure 4 : Comparaison de l'amélioration des plantes conventionnelle (par croisements) et avec édition du génome (EG)

L'édition du génome permet l'accès à un pool génique élargi et accélère les étapes de la sélection (prebreeding et/ou breeding). La longueur des flèches représente le temps nécessaire à la mise en œuvre d'une technique de sélection, le gain avec l'édition du génome est d'un facteur de trois environ.

◦ Prérequis technologiques nécessaires à l'utilisation de l'édition du génome pour l'amélioration des plantes

A l'heure actuelle, deux principaux 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 quelle(s) modification(s) il faut apporter à quel(s) gène(s) pour modifier le phénotype de la plante. Cela concerne beaucoup de caractères d'intérêt pour l'amélioration de la production végétale pour lesquels il faut disposer d'une séquence annotée et de données phénotypiques liées. Par ailleurs, en fonction du trait, de l'espèce et de la présence de gènes majeurs, les caractères dits complexes (régis par des dizaines de gènes) peuvent être plus difficiles à modifier que les caractères simples (régis par un ou quelques gènes). L'éventuelle limitation est plutôt biologique que technique dans la mesure où le multiplexage (créer une dizaine de mutations simultanément par édition du génome) est aujourd'hui acquis.
- La modification du génome nécessite l'introduction d'un outil (dit ciseau moléculaire) constitué de la nucléase Cas et d'un ARN guide dans la cellule végétale. Si cette introduction est généralement assez aisée, la régénération de plantes à partir de cellules par culture *in vitro* reste difficile pour de nombreuses espèces, y compris pour des espèces de grande culture comme le pois ou le tournesol. Il existe également de grandes différences entre variétés d'une même espèce, les lignées élites utilisées en sélection étant souvent plus récalcitrantes à la technologie que les variétés utilisées en recherche fondamentale.

Une question légitime concerne l'impact potentiel de l'outil d'édition des génomes et/ou du processus de régénération de plantes entières sur le génome de la plante en dehors du site choisi pour être modifié (*off target*). Si tout le monde s'accorde sur le fait que de telles modifications non intentionnelles peuvent se produire, le débat sur leur ampleur est vif (Carroll et Charo, 2015). La revue systématique des données de 180 articles primaires par Modrzejewski *et al.* (2020) reflète le consensus actuel que des sites présentant 4 mésappariements ou plus avec la séquence de 20 nucléotides du site visé pour modification ne sont pas modifiés par le complexe Cas/sgRNA. Ceci implique qu'à condition d'un design rigoureux et en connaissance de la séquence du génome, les modifications *off target* sont de l'ordre des mutations spontanées. Cette analyse est confortée par le rapport de l'EFSA sur la question qui conclut que les *off target* provoqués par l'édition des génomes sont moins nombreux que ceux qui se produisent avec la plupart des techniques de mutagenèse utilisées actuellement en création variétale et considérées comme ayant un historique d'utilisation en toute sécurité (Naegeli *et al.*, 2020).

Chapitre 3

Analyse de la bibliographie : quels acteurs, quelles espèces et quels caractères ?

Comme évoqué précédemment, la technologie d'édition du génome est utilisée dans le domaine de la recherche sur le végétal pour deux finalités : (i) La production de connaissances afin de déchiffrer les fonctions des quelques 30 000 gènes du génome d'une plante et leurs régulations ; (ii) La réalisation de mutations ciblées sur des gènes identifiés pour leur intérêt agronomique potentiel ou avéré et pour proposer des preuves de concept permettant d'envisager la création de nouvelles variétés de plantes.

L'analyse de la bibliographie a pour objectif de documenter ces finalités et de dresser un panorama des pays actifs dans le domaine, des espèces végétales et des caractères concernés par l'utilisation de l'édition du génome, avec un focus particulier sur les caractères pouvant contribuer à la transition agroécologique de l'agriculture. En fonction des questions posées, différents corpus bibliographiques ont été utilisés.

◊ Méthodologie

Un corpus initial de 2 415 publications (corpus 2 415, Fig. 5), pour la période 1988-2020, a été obtenu à partir d'une interrogation du Web of Science (WoS) sur la base d'une requête combinant des termes liés à l'édition de génomes à des termes liés aux végétaux et appliquée aux champs Titre, Mots-clés, Auteurs et Résumé (Cf. annexe 1).

Un sous-corpus de 784 publications (corpus 784) a été extrait du corpus 2 415 en ajoutant des mots-clés pour huit types de caractères : stress biotique, stress abiotique, fonctionnement des plantes, services écosystémiques, qualité, métabolisme, tolérance aux herbicides, biocarburants. Dans ce corpus, les références relevant des SHS, adressant des améliorations technologiques ou faisant état de généralités sur l'édition du génome ont été retirées. Pour bien appréhender la diversité des caractères étudiés et éviter les citations multiples d'un même travail, un corpus de 572 publications (corpus 572) a été établi en écartant les « reviews » du corpus 784. Ce corpus 572 contient des publications qui mobilisent l'édition du génome à la fois en recherche fondamentale et en recherche appliquée.

Un sous-corpus de 283 publications (corpus 283) a été extrait du corpus 572 en retenant les seuls travaux où l'utilisation de l'édition du génome a apporté un caractère recherché et attendu chez une espèce cultivée. Par exemple, si l'édition d'un gène a induit une diminution plutôt qu'une augmentation de la tolérance au froid, cette publication a été écartée. Par rapport au corpus 572, ce corpus ne considère pas les publications chez les espèces modèles (principalement *Arabidopsis thaliana*) et les travaux dans lesquelles l'édition du génome n'est qu'un outil pour avancer dans la compréhension de la fonction des gènes.

Pour finir, un sous-corpus de 361 publications a été extrait du corpus initial 2 415 en le croisant avec un ensemble de mots clés de techniques d'amélioration des plantes. Il permet d'analyser les travaux utilisant l'édition du génome non pas pour étudier des caractères, mais pour améliorer les processus d'amélioration des plantes et de sélection.

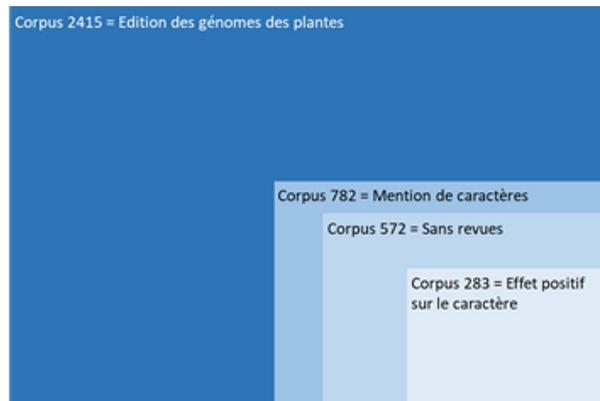


Figure 5 : Schéma illustrant le corpus initial et les différents corpus analysés

◊ Dynamique des publications scientifiques

La production scientifique dans le domaine de l'édition des génomes des plantes a connu une croissance exponentielle ces dernières années (Fig. 6), marquée par la découverte de la technologie CRISPR-Cas en 2012 (Jinek *et al.*, 2012). Une comparaison du corpus 2415 avec le corpus 572 montre que les publications avant 2015 étaient quasi-exclusivement dédiées à des développements technologiques des outils de l'époque (méganucléases, nucléases à doigt de zinc, TALEN, corpus 2415), alors que les publications ciblant des traits ne se sont développées qu'à partir de 2015 (corpus 572). Sur la décennie 2011-2020, la production a été multipliée par un facteur 60 (corpus 2415) et un facteur 240 (corpus 572), respectivement.

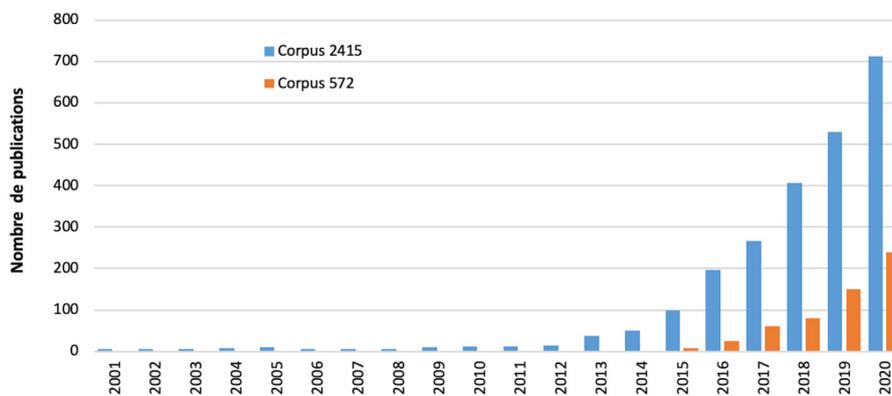


Figure 6 : Répartition du nombre de publications par année (corpus 2415 et corpus 572)

◊ Pays publiant dans le domaine

Quarante-six pays ont publié des travaux d'édition du génome en lien avec un caractère d'intérêt (corpus 572, Fig. 7). La Chine comptabilise plus de la moitié des publications (65%). Les USA (22 %) tiennent clairement le deuxième rang devant le Japon (9%) puis un groupe de plusieurs pays dont la France en 7^e position (3%). Les tendances sont similaires si l'on se concentre uniquement sur les publications rapportant des effets attendus sur le caractère chez les plantes cultivées (corpus 283), montrant sans surprise que les acteurs publiant en recherche fondamentale (et sur les espèces modèles) sont également les leaders en recherche appliquée. L'analyse des 15 publications françaises du corpus 283 indique que les chercheurs français se sont à la fois appropriés la technologie et travaillent sur des preuves de concept de l'utilisation de cette technologie.

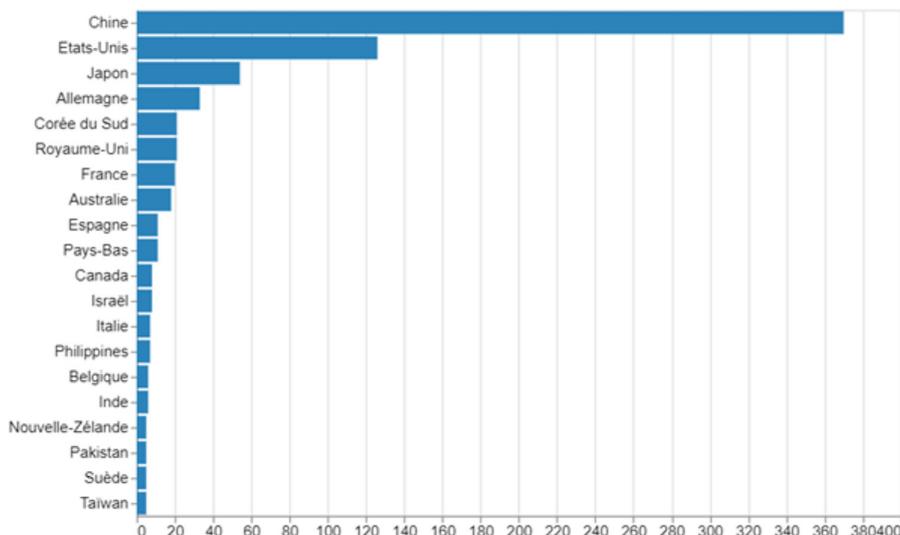


Figure 7 : Nombre de publications sur l'édition du génome chez les plantes (corpus 572) par pays

Les espèces végétales concernées par les travaux d'édition du génome

Parmis les 145 espèces recensées pour lesquelles la technologie d'édition du génome a été utilisée (corpus 2 415), 69 espèces font également partie du corpus 572 faisant le lien avec un caractère d'intérêt (Fig. 8). Le riz se trouve en première position avec 39,7% des travaux, suivi de loin par la tomate (11,2%), le soja (4,2%), le maïs (4,0%), le colza (3,3%) et le blé (2,3%). Il est à noter que pour 7,3% des publications, la plante modèle *Arabidopsis thaliana* est utilisée pour analyser les caractères d'intérêt. La première plante pérenne est le peuplier (1,7%) en 8^e position. Concernant les espèces utilisées en culture intermédiaire, une seule publication a été recensée. Ce nombre pourrait être sous-estimé du fait d'une difficulté de classification des espèces utilisées en cultures intermédiaires. Par exemple, la cameline a été classée ici comme une espèce de grande culture alors qu'elle peut être utilisée comme une culture intermédiaire.

◦ Caractères ciblés par l'édition du génome

L'édition du génome a été appliquée à des caractères assez divers, qui ont été regroupés en huit catégories (Fig. 9). La répartition observée au sein du corpus 572 cumulant recherches fondamentale et appliquée est la suivante : fonctionnement de la plante (41,6 %), qualité des produits (18,4 %), tolérance aux stress abiotiques (16,3 %), résistance aux stress biotiques (14,0 %), services pour l'agroécologie (7,5 %), métabolisme (7,2 %), tolérance aux herbicides (1,6 %) et biocarburants (0,3 %). Une comparaison du corpus 572 avec le corpus 283 écartant les travaux plutôt fondamentaux montre de légères différences : la tolérance aux stress abiotiques passe de la 3^e (16,3 %) à la 4^e place (9,9 %).

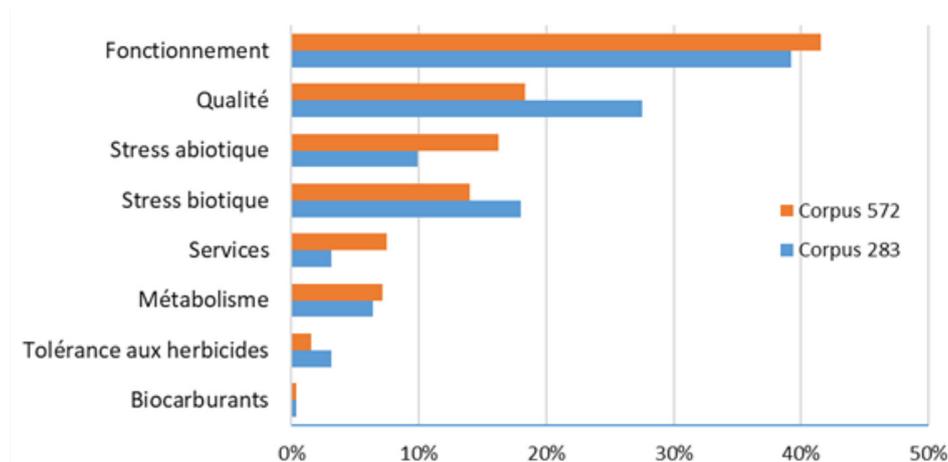


Figure 9 : Pourcentage de publications sur l'édition du génome dans le corpus 572 et le corpus 283 par catégorie de caractères

Les caractères ciblés regroupés dans la catégorie « **fonctionnement général de la plante** » (corpus 572) visent principalement l'architecture (13,3 %), le rendement (8,4 %), la reproduction (7,9 %), la graine (4,2 %), la phénologie (3,5 %) et la racine (2,4 %).

Les travaux sur la « **reproduction** », qui concernent l'instauration d'une stérilité mâle chez de nombreuses espèces (Li *et al.*, 2020), mais aussi la stérilité femelle (Shinoyama *et al.*, 2020) et d'autres modifications du sexe, notamment le changement de sexe chez les espèces dioïques (Zhang *et al.*, 2020a), apportent de nouveaux outils pour la sélection. Ces outils facilitent les croisements souvent délicats entre variétés d'une espèce ou réduisent le nombre de générations nécessaires pour la création variétale par le secteur des semences.

A contrario, les « **modifications de l'architecture** », qui influencent entre autres la hauteur de la plante (Ye *et al.*, 2020), la formation de ramifications (Lu *et al.*, 2018), la rigidité de la tige (Zhang *et al.*, 2020b) ou encore le port des inflorescences (Fei *et al.*, 2019), représentent toutes des portes d'entrée pour améliorer les interactions plante/plante dans des mélanges ou associations, caractères recherchés dans l'agroécologie. C'est également vrai pour les « modulations de la phénologie » (Han *et al.*, 2019), qui permettent de rallonger ou raccourcir le cycle d'une variété pour mieux l'accorder avec celui d'autres espèces dans l'espace (associations) ou le temps (rotations) et pour élargir son aire de culture.

Enfin, les travaux sur le « **rendement** » portent principalement sur le rendement grainier et se recoupent avec la catégorie graine. Parfois le rendement général et le rendement sous contrainte, notamment hydrique ou azotée, ont été améliorés (Wang *et al.*, 2020). On peut noter que sur les 22 publications incluant des essais au champ, l'effet sur le rendement en environnement confiné a été confirmé par les essais au champ dans 13 publications (Metje-Sprink *et al.*, 2020). Cela montre que la modification d'un gène majeur peut avoir un effet notable sur un caractère multigénique (complexe) comme le rendement.

La richesse apparente de la littérature sur la « **qualité des produits** » est à la fois réelle, par la diversité des caractères obtenus, et biaisée, par une multitude de travaux qui visent les quatre mêmes gènes chez plusieurs variétés et/ou espèces. Ces caractères sont une « huile plus riche en acide oléique » par inactivation de *FAD2* (*Fatty acid desaturase 2*, Haun *et al.*, 2014), un « amidon sans amylose » par inactivation de *GBSS* (*Granule-bound starch synthase*), une « farine sans gluten » par mutation des gènes α -gliadin (Sanchez-Leon *et al.*, 2018) et un « fruit plus ferme » par mutation de *RIN* (*Ripening Inhibitor*, Ito *et al.*, 2017). Ces exemples montrent l'importance de la connaissance de certaines voies métaboliques (synthèse des acides gras, synthèse de l'amidon, synthèse des protéines de réserve) pour l'utilisation de l'édition du génome pour les caractères de qualité des produits des plantes. Si ces voies métaboliques et les gènes sous-jacents sont bien connus chez certaines espèces, ces connaissances restent difficilement transférables par sélection classique du fait d'un manque de diversité génétique.

Les « **résistances aux maladies** » concernent les champignons (5,2 %), les bactéries (3,3 %), les virus (2,4 %) et les oomycètes (0,5 %). La lutte contre des plantes parasites (0,3 %) concerne principalement l'orobanche (Bari *et al.*, 2019) ou le striga (Bellis *et al.*, 2020). La très grande majorité de ces publications visent des facteurs dits de « sensibilité » de la plante hôte, c'est-à-dire des facteurs nécessaires à l'accomplissement du cycle de vie du pathogène. Leur inactivation rend donc la plante résistante à la maladie, sous condition qu'elle n'en ait pas besoin pour d'autres fonctions, ou possède des systèmes de remplacement pour ces fonctions. Ce choix s'explique entre autres par les limitations techniques de l'édition du génome, qui, avant la découverte de l'édition des bases en 2017, favorisaient fortement l'inactivation plutôt que la modification de gènes. Dans les travaux sur les maladies bactériennes et virales, on trouve une production scientifique assez importante sur les différents transporteurs SWEET apportant les sucres nécessaires pour la croissance des pathogènes du genre *Xanthomonas* chez le riz (Oliva *et al.*, 2019), et des facteurs d'initiation de la traduction des familles eIF4E ou eIF4G (*Eukaryotic initiation factor*) nécessaires pour la réplication de différents potyvirus chez de nombreuses espèces (Bastet *et al.*, 2018).

Les « **stress abiotiques** » les plus travaillés sont la tolérance à la sécheresse (3,8 %), à la salinité (3,8 %), aux températures basses ou élevées (3,8 %) et aux métaux lourds (1,6 %), sachant que la tolérance à la sécheresse et à la salinité peut impliquer les mêmes mécanismes. Les gènes ciblés sont divers à la fois par leur fonction cellulaire et les processus physiologiques dans lesquels ils interviennent. Néanmoins, plusieurs travaux sur la tolérance à la sécheresse ont comme point commun une interférence dans l'action de phytohormones tels que l'acide abscissique (ABA, Ogata *et al.* 2020) ou des cytokinines (Wang *et al.* 2019). Pour tous les stress abiotiques, et notamment pour la tolérance à la sécheresse, il faut rappeler que les résultats publiés ont quasi-exclusivement été acquis en environnement confiné et que la projection sur la performance en plein champ n'est pas garantie. Par exemple, si la tolérance à la sécheresse d'un maïs édité a été confirmée par des essais au champ (Shi *et al.* 2017), cela n'a pas été le cas pour la tolérance à la salinité d'un riz (Zhang *et al.* 2019). Cependant, ces travaux montrent que même des caractères complexes comme la tolérance à la sécheresse peuvent être abordés par l'édition du génome en agissant sur un seul ou un nombre limité de gènes.

Les publications documentant la « **modification dans la teneur de certains métabolites** » recouvrent naturellement celles de la qualité des produits. A la fois une augmentation, par exemple en bêta-carotène (Kaur *et al.* 2020) ou acide gamma aminobutyrique (GABA, Nonaka *et al.* 2017), comme une diminution, par exemple en certains alcaloïdes (Alagoz *et al.*, 2016), peut être bénéfique pour la santé humaine. Récemment, la start-up japonaise Sanatech a démarré la distribution gratuite à des particuliers de semences de tomates enrichies en GABA, censées diminuer la tension artérielle et aider à la relaxation (<https://sanatech-seed.com/en/>).

Une analyse des 8 publications identifiées dans la catégorie « **services** » montre que la moitié s'intéresse à la symbiose entre *Rhizobium* et les légumineuses et l'autre moitié à la qualité du pollen. Si l'augmentation du nombre de nodosités est effectivement un service recherché en agroécologie (Bai *et al.* 2020), la modification du pollen avec le but d'une stérilité mâle est clairement un outil pour la sélection (voir ci-après).

Un croisement entre catégories de caractères et groupes de pays montre que le classement général des catégories de caractères avec, dans l'ordre, le fonctionnement général de la plante, la qualité des produits et la résistance aux stress biotiques, reflète très bien la situation en Asie et Amérique du Nord, mais ne correspond pas à l'Union européenne et au Royaume Uni, où le fonctionnement général de la plante n'arrive qu'en 3^e position loin derrière la qualité des produits et la résistance aux stress biotiques.

Les différentes catégories de caractères ne mobilisent pas le même intérêt selon les différents groupes d'espèces. Par exemple, des caractères comme la résistance aux stress abiotiques et le fonctionnement général sont très majoritairement travaillés chez les céréales, alors que pour les autres grandes cultures, les légumes et les fruits, l'effort porte plutôt sur des caractères importants pour la qualité, les stress biotiques et le métabolisme. Il est possible que des caractères plus complexes comme la tolérance aux stress abiotiques nécessitent des investissements en amont (découverte des caractères) que seules les filières avec un fort potentiel en R&D peuvent soutenir.

Des travaux par des **équipes françaises** (publiés pour au moins une des espèces citées, en cours pour les autres) concernent la qualité de l'huile chez la caméline (Morineau *et al.* 2017), la qualité de l'amidon chez la pomme de terre (Veillet *et al.* 2019), la résistance aux potyvirus chez la tomate et la pomme de terre (Bastet *et al.* 2019), la résistance à l'oïdium et au mildiou chez la vigne et la pomme de terre (Veillet *et al.* 2020), la précocité de la floraison chez le pommier, le rosier, la caméline et le soja (Charrier *et al.*, 2019) ou la tolérance au césium chez le riz (Nieves-Cordones *et al.* 2017). Des travaux moins avancés (évaluation phénotypique en cours en environnement confiné) portent entre autres sur des résistances à diverses maladies (blé, riz, peuplier), la tolérance à la sécheresse (maïs), le froid (maïs), la salinité (riz), le stolonage (fraisier) ou encore le taux de protéines (orge).

◊ L'édition du génome en tant qu'outil pour les processus d'amélioration des plantes

L'analyse du corpus 2 415 a identifié 361 articles croisant « édition du génome » et « processus de sélection » ou « amélioration des plantes » dont 183 « revues ». La majorité s'adresse aux plantes cultivées en général. Cinq espèces (ou groupe d'espèces) seulement sont concernées par plus de 12 publications : le riz (56), la tomate (17), le blé (14), le soja (12) et le maïs (12), suivis de la pomme de terre (9) et du coton (5). Les arbres sont concernés par 5 publications.

Parmi les thématiques abordées, la méthodologie de la sélection et la manière d'intégrer l'édition du génome dans les programmes de sélection pour les caractères quantitatifs constituent la grande majorité du corpus, à savoir 255 publications (incluant l'introggression de mutations, l'accélération de la sélection et la sélection de précision), suivi par la mutagenèse ciblée et la détection de mutation (68 articles). Les aspects « domestication » qui abordent notamment la question de la perte de diversité suite à la domestication et à la sélection moderne et comment l'édition du génome peut y répondre, concernent 17 publications. Enfin, 9 publications traitent des ressources génétiques et 12 de la technologie TILLING.

Du fait de leur complémentarité, combiner la sélection génomique et l'édition du génome fait partie des pistes explorées. Cela pose la question de savoir comment intégrer au mieux l'édition du génome dans les programmes de sélection et ses conséquences sur l'organisation de la sélection. Combiné à la sélection génomique, l'édition du génome pourrait être un outil essentiel si, après identification des loci multiples responsables des phénotypes recherchés, la combinaison des meilleurs polymorphismes présents dans de nombreux génotypes pouvait se faire par édition du génome, plutôt que par croisements. L'édition de gènes permettrait alors le développement de cultivars présentant moins de mutations délétères (Ramstein *et al.*, 2019). Elle permettrait également un gain de temps en évitant plusieurs générations de rétrocroisement. Il n'y a pas de preuve de concept à ce jour pour cette approche théoriquement séduisante.

La variation des traits quantitatifs est souvent due à une variation cis-régulatrice plutôt qu'à une variation de la partie codante des gènes, provoquant des changements temporels ou spatiaux dans l'expression génique. L'édition de gènes peut alors être utilisée comme outil de mutagenèse aléatoire de régions régulatrices pour induire des changements d'expression génique, comme cela a déjà été montré chez le maïs (Shi *et al.*, 2017) et la tomate (Rodriguez-Leal *et al.*, 2017).

Chez les espèces où les gènes clés de domestication sont connus et se prêtent à l'édition du génome, le parent sauvage avec ses traits souhaitables peut être converti en matériel de pré-breeding plus adapté à une utilisation ultérieure en une seule génération par l'édition multiplex des gènes de domestication. Une preuve de concept de cette approche a été faite chez la tomate sauvage (Lemmon *et al.*, 2018). Actuellement, les preuves de concept restent limitées aux Solanaceae, mais les bases théoriques existent au moins pour le maïs et le soja (Zsögön *et al.*, 2018).

En sélection classique, l'assemblage d'allèles favorables dépend d'événements aléatoires et rares de recombinaison qui se produisent au cours de la méiose. Selon le stade du processus de sélection, des taux de recombinaison plus élevés ou plus faibles seraient souhaités, tout comme une modulation suivant les régions du génome. Les approches utilisant l'édition du génome pour moduler le taux de recombinaison selon les besoins deviennent maintenant réalisables. Bien qu'aucune application en sélection n'ait été réalisée pour le moment, une preuve de concept de l'induction, via l'utilisation de CRISPR-Cas, d'événements de recombinaison entre chromosomes homologues a été faite chez la tomate (Hayut *et al.*, 2017).

L'édition du génome peut également être utilisée pour faciliter les pratiques de sélection et leur efficacité en allégeant certaines contraintes biologiques notamment durant la phase de reproduction ou par réduction de la phase juvénile, notamment chez les plantes pérennes. Des exemples de réduction du temps avant floraison existent chez le pommier (Charrier *et al.*, 2019). L'édition de gènes impliqués dans la fécondation a également permis d'accélérer la création de lignées pures par induction d'haploïdes *in vivo* chez le maïs (Jacquier *et al.*, 2020).

Chapitre 4

Amélioration des plantes, édition du génome, transition agroécologique et adaptation au changement climatique

◊ Les besoins pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique

La transition vers l'agroécologie et l'adaptation au changement climatique appellent à élargir les cibles de la sélection génétique et à reconsidérer la hiérarchie des caractères morpho-physio-phénologiques, parfois nouveaux, à combiner pour construire des idéotypes adaptés aux nouveaux contextes agronomiques, socio-économiques et environnementaux (van Bueren *et al.*, 2011 ; Debaeke *et al.*, 2021). Ces nouveaux contextes se rapportent à des formes d'agriculture déjà engagées ou appelées à se développer significativement (Duru *et al.*, 2015 ; Théron *et al.*, 2017). Celles-ci peuvent se décliner selon la nature et la quantité des intrants utilisés, la dépendance des modes de production aux intrants de synthèse (fertilisants, produits phytosanitaires) et à l'irrigation, et la diversité végétale mobilisée dans le temps et l'espace. L'agroécologie est une forme d'agriculture qui se fonde sur une « internalisation » des intrants en exploitant les régulations propres à l'écosystème et en intensifiant l'usage et le pilotage des processus écologiques (Altieri *et al.*, 2015).

Dans la littérature consacrée à la sélection génétique pour de nouveaux systèmes plus durables ou plus résilients (en référence aux systèmes dits « intensifs », « productivistes » ou « conventionnels »), il est rare de trouver une mention explicite à l'agroécologie (Lotz *et al.* 2020). En revanche, dès lors qu'il ne s'agit plus de sélectionner pour des systèmes visant le rendement maximal, plusieurs termes traduisant des conduites moins intensives sont utilisés, les plus fréquents étant « *low-input* », « *sustainable* » et « *organic* » (Cf. annexe 2). Ils correspondent à des formes d'agriculture qui ne relèvent pas, pour certains, strictement de l'agroécologie, même si elles partagent avec l'agroécologie certains objectifs et certaines pratiques (Fess *et al.*, 2011 ; Duc *et al.*, 2015 ; Nuijten *et al.*, 2017 ; Schröder *et al.*, 2019).

L'agroécologie mobilise la diversité intra- et plurispécifique en culture principale ou intermédiaire (association d'espèces, agroforesterie), et suppose l'utilisation accrue des légumineuses comme source naturelle d'azote (en culture principale ou associée, dans les couverts intermédiaires...) ainsi que la valorisation des services écosystémiques notamment non productifs (dont pollinisation, biofumigation, refuge pour auxiliaires). La connaissance et l'exploitation des interactions plante-plante et plante-sol (en particulier via les micro-organismes du sol) sont au cœur de cette forme d'agriculture. Dans ce cadre, l'aptitude à l'association est le caractère recherché en priorité.

L'agroécologie, tant par sa dimension locale que par la diversité des pratiques mises en jeu, ne peut se satisfaire de variétés homogènes et peu adaptées à une diversité de conditions de production et de marché. Pour autant, aujourd'hui, l'introduction de plantes de services, la diversification des successions de cultures (à des fins agronomiques ou économiques), la simplification des modes d'implantation et la capacité des plantes à produire en réduisant l'usage des pesticides, dans le cadre d'une agriculture exposée plus fortement et de manière moins prévisible aux aléas climatiques, deviennent des préoccupations partagées par les différentes formes d'agriculture présentées en annexe 2. De ce fait, de nouveaux caractères de rusticité, liés à la tolérance à la sécheresse, à la résistance aux bioagresseurs, ou à la vitesse d'implantation et de couverture du sol sont aujourd'hui de plus en plus recherchés en sélection.

Le contexte climatique futur se caractérise par une augmentation tendancielle de température et de concentration en CO₂, des situations de sécheresse, d'excès d'eau et de canicule plus fréquentes et plus intenses et de manière générale, par un accroissement de la fréquence des accidents climatiques. Ceci peut se traduire également par une augmentation de la pluviométrie hivernale, accompagnée d'inondations, de phénomènes érosifs et d'épisodes d'anoxie pour les cultures. La prise en compte de la variabilité temporelle de ces accidents (intra- ou interannuel) ainsi que de la diversité spatiale des impacts (fonction par exemple des sols qui n'ont pas tous la même sensibilité à un aléa climatique) est également importante. Dans ce contexte, les pathogènes et prédateurs devraient voir leurs cycles de vie modifiés et de nouveaux risques biologiques – non présents actuellement en Europe – pourraient aussi émerger. Plus encore que pour les contraintes abiotiques, ces risques sont très difficiles à anticiper. Selon les régions, des opportunités favorables pourraient se présenter (Nord et Est de l'Europe) ou bien des contraintes plus sévères encore sur des systèmes déjà contraints pourraient se rencontrer. Ceci aura des conséquences sur les systèmes de culture, par exemple le changement d'aire géographique pour certaines grandes cultures ou l'introduction de doubles cultures dans les rotations (Olesen *et al.*, 2011 ; Debaeke *et al.*, 2017). Pour les régions exposées à de plus fortes contraintes, on recherchera ainsi des espèces ou des variétés plus tolérantes à la sécheresse et aux températures élevées, mais aussi des variétés plus résilientes ou plus stables face à la variabilité des conditions climatiques rencontrées. Le développement des doubles cultures et l'extension des aires de culture nécessitera de revoir les durées de cycle et la précocité des variétés au-delà des cibles de sélection actuelles.

Dans le même temps, les nouvelles technologies pour la création végétale, associées aux progrès dans la caractérisation des environnements (« *envirotyping* ») et des méthodes de phénotypage à haut débit, tous deux assistés par l'utilisation de capteurs (drones, phénomobiles) et à la modélisation « du génotype au phénotype » constituent des opportunités pour mieux sélectionner les variétés et les adapter aux environnements et aux usages (Araus et Cairns, 2014 ; Martre *et al.*, 2015 ; Chenu *et al.*, 2017).

Au final, les objectifs de la transition vers l'agroécologie et l'adaptation au changement climatique conduisent à diversifier les cibles de sélection dans les directions suivantes (Cf. rapport du CTPS (Gouleau *et al.*, 2021) « Quelles variétés pour l'agroécologie ? » et liste détaillée des caractères en annexe 3) :

- Élargir la gamme d'espèces à sélectionner tout en maintenant une diversité variétale au sein du catalogue : espèces mineures, plantes de service, mélanges intra- et inter- spécifiques, nouvelles productions pour l'alimentation humaine, espèces sauvages apparentées ;
- Poursuivre/intensifier la recherche de variétés tolérantes/résistantes/efficientes, seules ou en mélanges, ayant ces caractéristiques face à des stress multiples et aléatoires (carences minérales, contraintes hydriques ou thermiques, bioagresseurs) ;
- Sélectionner pour de nouveaux caractères liés aux multiples fonctions des plantes de service, à la composition des nouvelles espèces sélectionnées notamment pour l'alimentation humaine, à l'aptitude des variétés à l'association (agroforesterie, associations céréales-légumineuses) ;
- Développer des variétés adaptées aux changements de pratiques et d'environnements (date de semis, désherbage mécanique, paillis).

Au-delà de la diversification des cibles de sélection, les potentiels « compromis » entre cibles de sélection devront être analysés et pris en compte.

◦ La capacité des méthodes de sélection des plantes à répondre aux besoins de la transition agroécologique et de l'adaptation au changement climatique

L'analyse bibliographique menée sur les applications des techniques d'édition du génome pour des caractères pouvant spécifiquement contribuer à la transition agroécologique de l'agriculture n'a pas mis en évidence à ce jour de réalisations concrètes et probantes, à l'exception près de l'amélioration de la symbiose chez les légumineuses (Bai *et al.*, 2020). Ces caractères, qui sont parfois des caractères complexes, multigéniques, sont encore trop peu étudiés. Contrairement aux traits de tolérance/résistance/efficacité, leurs bases génétiques sont aujourd'hui insuffisamment connues pour être travaillées que ce soit par les méthodes classiques de l'amélioration des plantes ou par les techniques d'édition du génome.

Par ailleurs, une des voies de sélection pour l'agroécologie encore trop peu explorée est d'améliorer des peuplements complexes (par ex. mélanges variétaux ou d'espèces). Ces difficultés ne sont pas spécifiques aux techniques d'édition du génome : on les retrouve en analysant le corpus croisant les techniques de sélection végétale et les caractères « agroécologiques » (Cf. annexe 1). Il est difficile de sélectionner des caractères complexes pour des peuplements complexes pour l'ensemble des approches d'amélioration des plantes : toutes nécessitent une bonne connaissance de la biologie des plantes et de leurs bases génétiques, connaissance qui reste incomplète aujourd'hui.

Diverses revues évoquent les liens possibles entre l'agriculture biologique et l'édition du génome mais davantage sur le plan de l'acceptabilité en tant que technique que de la faisabilité technique (Nawaz *et al.*, 2020).

Chapitre 5

Enjeux économiques⁹

L'analyse s'appuie sur un corpus de 231 publications construit à partir de deux extractions. La première correspond à une partie des 2 415 références du corpus initial utilisées dans le chapitre 3, en filtrant sur des mots clefs représentatifs des sciences sociales (172 références). La seconde correspond à une interrogation des bases de données AHCI et SSCI du WoS d'une part et des revues du WoS dans la catégories «*Agricultural Economics Policy*» d'autre part. Pour cette seconde extraction, les références ont été filtrées sur les mêmes termes d'identification de l'édition du génome que ceux utilisés pour extraire les 2 415 références du corpus initial. 318 références ont été extraites parmi lesquelles 59 références ont été retenues après lecture du titre et du résumé. Les interrogations des bases de données couvrent la période 2000-2020, mais les premières références n'apparaissent qu'en 2011. La médiane se situe en 2019 et près de 25 % des références identifiées sont publiées en 2020 montrant l'importance croissante du sujet.

Les enjeux économiques sur l'édition du génome traités par la littérature s'organisent en trois groupes de questions :

- Comment se structure l'offre d'innovations réalisées à partir de technologies d'édition du génome ? Ceci regroupe des questions relatives à la propriété intellectuelle, aux acteurs économiques et aux pays qui s'engagent sur ces technologies, à l'offre - actuelle ou prochaine - d'innovations selon les pays, et enfin aux avantages de ces technologies par rapport aux autres technologies ou méthodes utilisées en amélioration des plantes ;
- Comment les innovations liées aux technologies d'édition du génome sont, pourraient ou devraient être réglementées et quel est l'impact économique de ces réglementations, notamment sur les stratégies des acteurs susceptibles d'utiliser ces technologies ?
- Quels sont les impacts économiques des innovations liées aux technologies d'édition du génome ? Ces impacts peuvent être évalués à différents niveaux de la filière (agriculteurs, consommateurs, etc.) ou sur l'ensemble de la filière. Quelle est la propension à payer des consommateurs pour les produits alimentaires issus de l'édition du génome en comparaison des produits conventionnels ou des OGM ?

Les analyses sur les enjeux économiques sont récentes et émergentes et ces questions sont traitées de manière inégale. D'une manière générale, l'attention a porté en particulier sur les questions de réglementation et, dans une moindre mesure, sur les questions de propriété intellectuelle et d'impact économique. La littérature présentée ici couvre différentes disciplines de sciences sociales et tout particulièrement l'économie et le droit. Une grande partie de ces travaux sont publiés dans des revues en biologie. Le nombre de publications dans des revues de référence en économie ou autres disciplines de sciences sociales reste encore assez limité. Cette typologie correspond à celle observée sur le sujet des OGM pour lequel les articles en économie ont été principalement produits uniquement après le début de leur diffusion au milieu des années 1990.

♦ Structuration de l'offre d'innovations liées aux technologies d'édition du génome

Les technologies d'édition du génome, leurs développements et applications font l'objet de prises de brevets. Plusieurs publications (Schinkel et Schillberg, 2016 ; Medvedieva et Blume, 2018 ; Martin *et al.*, 2020) s'inté-

⁹ Une version plus complète et actualisée de ce chapitre a été publiée sous la référence suivante : Lemarié, S.; Marette, S., 2022. The socio-economic factors affecting the emergence and impacts of new genomic techniques in agriculture: A scoping review. *Trends in Food Science & Technology*, 129: 38-48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.013>

ressent aux tous premiers brevets déposés sur la technologie CRISPR-Cas et les batailles juridiques, partiellement résolues, entre leurs déposants (Berkeley, Broad Institute, Univ. Vienne, etc.)¹⁰.

Le paysage général des brevets lié à la technologie CRISPR-Cas a été étudié par Martin-Laffon *et al.*, (2019) qui identifient 2072 brevets dans le monde jusqu'à fin 2019¹¹. Cette analyse montre que les déposants sont très majoritairement localisés aux États-Unis et en Chine et sont très généralement des universités ou autres organismes publics de recherche, la part de brevets déposés par des firmes n'étant que de 27 %. Différents travaux montrent que ces technologies permettent de développer un très large éventail d'innovations couvrant de nombreuses espèces végétales et types de caractères. Ceci est à la fois révélateur du caractère très générique de cette technologie, mais aussi possiblement lié au fait que les acteurs économiques explorent l'intérêt de ces technologies pour de multiples usages.

A partir d'une enquête menée auprès de 62 entreprises semencières présentes sur le marché européen, Jorasch (2020) montre que la majorité d'entre elles pense pouvoir introduire de nouvelles variétés basées sur l'édition du génome entre 2025 et 2030. Ce résultat est cohérent avec l'étude du JRC (European Commission, Joint Research Centre, 2021) qui montre que les preuves de concept dans la littérature scientifique, ouvrant la voie à des applications en agriculture, feront rapidement – environ cinq ans – l'objet de produits commerciaux dans les pays pour lesquels la procédure administrative d'autorisation de mise sur le marché est simple ou déréglementée¹². L'exemple du soja riche en acide oléique avec une publication en 2014 (Haun *et al.*, 2014) et une commercialisation en 2020 montre que ce laps de temps est crédible. Dans cette étude, le JRC a recensé deux variétés issues d'édition du génome commercialisées, un soja à teneur élevée en acide oléique aux États-Unis, et une tomate enrichie en GABA au Japon. Quinze autres variétés sont au stade pré-commercial, 117 sont à un stade avancé de recherche et développement (essais au champ pour une partie) et 292 à un stade plus précoce (preuve de concept).

Sherkow (2017) et Contreras et Sherkow (2017) analysent les stratégies de licence des détenteurs des brevets clefs sur la technologie CRISPR-Cas. En général, les licences sont accordées de manière non exclusive pour la recherche fondamentale¹³ ou le développement d'outils. En revanche, chaque détenteur a accordé une licence exclusive à une ou quelques entreprises¹⁴ pour le développement d'innovations à visée commerciale dans le domaine de la santé humaine ou de l'agriculture. Pour ce qui concerne l'application au domaine agricole, Monsanto (racheté par Bayer en juin 2018) a une licence du Broad Institute pour une large gamme d'applications, licence qui impose à Bayer de laisser la possibilité aux agriculteurs de réutiliser leurs semences (Sherkow, 2017 ; Martin *et al.*, 2020). Dupont (devenu Corteva en juin 2019) a une licence exclusive de Caribou Bioscience pour des applications aux principales grandes cultures. Enfin, Bayer a également une licence non exclusive d'ERS Genomics qui exploite les brevets d'Emmanuelle Charpentier dans les domaines non médicaux.

¹⁰. Voir Zyontz et Pomeroy-Carter (2021, pp. 14-16) pour la synthèse la plus récente sur ce point.

¹¹. Voir aussi He *et al.* (2019) et Brinegar *et al.* (2017) pour une analyse plus ancienne (jusqu'en 2017) couvrant un éventail plus large de biotechnologies. Eckerstorfer *et al.* (2019) réalisent une revue de la littérature sur ce point et discutent aussi les enjeux d'évaluation des risques pour les différents types de caractères développés, notamment dans une perspective européenne.

¹². Délai pour la procédure d'autorisation de mise sur le marché de 6 mois à 1 an aux États-Unis sous condition que le demandeur dispose des données requises.

¹³. La diffusion des outils liés à CRISPR est notamment faite par Addgene pour des prix assez modestes.

¹⁴. Ce modèle de licence est appelé «surrogate licencing model» par les auteurs.

◊ La réglementation sur les innovations issues des technologies d'édition du génome

La réglementation est très largement discutée dans la littérature. Les publications s'accordent pour reconnaître le besoin d'évaluer des risques liés aux innovations issues de ces technologies, ou tout au moins certaines d'entre elles. Néanmoins, la manière de conduire ces évaluations est souvent discutée ou critiquée. Par ailleurs, il existe un décalage entre les travaux analysés ici qui se focalisent sur la réglementation, en lien avec l'évaluation des risques, et les travaux sur l'acceptabilité sociale qui couvrent un plus large éventail de questions (Cf. chapitre 6).

Pour ce qui concerne l'autorisation de mise sur le marché, la plupart des articles (Hartung et Schiemann, 2014 ; Ishii et Araki, 2017 ; Medvedieva et Blume, 2018 ; Qaim, 2020 ; Smyth, 2020 ; Tagliabue et Ammann, 2018) opposent une réglementation basée sur le procédé à une réglementation basée sur le produit. Dans une réglementation de produit, les exigences réglementaires ne se réfèrent qu'aux caractéristiques du produit. Dans une réglementation basée sur le procédé, le cadre réglementaire qui s'applique à l'innovation dépend de la méthode utilisée pour créer l'innovation. A titre d'exemple, la réglementation européenne sur les OGM est un cas de réglementation basée principalement sur le procédé puisqu'elle énumère des techniques qui mènent à un OGM (Sprink *et al.*, 2016). Cette réglementation s'applique aussi aux technologies d'édition du génome depuis le 25 juillet 2018, la Cours de justice de l'Union Européenne (CJUE) ayant pris une décision conduisant à définir les innovations issues de ces technologies comme des OGM (Vives-Vallés et Collonnier, 2020).

Différentes comparaisons internationales ont été faites en référence à ces distinctions entre réglementation de procédés et de produits. Aux deux extrêmes, il ressort que la réglementation canadienne est basée sur le produit et la réglementation européenne est basée sur le procédé. Les classements pour les autres réglementations ne sont pas toujours cohérents entre eux. Cela s'explique par le fait que certains aspects de la réglementation se réfèrent au procédé et d'autres se réfèrent au produit, la comparaison la plus détaillée étant celle réalisée par Hamburger (2019).

L'enquête de Jorasch (2020), déjà mentionnée précédemment, montre que la décision de la CJUE a conduit toutes les entreprises de grandes tailles à ne focaliser les applications des technologies d'édition du génome que sur des produits correspondant à des marchés situés en dehors de l'UE. Du côté des petites et moyennes entreprises, la décision de la CJUE les a conduites soit à maintenir leur programme en l'état soit à le ralentir ou l'arrêter. A partir d'une autre enquête du même type, Wesseler *et al.* (2019) montrent que les petites entreprises n'opérant que sur le marché européen sont actuellement relativement peu affectées par la décision de la CJUE puisque cette décision s'applique de la même manière à tous leurs concurrents.

Un autre aspect réglementaire, moins discuté dans la littérature, concerne l'étiquetage des produits issus de ces innovations. En Europe, pour ce qui concerne les OGM, les autorisations de production sont régies par la directive 2001/18/CE alors que l'encadrement, au sein des filières agro-alimentaires, des flux de produits issus de production OGM est régi par les règlements 1829/2003/CE et 1830/2003/CE. Un OGM qui n'est pas autorisé à la production mais autorisé à l'importation ne sera donc régi que par ces deux derniers règlements. Ces règlements imposent un étiquetage et une traçabilité des produits issus d'une production OGM, avec des exigences plus fortes pour les produits autorisés à l'importation et la transformation ¹⁵. Selon Purnhagen et Wesseler (2021), le retard des autorisations que pourrait prendre l'Europe conduirait à des contraintes très fortes en dehors de l'UE. Les auteurs anticipent que certains pays exportant leur production vers l'Europe (et notamment les États-Unis) pourraient subir un «*Brussels effect*» en étant plus réticents à utiliser des innovations issues de ces technologies, au moins pour les cultures exportées.

¹⁵. Pour les produits autorisés à l'importation et la transformation, l'étiquetage est obligatoire pour les produits contenant 0,9 % d'OGM ou plus. Pour les produits non autorisés, mais ayant reçu un avis favorable de l'EFSA, le seuil baisse à 0,1 % pour des usages en alimentation animale et 0 % pour des usages en alimentation humaine.

◦ Les impacts économiques des innovations issues des technologies d'édition du génome

Un premier ensemble de travaux s'intéresse à la propension à payer des consommateurs pour les produits alimentaires obtenus par différentes technologies, dont celles d'édition du génome. D'une manière générale, ces travaux montrent que les consommateurs ont une propension à payer inférieure pour des produits issus de technologies d'édition du génome en comparaison des produits issus d'agriculture conventionnelle¹⁶ (Shew *et al.*, 2018 ; Muringai *et al.*, 2020 ; Yang et Hobbs, 2020 ; Marette *et al.*, 2021). Néanmoins, mis à part Shew *et al.* (2018), ces analyses montrent que la diminution de propension à payer est moins importante pour des produits issus de plantes obtenues par édition du génome par rapport à des produits issus de plantes OGM.

Très peu de travaux étudient l'impact économique des innovations issues de ces technologies sur la filière. Cela s'explique en bonne partie par le fait que l'impact d'une innovation dépend de très nombreux facteurs qu'il est difficile d'anticiper avant la diffusion effective de l'innovation. Une analyse assez complète a été conduite par Maaß *et al.* (2019) sur deux cas d'études : la résistance à une maladie fongique et la création d'un blé sans gluten permettant ainsi de développer une offre pour des consommateurs intolérants à cette substance (maladie cœliaque). A partir d'une enquête auprès d'acteurs de l'ensemble de la filière, les auteurs recensent les facteurs favorables ou défavorables au développement de cette innovation¹⁷. Tous les acteurs s'accordent pour dire que leur adoption est conditionnée par le fait qu'il n'y ait pas de problème d'acceptabilité de la part des consommateurs d'une part et que le prix des produits achetés reste inchangé ou que les conditions d'accès à la technologie ne soient pas restrictives. Le cas du blé sans gluten est particulièrement intéressant parce qu'une telle innovation apporterait une valeur ajoutée importante pour certains consommateurs (Jouanin *et al.*, 2018). Néanmoins, tous les acteurs soulignent les surcoûts liés au fait que cette production devra être séparée de la production standard de blé (contenant du gluten) tout au long de la chaîne, causant ainsi des surcoûts pour séparer les process, contrôler les produits et déclasser les lots dans le cas de contamination.

¹⁶. Les travaux cités ici se concentrent sur les techniques d'édition du génome « au sens strict », ce qui conduit à ne pas considérer les produits issus de cisgénèse. Des résultats similaires sont obtenus dans la comparaison entre cisgénèse et OGM (baisse de propension à payer plus modérée pour la cisgénèse en comparaison d'OGM issus de transgénèse/OGM). Une synthèse de ces résultats est faite par Lusk *et al.* (2018).

¹⁷. L'analyse est faite sous l'hypothèse favorable qu'aucune réglementation particulière n'est mise en œuvre pour ces innovations issues de NGT, au-delà des règlements actuels pour les semences et produits de la chaîne alimentaire.

Chapitre 6

Controverses et perception sociale

Pour cette analyse conduite sur l'accueil au sein de la société de l'édition du génome chez les végétaux, nous nous sommes appuyés sur le corpus de 231 publications communes avec celui utilisé pour le chapitre 5. Nous avons retenu 32 des 231 publications ainsi identifiées, écartant beaucoup de plaidoyers en faveur ou non de l'édition du génome au profit d'articles basés sur l'analyse des faits. Seules les publications parlant de l'édition du génome ont été retenues, même s'il est clair que leur perception sociale se place dans la continuité des débats sur les OGM.

Certains auteurs considèrent que les plantes modifiées par édition du génome ne sont pas des OGM (Bain *et al.*, 2020 ; Eriksson *et al.*, 2020). En Europe, la CJUE a statué en 2018 que les plantes obtenues par édition du génome devaient être considérées comme des OGM et soumis à la même réglementation (Vives-Vallés et Collonnier, 2020). Toutefois, le Conseil de l'Union Européenne a demandé à la Commission Européenne de réévaluer leur statut. Son rapport, publié le 30 avril 2021, identifie la détection des plantes obtenues par édition du génome comme la source d'un problème pour le système réglementaire européen actuel (European Commission, 2021). Comme la présence d'une mutation ne donne pas d'indication sur son origine, il est difficile voire impossible de distinguer les plantes obtenues par édition du génome des plantes obtenues par sélection classique contrairement aux plantes transgéniques. Or pour les réglementer, il faut pouvoir les différencier soit par des moyens analytiques (le plus sûr), soit par un processus de traçabilité le long de la chaîne de production. Aucune de ces deux voies n'est aujourd'hui opérationnelle. La commission note également que le bilan coût/bénéfice des plantes obtenues par édition du génome demeure très controversé. Elle propose de réaliser des analyses complémentaires pour adapter les procédures d'évaluation des risques et d'autorisation aux différents types de technologie de modification du génome afin de créer ensuite un système d'étiquetage qui permettrait le libre choix du consommateur (European Commission, Joint Research Centre, 2021). La feuille de route découlant de cette proposition concerne essentiellement, dans son « *Inception Impact Assessment* »¹⁸, les dimensions techniques, à savoir celles de la biosécurité et de l'étiquetage, elle n'intègre pas les dimensions éthiques.

◊ Garantir la biosécurité et la liberté de choix

La puissance publique mobilise l'arsenal réglementaire pour garantir la biosécurité des plantes obtenues par édition du génome concernant leurs impacts sur l'environnement et la santé (Bechtold, 2018 ; Helliwell *et al.*, 2019 ; de Wit, 2020). Concernant les plantes obtenues par édition du génome de type SDN1 et SDN2 qui n'hébergent pas de transgène, certains auteurs proposent que celles-ci soient exemptées de la réglementation actuelle sur les OGM (Eriksson *et al.*, 2020), selon que la réglementation est basée sur le procédé ou sur le produit. Basée sur le procédé, une plante obtenue par édition du génome doit être considérée comme différente d'une innovation génétique obtenue par sélection conventionnelle. Basée sur le produit, si elle ne peut être différenciée d'un cultivar conventionnel, elle doit être considérée « équivalente en substance » et doit être traitée par le législateur de la même manière (Scheben et Edwards, 2018 ; Eriksson *et al.*, 2020). Bien qu'il soit possible d'étendre l'analyse des risques propres aux OGM aux plantes obtenues par édition du génome et qu'aucun risque spécifique n'ait été identifié (European Commission, 2021), Carroll et Charo (2015) sou-

¹⁸. https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/13119-Legislation-for-plants-produced-by-certain-new-genomic-techniques_en

lignent la difficulté de garantir la sécurité d'un produit issu de nouvelles technologies : des effets inattendus pourraient être associés aux altérations de l'ADN qui parfois accompagnent l'édition du génome des plantes (*off-target* traité au chapitre 2). Ces auteurs avancent la possible existence d'un risque irréductible qui pourrait conduire à une interdiction générale au nom du principe de précaution. Une alternative serait un étiquetage pour les produits issus de plantes obtenus par édition du génome (Tabei *et al.*, 2020). Dans ce cas, le risque serait alors de renforcer les craintes des consommateurs en pointant un danger hypothétique là où il n'y en a pas (Herman *et al.*, 2019).

◊ Un public méfiant à l'égard de l'ingénierie génomique

La perception des OGM par le public a été largement étudiée. La plupart des consommateurs sont réticents à utiliser et à consommer des OGM (Shew *et al.*, 2018). Les recherches menées dans le champ des *Sciences and Technology Studies* montrent que l'aversion pour les biotechnologies qui s'exprime chez beaucoup de personnes procède d'une défiance grandissante vis-à-vis de la Science (<https://www.institutsapiens.fr/la-defiance-des-francais-vis-a-vis-de-la-science/>). Au-delà d'une défiance globale vis-à-vis de la science et des biotechnologies, les techniques d'édition du génome héritent également de l'image négative des OGM qui n'ont pas tenu leurs promesses de lutte contre la faim, de qualité de l'alimentation ou de réduction des pesticides (Bain *et al.*, 2020). Cette aversion varie avec le domaine d'application et la cible : elle augmente en passant du médical à l'alimentaire, la création d'organismes résistants aux herbicides étant l'une des innovations les plus décriées. Elle dépend aussi des porteurs de l'innovation et de qui en bénéficie. Ainsi l'innovation est d'autant moins acceptée qu'elle est portée par une multinationale plutôt que par l'État et sert des intérêts privés plutôt que le bien commun (Rose *et al.*, 2020). Cette aversion s'ancre dans des visions du monde égalitaire ou libertaire rejetant à la fois un ordre social hiérarchique et l'expertise des spécialistes (Yang et Hobbs, 2020) et/ou spirituelle faisant de l'ingénierie génomique une pratique venant défier une autorité supérieure, Dieu ou la Nature (Walker et Malson, 2020).

Tandis que certains acteurs agricoles se disent prêts à cultiver des plantes obtenues par édition du génome, y compris en agriculture biologique (Wickson *et al.*, 2016 ; <http://www.ask-force.org/web/Organotransgenic/Maurin-Niglli-CRISPR-Great-Potential-TAZ-20160406.pdf>), d'autres, marqués par l'hostilité qu'elles suscitent, craignent de ne pas pouvoir vendre facilement leurs produits s'ils en cultivent. Ils redoutent la mise en place d'un étiquetage ou les campagnes médiatiques à leur encontre. Leurs craintes portent également sur une augmentation du prix des semences et un renforcement du monopole de quelques grands semenciers, sur les complications liées à la réglementation, ou encore sur le refus de certains propriétaires fonciers de louer leurs terres pour cultiver des plantes obtenues par édition du génome (Maaß *et al.*, 2019).

◊ Une controverse polarisée et politisée

En l'absence de débat sociétal, la controverse se déploie dans le champ réglementaire au travers d'argumentaires pour les décideurs politiques. Selon Bain *et al.* (2020), le discours des partisans, scientifiques et acteurs de l'industrie semencière, repose sur trois principaux arguments :

- L'équivalence à la sélection conventionnelle. Les variétés obtenues par édition du génome (SDN1 et SDN2) ne sont pas différentes des variétés conventionnelles. De fait, elles devraient bénéficier de la même réglementation et devraient être acceptées par le public et les agriculteurs, quelle que soit la forme d'agriculture (par exemple l'agriculture biologique) (Gheysen et Custers, 2017) ;
- Le moyen de développer plus rapidement des variétés résistantes aux contraintes biotiques et abiotiques ou ayant une meilleure qualité nutritionnelle (de Wit, 2020) ;
- La démocratisation de l'ingénierie génétique (de Wit, 2020). Le pouvoir actuellement détenu par quelques grandes multinationales semencières serait redistribué. En effet, l'édition du génome, par son faible coût,

serait accessible aux PME et aux structures publiques. Ces derniers pourraient alors les utiliser et profiter de l'avance qu'ils ont sur le secteur privé en termes de connaissances sur les caractères végétaux d'intérêt et leurs utilisations dans des systèmes de culture diversifiés. Il serait également possible de les mobiliser dans des Fab-Labs (lieux ouverts au public où il est mis à sa disposition des outils pour concevoir et réaliser des innovations) et d'amener des non-spécialistes à les mettre en œuvre (Martin *et al.*, 2020).

Le discours des détracteurs, mené par des ONG, déplace le débat de la biosécurité vers l'expression démocratique (Zhang *et al.*, 2020c). Pour le réseau Nuffield (Nuffield Council on Bioethics, 2016; Helliwell *et al.* 2019):

La terminologie utilisée est trompeuse et obscure : «édition du génome» suggère que les modifications relèvent du même niveau de contrôle que l'édition d'un texte (Kawall *et al.*, 2020). De plus, le jargon scientifique prive les citoyens d'un débat public;

- La problématisation simpliste suggère qu'il est possible de résoudre des problèmes complexes avec des solutions simples (Clément et Ajena, 2021);
- Les grandes entreprises de biotechnologie et l'agriculture industrielle seront les bénéficiaires de l'innovation;
- Les consommateurs doivent pouvoir choisir quelle que soit leur motivation.

La fédération internationale des mouvements d'agriculture biologique (IFOAM) adopte une posture plus pragmatique laissant, comme le notent Wickson *et al.* (2016), la porte ouverte à l'adoption des variétés obtenues par édition du génome si elles sont développées et utilisées de manière responsable, si leurs avantages sont clairement prouvés, si elles s'inscrivent dans une logique de bien commun et si le consommateur conserve la liberté de choix (IFOAM, 2017).

◉ L'éthique et la responsabilité en recherche

Le *Danish Council on Ethics* met en avant qu'il serait problématique moralement de priver l'agriculteur, consommateur et citoyen européen des bénéfices d'une technologie qui pourrait contribuer à la réduction de l'empreinte environnementale de la production agricole, d'une nourriture plus saine et équilibrée et l'établissement d'une économie circulaire¹⁹. Pour s'extraire des postures idéologiques, la recherche tente alors de se doter d'un code éthique pour agir dans l'intérêt de la société (Scheufele *et al.*, 2021) et regagner la confiance du public. Cela apparaît également plus agile que de construire un cadre réglementaire face à la rapidité des progrès technologiques (Annas *et al.*, 2021). La Commission Européenne a ainsi élaboré une méthode pour la recherche et l'innovation responsables. Elle permet d'apprécier les impacts économiques, socio-culturels et environnementaux des innovations selon quatre principes : anticipation, réflexivité, inclusion et réactivité (Gremmen *et al.*, 2019; European Commission, 2021). Adopter cette dimension éthique amènerait à reconnaître que la complexité des problèmes liée à la durabilité de l'agriculture et de la sécurité alimentaire ne peut être prise en charge par le seul génie génétique. Les innovations issues du génie génétique ont d'ailleurs plutôt tendance à les complexifier par les controverses qu'il soulève (Clément et Ajena, 2021). Appréhender ces problèmes complexes nécessite des approches transdisciplinaires pour trouver des solutions acceptables. C'est le cas par exemple des travaux en cours sur la conception de variétés de céréales sans gluten en collaboration avec des associations de malades cœliaques (Jouanin *et al.*, 2018). La question éthique nécessite que l'engagement du public dans le processus de conception de nouvelles technologies dépasse la simple résolution de problèmes pour traiter la question du monde qu'elles construisent (Hedgecoe, 2010; Helliwell *et al.*, 2019). Ainsi, Kawall *et al.* (2020) soulignent que ce n'est pas parce qu'une technologie est possible et sans risque qu'elle est désirable.

¹⁹. Danish Council on Ethics (2019) GMO and ethics in a new era (<http://www.etiskraad.dk/english/publications/gmo-and-ethics-in-a-new-era>)

L'engagement du public dans un contrôle démocratique direct des technosciences permettrait d'instaurer la confiance, d'améliorer ce qui est fait et de le responsabiliser (Scheufele *et al.*, 2021). Cependant si cette idée est séduisante, obtenir une réelle implication des participants, les former et les informer sur les avancées technologiques et gérer les relations de pouvoir s'avère difficile (Gremmen *et al.*, 2019 ; Scheufele *et al.*, 2021 ; Annas *et al.*, 2021).

Plusieurs auteurs encouragent les chercheurs à organiser un débat éthique avec la société (Scheufele *et al.*, 2020). Pour eux il conviendrait, a minima, d'exposer la manière dont la recherche est conduite : sources de financement, manière de poser le problème, stratégie et méthodes utilisées, idées que se font les chercheurs de comment leurs résultats seront utilisés. Il s'agirait de développer la responsabilité dans la recherche au-delà de la justification comptable ou de l'adhésion à un code éthique. Outre cette nécessaire transparence, il serait judicieux au bénéfice de la création d'un code éthique, d'une labellisation et/ou d'une réglementation, d'instruire la controverse en organisant un débat citoyen (voir Bechtold (2018) pour la labellisation).

◦ L'édition du génome au service de quelle(s) agriculture(s) ?

Si l'éthique consiste à s'interroger sur ce qui doit être, alors il convient de réfléchir au(x) type(s) d'agriculture(s) créé(s) par les nouvelles techniques de sélection végétale, et de se demander si elles peuvent servir différents modèles d'agriculture. Les outils et les innovations ne sont pas neutres : ils véhiculent l'intention de leurs concepteurs quant à la manière de les utiliser et dans quel but. Pour certains auteurs, les plantes obtenues par édition du génome sont clairement conçues pour réduire les impacts négatifs du modèle agricole en place (Martin *et al.*, 2020 ; Clément et Ajena, 2021) : ce que faisant, la technologie d'édition du génome contribue à le faire durer, elle en intègre le réductionnisme et le mode de protection intellectuelle, et lui permet de rester axé sur le profit. L'alternative agroécologique propose de reconcevoir les modes de production en restaurant la biodiversité et les processus écologiques. La production agricole devient alors un des services rendus par le fonctionnement d'un agroécosystème, l'innovation se concentre prioritairement sur les techniques de pilotage de ces processus complexes (Wickson *et al.*, 2016). Dans ce contexte, l'édition du génome pourrait contribuer à créer des ressources biologiques adaptées à une agriculture basée sur la biodiversité. La question est alors d'étudier ses capacités à contribuer à préserver le bien commun et le libre accès aux ressources génétiques, à produire des bénéfices durables et à la portée de tous les pays, quel que soit le niveau de développement.

Lorsque de Wit (2020) interroge les praticiens qui déploient les outils génomiques, ceux-ci expriment leur pessimisme face à ces interrogations. Bien que la mise en œuvre de l'édition du génome soit relativement bon marché chez les plantes, les connaissances nécessaires, le financement et l'infrastructure requis pour produire, par cette technologie, des variétés économiquement viables ne sont pas à la portée de tous. Les populations des pays du Sud n'en profitent pas toujours (De Roij, 2020). Pour véritablement servir l'agroécologie, le développement des techniques d'édition du génome devra parvenir à s'extirper des verrouillages socio-techniques produits par le régime dominant dans lequel il opère actuellement.

Conclusion :

Synthèse et suites à donner

Cette conclusion s'inscrit en cohérence et en complémentarité avec l'avis rendu en 2018 par le comité consultatif commun d'éthique Inra-Cirad-Ifremer sur les nouvelles techniques d'amélioration génétique des plantes²⁰ ainsi que la stratégie d'INRAE en matière d'utilisation des technologies d'édition du génome végétal²¹.

◊ Principe

Le principe de l'édition du génome est de provoquer une ou plusieurs mutations de façon ciblée au niveau d'un ou de plusieurs gènes qui sont à l'origine d'un caractère d'intérêt agronomique. Cette mutagenèse provoquée pourrait théoriquement également avoir lieu en conditions naturelles sur un horizon de temps plus ou moins long. Par les approches SDN1 et SDN2, la plante obtenue ne contient pas de matériel génétique exogène dans son génome. C'est donc par la connaissance des bases génétiques des caractères d'intérêt agronomique et de leur diversité que l'on peut cibler le ou les gènes à modifier et définir la nature de la modification.

◊ Intérêts

L'édition du génome chez les végétaux constitue une nouvelle technologie basée sur la mutagenèse ciblée pour la sélection génétique qui vient s'ajouter aux techniques de sélection massale, d'hybridation intra- et inter-spécifique, de sélection assistée par marqueurs, de sélection génomique, d'haplo-diploïdisation ou bien de mutagenèse non ciblée. Elle présente plusieurs intérêts par rapport aux outils actuellement utilisés :

- Un gain en précision : en ciblant précisément les modifications sur un ou plusieurs gènes, (i) on s'affranchit du possible fardeau génétique des gènes voisins qui est souvent introduit en sélection génétique classique, notamment via l'introgression de blocs de gènes à partir d'espèces sauvages et (ii) on ne dépend pas des mutations aléatoires provoquées par des agents mutagènes.
- Un élargissement de la diversité génétique disponible (à noter que ceci était déjà le cas avec les autres techniques de mutagenèse provoquée pratiquées depuis près d'un siècle).
- Une possibilité de cumuler plusieurs mutations simultanément dans un même gène ou dans plusieurs gènes (multiplexage), y compris de gènes génétiquement liés, ce qui n'est pas possible avec les autres techniques de mutagenèse.
- Un gain de temps lors des étapes de sélection en réduisant le nombre de générations grâce à la conversion simultanée des allèles d'intérêt. Ce gain serait en théorie particulièrement intéressant pour des espèces à cycle pluriannuel, notamment pour les espèces forestières, la vigne et les espèces pour l'arboriculture.
- Un coût de recherche qui n'est pas trop élevé (hormis l'accès à la technologie et le coût de régulation) et qui pourrait permettre à des entreprises de taille moyenne d'investir dans ces technologies.

Ainsi, l'édition du génome est une technologie qui pourrait également permettre de faciliter l'amélioration des espèces dites orphelines qui ont peu bénéficié des innovations de la sélection génétique. Elle pourrait également, pour des espèces cultivées dont les gènes de domestication sont connus, accélérer la domestication d'espèces sauvages apparentées.

²⁰. <https://www.inrae.fr/sites/default/files/pdf/Avis-11-Comite-Ethique.pdf>

²¹. <https://www.inrae.fr/actualites/strategie-dinrae-matiere-dutilisation-technologies-dedition-du-genome-vegetal>

◊ Limites

L'édition du génome chez les végétaux présente cependant aujourd'hui plusieurs limites :

- Elle nécessite la connaissance des bases génétiques des caractères d'intérêt agronomique visés : au minimum un gène majeur, idéalement la structure de chaque gène impliqué et de ses allèles. Cette connaissance peut s'appuyer sur la génomique fonctionnelle et sur la génétique quantitative.
- Elle se heurte, comme les autres techniques de sélection végétale, à la difficulté d'améliorer des caractères polygéniques, comme le sont souvent les caractères d'intérêt agroécologique.
- Avec les protocoles actuels exigeant la régénération somatique, il n'est pas possible de réaliser d'édition du génome sur certaines espèces végétales (par ex. pois, haricot, niébé, tournesol) ou certaines lignées « élites » (par ex. la plupart des variétés de maïs) d'intérêt agroécologique.
- Elle nécessite de revoir les schémas de sélection qui doivent être optimisés pour chaque espèce suivant les cibles recherchées, les gènes connus et les facilités de mise en œuvre.
- Comme pour toute technologie émergente dans le secteur de la sélection génétique et des semences, elle en reste encore au stade de promesses pour trouver un marché dans le domaine de l'agroécologie : quels caractères ? quels modèles économiques ? quelle place pour les différents types d'entreprises semencières ? quelles réglementations ? Par exemple, les améliorations faites sur cette technologie et les innovations qui en sont issues sont protégées ou pourraient être protégées par brevet, avec des règles différentes selon les pays. Cette brevetabilité pourrait conduire à terme à un renforcement des pouvoirs de marché de certaines firmes.
- Les consommateurs ont une plus faible propension à payer pour des produits issus de ces technologies que pour des produits conventionnels. Cette baisse de consentement à payer reste néanmoins plus faible que celle pour les produits OGM, mais elle peut néanmoins réduire fortement le marché.

Compte tenu de la quasi-absence de production en OGM en Europe, il est possible que des variétés présentant des caractères obtenus par édition du génome ne puissent pas se diffuser en Europe, limitant ainsi l'intérêt de cette technique pour l'amélioration des plantes pour le marché européen.

◊ Intérêts pour la transition agroécologique et pour l'adaptation au changement climatique

La transition agroécologique des systèmes agricoles et leur adaptation au changement climatique imposent leur reconception, au-delà des innovations incrémentales que représentent les améliorations d'efficacité des intrants apportés (par ex. l'agriculture de précision) ou les substitutions de techniques (par ex. le remplacement du désherbage chimique par du désherbage mécanique ou d'une variété sensible par une variété résistante à un bioagresseur). Pour chacune de ces modalités d'évolution des systèmes agricoles, il y a une plus grande diversité de caractères et d'espèces que la génétique et l'innovation variétale ont à considérer. Par exemple, concevoir des variétés très productives et compter sur l'apport de précision de pesticides pour contrôler ces maladies en système de culture conventionnel *versus* mettre en place une plante compagne pour attirer un insecte nuisible à la culture principale et concevoir des variétés de chacune des deux cultures associées pour minimiser la compétition pour les ressources en système de culture agroécologique.

Quels sont dans ce contexte les intérêts de la technologie de l'édition du génome ? Nous proposons de distinguer deux grandes formes d'agriculture :

- Des systèmes agricoles bas-intrants ou éco-efficents (*cf.* annexe 2) qui cherchent avant tout à réduire les externalités négatives de l'agriculture en réduisant l'usage des intrants de synthèse ou à adapter la culture de rente aux stress climatiques sans reconcevoir le système en lui-même. Typiquement, (1) augmenter la résistance d'une variété à une maladie pour réduire l'utilisation de fongicides sans chercher à réduire la

pression globale de la maladie, (2) augmenter la tolérance à des températures élevées, sans envisager un complément de protection par ombrage. Dans ce cas, peu importe que les caractères concernés aient des bases génétiques simples (par ex. résistance à une maladie) ou complexes (par ex. tolérance à la sécheresse), l'édition du génome a apporté des preuves de concept, au moins en environnement confiné, elle est a priori intéressante et efficace pour les améliorer.

- Des systèmes agroécologiques (cf. annexe 2) qui cherchent avant tout à promouvoir la biodiversité, les interactions écologiques et les services écosystémiques. L'objectif est alors, par exemple, de (1) mettre au point une variété susceptible de fixer l'azote de l'air d'une espèce non légumineuse en modifiant les interactions entre la plante et les micro-organismes du sol, (2) mettre en place une plante compagne pour attirer un insecte nuisible à la culture principale et concevoir des variétés de chaque espèce des deux cultures associées pour minimiser la compétition pour les ressources. Dans ce cas, les bases génétiques des caractères concernés restent largement à découvrir et l'édition du génome est dépendante des avancées de la connaissance scientifique relative au fonctionnement des plantes dans leurs écosystèmes. L'amélioration du taux de nodulation d'une légumineuse ou de l'interaction entre une mycorhize arbusculaire et sa plante hôte par édition du génome attestent l'accessibilité de ce type de caractère par la technique. De même, alors que la phénologie est un caractère génétiquement complexe (plus de 30 gènes chez le maïs), la modification de deux de ces gènes par édition du génome peut engendrer des écarts de durée de cycle jusqu'à 10 jours. Enfin, du fait de l'élargissement de la diversité génétique disponible, l'édition du génome peut contribuer à améliorer un caractère aujourd'hui peu variable ou bien à améliorer une nouvelle espèce d'intérêt agroécologique.

◊ Les controverses

Les controverses sont liées à la place de la Nature et de la Technologie dans les sociétés :

- Pour ou contre les manipulations génétiques des organismes vivants, aléatoires ou ciblées, avec ou sans introduction de matériel génétique extérieur dans le génome de la cellule : quelle relation à la Nature ? L'homme est-il légitime pour façonner la nature à sa guise ? A quel degré et avec quelles limites ?
- La liberté du choix, de l'agriculteur comme du consommateur. Cela pose la question de la transparence et de la traçabilité des modifications obtenues par édition du génome tout au long de la chaîne de valeur, du laboratoire à l'assiette, de la mise en place d'un étiquetage des semences et des produits alimentaires équivalents à celui utilisé pour les OGM pour le consommateur. Cependant et contrairement aux OGM, il est techniquement extrêmement délicat de détecter des mutations inconnues (c'est-à-dire non communiquées par le producteur) et impossible de les attribuer à la technique.
- Pour ou contre certaines formes d'agriculture : il y a un report sur les technologies de sélection végétale de la question amont du type d'agriculture et de société que l'on souhaite du fait d'une relation, pour certains citoyens, entre la technologie, l'organisation du marché des semences (place des multinationales) et les formes d'agriculture (agriculture plus ou moins intensive en intrants exogènes à l'écosystème cultivé).
- Des choix technologiques qui peuvent être liés à des choix sociétaux, qui nécessitent de renforcer, d'éclairer le débat sociétal.

◊ Les suites

Pour alimenter les réflexions sur l'utilisation ou non de l'édition du génome, plusieurs axes de travail sont à envisager dans le cadre de programmes d'écologisation des systèmes agricoles et de leur adaptation au changement climatique. Il est au préalable indispensable de poser que la réponse aux enjeux d'écologisation des systèmes agricoles et de leur adaptation au changement climatique ne peut pas se baser sur une seule technologie, l'édition du génome, voire un seul levier, l'amélioration variétale, mais bien sur une combinaison de leviers au sein d'un système de production cohérent dont la mise au point nécessite la mobilisation des

sciences biologiques, sciences agronomiques et sciences sociales.

Les différents axes proposés sont les suivants :

- Acquérir des connaissances, dans le domaine des sciences de la vie : (i) sur les bases génétiques des caractères agronomiques permettant de concevoir des systèmes de production agroécologiques, notamment la réponses aux stress biotiques et abiotiques et les interactions entre plantes, entre la plante et son microbiote et (ii) sur le fonctionnement des agroécosystèmes, sur la biodiversité associée à la biodiversité planifiée et les services rendus par les écosystèmes, et *in fine* sur les caractères des plantes à considérer.
- Améliorer, dans le domaine des sciences de l'ingénieur, l'ensemble des techniques de phénotypage, y compris en plein champ, pour être en capacité de tester rapidement l'intérêt de travailler ou non sur certains caractères, et également les techniques d'édition de génomes pour qu'elles puissent être utilisées chez toutes les espèces et variétés d'intérêt.
- Engager des travaux dans les domaines des sciences sociales sur les effets des stratégies de propriété intellectuelle sur l'organisation de l'offre, les pouvoirs de marché en amont de l'agriculture (offre de semence), les effets de la réglementation (évaluation des risques, analyse économique, liens entre réglementation et perception des risques par la société), les impacts économiques de l'introduction des innovations, à la fois au niveau de l'exploitation agricole mais aussi de l'ensemble de la filière jusqu'au consommateur (*cf.* l'économie de la promesse) ainsi que la justification, l'intérêt et le rôle de l'étiquetage des produits alimentaires.
- Étudier l'intérêt de l'édition du génome pour la transition agroécologique et l'adaptation au changement climatique pour améliorer certains caractères intervenant dans les interactions plante-bioagresseurs, les interactions plante-microorganismes, notamment du sol (symbioses mycorhiziennes ou fixatrices d'azote, microbiote non symbiotique bénéfique), les interactions plante-plante (compétition avec les adventices, complémentarité au sein des associations d'espèces, optimisation des cycles de végétation en travaillant les caractères d'architecture aérienne et racinaire) et l'allélopathie (caractères du métabolisme).
- Associer à la conduite des programmes de recherche, l'organisation de débats sociétaux sur la place de la technologie, notamment de l'ingénierie génomique végétale, dans la recherche, la coexistence de différentes formes d'agriculture et la place de la Nature dans nos sociétés.

Le PEPR «Sélection végétale avancée pour faire face au défi climatique et à la transition agroécologique», au sein de la Stratégie d'accélération «Systèmes agricoles durables et équipements agricoles contribuant à la transition écologique» de France 2030 et coordonné par INRAE est un des programmes qui permettra d'aborder certains des axes de recherche proposés.



Liste des références bibliographiques

- Alagoz, Y.; Gurkok, T.; Zhang, B.H.; Unver, T., 2016. Manipulating the Biosynthesis of Bioactive Compound Alkaloids for Next-Generation Metabolic Engineering in Opium Poppy Using CRISPR-Cas 9 Genome Editing Technology. *Scientific Reports*, 6: 9. <http://dx.doi.org/10.1038/srep30910>
- Altieri, M.A.; Nicholls, C.I.; Henao, A.; Lana, M.A., 2015. Agroecology and the design of climate change-resilient farming systems. *Agronomy for Sustainable Development*, 35 (3): 869-890. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-015-0285-2>
- Annas, G.J.; Beisel, C.L.; Clement, K.; Crisanti, A.; Francis, S.; Galardini, M.; Galizi, R.; Grunewald, J.; Immobile, G.; Khalil, A.S.; Muller, R.; Pattanayak, V.; Petri, K.; Paul, L.; Pinello, L.; Simoni, A.; Taxiarchi, C.; Joung, J.K., 2021. A Code of Ethics for Gene Drive Research. *Crispr Journal*, 4 (1): 7. <http://dx.doi.org/10.1089/crispr.2020.0096>
- Araus, J.L.; Cairns, J.E., 2014. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. *Trends in Plant Science*, 19 (1): 52-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2013.09.008>
- Bai, M.Y.; Yuan, J.H.; Kuang, H.Q.; Gong, P.P.; Li, S.N.; Zhang, Z.H.; Liu, B.; Sun, J.F.; Yang, M.X.; Yang, L.; Wang, D.; Song, S.K.; Guan, Y.F., 2020. Generation of a multiplex mutagenesis population via pooled CRISPR-Cas9 in soya bean. *Plant Biotechnology Journal*, 18 (3): 721-731. <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.13239>
- Bain, C.; Lindberg, S.; Selfa, T., 2020. Emerging sociotechnical imaginaries for gene edited crops for foods in the United States: implications for governance. *Agriculture and Human Values*, 37 (2): 265-279. <http://dx.doi.org/10.1007/s10460-019-09980-9>
- Bari, V.K.; Abu Nasser, J.; Kheredin, S.M.; Gal-On, A.; Ron, M.; Britt, A.; Steele, D.; Yoder, J.; Aly, R., 2019. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE 8 in tomato provides resistance against the parasitic weed *Phelipanche aegyptiaca*. *Scientific Reports*, 9: 12. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-47893-z>
- Bastet, A.; Lederer, B.; Giovinazzo, N.; Arnoux, X.; German-Retana, S.; Reinbold, C.; Brault, V.; Garcia, D.; Djennane, S.; Gersch, S.; Lemaire, O.; Robaglia, C.; Gallois, J.L., 2018. Trans-species synthetic gene design allows resistance pyramiding and broad-spectrum engineering of virus resistance in plants. *Plant Biotechnology Journal*, 16 (9): 1569-1581. <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.12896>
- Bastet, A.; Zafirov, D.; Giovinazzo, N.; Guyon-Debast, A.; Nogue, F.; Robaglia, C.; Gallois, J.L., 2019. Mimicking natural polymorphism in eIF4E by CRISPR-Cas9 base editing is associated with resistance to potyviruses. *Plant Biotechnology Journal*, 17 (9): 1736-1750. <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.13096>
- Bechtold, S., 2018. Beyond Risk Considerations: Where and How Can a Debate About Non-safety Related Issues of Genome Editing in Agriculture Take Place? *Frontiers in Plant Science*, 9: 5. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.01724>
- Bellis, E.S.; Kelly, E.A.; Lorts, C.M.; Gao, H.R.; Deleo, V.L.; Rouhan, G.; Budden, A.; Bhaskara, G.B.; Hu, Z.B.; Muscarella, R.; Timko, M.P.; Nebie, B.; Runo, S.M.; Chilcoat, N.D.; Juenger, T.E.; Morris, G.P.; dePamphilis, C.W.; Lasky, J.R., 2020. Genomics of sorghum local adaptation to a parasitic plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117 (8): 4243-4251. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1908707117>
- Brinegar, K.; Yetisen, A.K.; Choi, S.; Vallillo, E.; Ruiz-Esparza, G.U.; Prabhakar, A.M.; Khademhosseini, A.; Yun, S.H., 2017. The commercialization of genome-editing technologies. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37 (7): 924-932. <http://dx.doi.org/10.1080/07388551.2016.1271768>
- Carroll, D.; Charo, R.A., 2015. The societal opportunities and challenges of genome editing. *Genome Biology*, 16: 242, 9 p. <http://dx.doi.org/10.1186/s13059-015-0812-0>
- Charrier, A.; Vergne, E.; Dousset, N.; Richer, A.; Petiteau, A.; Chevreau, E., 2019. Efficient Targeted Mutagenesis in Apple and First Time Edition of Pear Using the CRISPR-Cas9 System. *Frontiers in Plant Science*, 10: 12. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2019.00040>
- Chenu, K.; Porter, J.R.; Martre, P.; Basso, B.; Chapman, S.C.; Ewert, F.; Bindi, M.; Asseng, S., 2017. Contribution of Crop Models to Adaptation in Wheat. *Trends in Plant Science*, 22 (6): 472-490. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2017.02.003>
- Clement, C.; Ajena, F., 2021. Paths of least resilience: advancing a methodology to assess the sustainability of food system innovations-the case of CRISPR. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 45 (5): 637-653. <http://dx.doi.org/10.1080/21683565.2021.1890307>

- Contreras, J.L.; Sherkow, J.S., 2017. CRISPR, surrogate licensing, and scientific discovery. *Science*, 355 (6326): 698-700. <http://dx.doi.org/10.1126/science.aal4222>
- De Roij, S.Y., 2020. *Gene-editing crops to benefit smallholder farmers in developing countries: Realised potential or empty claims of inclusive innovation?* Thesis. Utrecht University.
- De Wit, M.M., 2020. Democratizing CRISPR? Stories, practices, and politics of science and governance on the agricultural gene editing frontier. *Elementa-Science of the Anthropocene*, 8: 34. <http://dx.doi.org/10.1525/elementa.405>
- Debaeke, P.; Casadebaig, P.; Langlade, N.B., 2021. New challenges for sunflower ideotyping in changing environments and more ecological cropping systems. *Oil-Seed and Fat Crops and Lipids*, 28: 23. <http://dx.doi.org/10.1051/ocl/2021016>
- Debaeke, P.; Pellerin, S.; Scopel, E., 2017. Climate-smart cropping systems for temperate and tropical agriculture: mitigation, adaptation and trade-offs. *Cah. Agric.*, 26 (3): 34002. <https://doi.org/10.1051/cagri/2017028>
- Duc, G.; Agrama, H.; Bao, S.Y.; Berger, J.; Bourion, V.; De Ron, A.M.; Gowda, C.L.L.; Mikic, A.; Millot, D.; Singh, K.B.; Tullu, A.; Vandenberg, A.; Patto, M.C.V.; Warkentin, T.D.; Zong, X.X., 2015. Breeding Annual Grain Legumes for Sustainable Agriculture: New Methods to Approach Complex Traits and Target New Cultivar Ideotypes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34 (1-3): 381-411. <http://dx.doi.org/10.1080/07352689.2014.898469>
- Duru, M.; Therond, O.; Martin, G.; Martin-Clouaire, R.; Magne, M.A.; Justes, E.; Journet, E.P.; Aubertot, J.N.; Savary, S.; Berge, J.E.; Sarthou, J., 2015. How to implement biodiversity-based agriculture to enhance ecosystem services: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35 (4): 1259-1281. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-015-0306-1>
- Eckerstorfer, M.F.; Dolezel, M.; Heissenberger, A.; Miklau, M.; Reichenbecher, W.; Steinbrecher, R.A.; Wassmann, F., 2019. An EU Perspective on Biosafety Considerations for Plants Developed by Genome Editing and Other New Genetic Modification Techniques (nGMs). *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7: article 31, 21 p. <http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2019.00031>
- Eriksson, D.; Custers, R.; Bjornberg, K.E.; Hansson, S.O.; Purnhagen, K.; Qaim, M.; Romeis, J.; Schiemann, J.; Schleissing, S.; Tosun, J.; Visser, R.G.F., 2020. Options to Reform the European Union Legislation on GMOs: Scope and Definitions. *Trends in Biotechnology*, 38 (3): 231-234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.12.002>
- European Commission, Directorate-General for Research and Innovation, 2017. *New techniques in agricultural biotechnology*. Publications Office (Explanatory Note 02/2017), 149 p. <https://dx.doi.org/10.2777/574498>
- European Commission, 2021. *Study on the status of new genomic techniques under Union law and in light of the Court of Justice ruling in Case C-528/16, Commission staff working document*. Brussels: European Commission, (SWD(2021) 92 final), 116 p. https://ec.europa.eu/food/document/download/5135278b-3098-4011-a286-a316209c01cd_en
- European Commission; Joint Research Centre; Parisi, C.; Rodríguez-Cerezo, E., 2021. *Current and future market applications of new genomic techniques*. Luxembourg: Publications Office, JRC Science for Policy Report, 49 p. <http://dx.doi.org/10.2760/02472>
- Fei, C.; Yu, J.H.; Xu, Z.J.; Xu, Q., 2019. Erect panicle architecture contributes to increased rice production through the improvement of canopy structure. *Molecular Breeding*, 39 (9): 11. <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-019-1037-9>
- Fess, T.L.; Kotcon, J.B.; Benedito, V.A., 2011. Crop Breeding for Low Input Agriculture: A Sustainable Response to Feed a Growing World Population. *Sustainability*, 3 (10): 1742-1772. <http://dx.doi.org/10.3390/su3101742>
- Gaut, B.S.; Diez, C.M.; Morrell, P.L., 2015. Genomics and the Contrasting Dynamics of Annual and Perennial Domestication. *Trends in Genetics*, 31 (12): 709-719. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2015.10.002>
- Gheysen, G.; Custers, R., 2017. Why Organic Farming Should Embrace Co-Existence with Cisgenic Late Blight-Resistant Potato. *Sustainability*, 9 (2): 11. <http://dx.doi.org/10.3390/su9020172>
- Gouleau, A.; Gauffreteau, A.; This, P.; Tailliez-Lefebvre, D.; Gombert, J.; Gouache, D.; Bakan, B.; Cordeau, S.; Enjalbert, J.; Laperche, A.; Leclère, V.; Lheureux, F.; Mazza, V.; Moquet, F.; Wagner, A.; Bernicot, M.-H.; Fontaine, L.; Bertoux, V., & Huyghe, C., 2021. Saisine du Comité Scientifique CTPS - Quelles variétés pour l'agroécologie ? INRAE. <https://doi.org/10.17180/MEZ5-YV03>
- Gremmen, B.; Blok, V.; Bovenkerk, B., 2019. Responsible Innovation for Life: Five Challenges Agriculture Offers for Responsible Innovation in Agriculture and Food, and the Necessity of an Ethics of Innovation. *Journal of Agricultural & Environmental Ethics*, 32 (5-6): 673-679. <http://dx.doi.org/10.1007/s10806-019-09808-w>
- Hamburger, D., 2019. Comparative Analysis: The Regulation of Plants Derived from Genome Editing in

- Argentina, Australia, Canada, the European Union, Japan and the United States. In: Dederer, H.G.; Hamburger, D., eds. *Regulation of Genome Editing in Plant Biotechnology*. Cham: Springer, 313-363.
http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-17119-3_8
- Han, J.N.; Guo, B.F.; Guo, Y.; Zhang, B.; Wang, X.B.; Qiu, L.J., 2019. Creation of Early Flowering Germplasm of Soybean by CRISPR/Cas9 Technology. *Frontiers in Plant Science*, 10: 10.
<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2019.01446>
- Hartung, F.; Schiemann, J., 2014. Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU. *Plant Journal*, 78 (5): 742-752. <http://dx.doi.org/10.1111/tpj.12413>
- Haun, W.; Coffman, A.; Clasen, B.M.; Demorest, Z.L.; Lowy, A.; Ray, E.; Retterath, A.; Stoddard, T.; Juillerat, A.; Cedrone, F.; Mathis, L.; Voytas, D.F.; Zhang, F., 2014. Improved soybean oil quality by targeted mutagenesis of the fatty acid desaturase 2 gene family. *Plant Biotechnology Journal*, 12 (7): 934-940.
<http://dx.doi.org/10.1111/pbi.12201>
- Jayut, S.F.; Bessudo, C.M.; Levy, A.A., 2017. Targeted recombination between homologous chromosomes for precise breeding in tomato. *Nature Communications*, 8: 9.
<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms15605>
- He, W.; Zhao, H.M.; Yang, X.W.; Zhang, R.; Wang, J.J., 2019. Patent analysis provides insights into the history of cotton molecular breeding worldwide over the last 50 years. *Journal of Integrative Agriculture*, 18 (3): 539-552.
[http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119\(18\)62012-x](http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119(18)62012-x)
- Hedgecoe, A., 2010. Bioethics and the Reinforcement of Socio-technical Expectations. *Social Studies of Science*, 40 (2): 163-186. <http://dx.doi.org/10.1177/0306312709349781>
- Helliwell, R.; Hartley, S.; Pearce, W., 2019. NGO perspectives on the social and ethical dimensions of plant genome-editing. *Agriculture and Human Values*, 36 (4): 779-791.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10460-019-09956-9>
- Herman, R.A.; Fedorova, M.; Storer, N.P., 2019. Will Following the Regulatory Script for GMOs Promote Public Acceptance of Gene-Edited Crops? *Trends in Biotechnology*, 37 (12): 1272-1273.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.06.007>
- IFOAM, 2017. *Compatibility of Breeding Techniques in Organic Systems: position paper*: IFOAM-Organics International, 28 p.
https://www.ifoam.bio/sites/default/files/2020-03/Breeding_position_paper_v01_web_0.pdf
- Ishii, T.; Araki, M., 2017. A future scenario of the global regulatory landscape regarding genome-edited crops. *Gm Crops & Food-Biotechnology in Agriculture and the Food Chain*, 8 (1): 44-56.
<http://dx.doi.org/10.1080/21645698.2016.1261787>
- Ito, Y.; Nishizawa-Yokoi, A.; Endo, M.; Mikami, M.; Shima, Y.; Nakamura, N.; Kotake-Nara, E.; Kawasaki, S.; Toki, S., 2017. Re-evaluation of the rin mutation and the role of RIN in the induction of tomato ripening. *Nature Plants*, 3 (11): 866-874.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41477-017-0041-5>
- Jacquier, N.M.A.; Gilles, L.M.; Pyott, D.E.; Martinant, J.P.; Rogowsky, P.M.; Wdziez, T., 2020. Puzzling out plant reproduction by haploid induction for innovations in plant breeding. *Nature Plants*, 6 (6): 610-619.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41477-020-0664-9>
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E., 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 337:816-821.
<http://dx.doi: 10.1126/science.1225829>.
- Jorasch, P., 2020. Potential, Challenges, and Threats for the Application of New Breeding Techniques by the Private Plant Breeding Sector in the EU. *Frontiers in Plant Science*, 11: 13.
<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2020.582011>
- Jouanin, A.; Boyd, L.; Visser, R.G.F.; Smulders, M.J.M., 2018. Development of Wheat With Hypoimmunogenic Gluten Obstructed by the Gene Editing Policy in Europe. *Frontiers in Plant Science*, 9: 8.
<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.01523>
- Kaur, N.; Alok, A.; Shivani; Kumar, P.; Kaur, N.; Awasthi, P.; Chaturvedi, S.; Pandey, P.; Pandey, A.; Pandey, A.K.; Tiwari, S., 2020. CRISPR/Cas9 directed editing of lycopene epsilon-cyclase modulates metabolic flux for beta-carotene biosynthesis in banana fruit. *Metabolic Engineering*, 59: 76-86.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ymben.2020.01.008>
- Kawall, K.; Cotter, J.; Then, C., 2020. Broadening the GMO risk assessment in the EU for genome editing technologies in agriculture. *Environmental Sciences Europe*, 32 (1): 24.
<http://dx.doi.org/10.1186/s12302-020-00361-2>
- Kusch, S.; Panstruga, R., 2017. mlo-Based Resistance: An Apparently Universal "Weapon" to Defeat Powdery Mildew Disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30 (3): 179-189.
<http://dx.doi.org/10.1094/mpmi-12-16-0255-cr>
- Lemarie, S.; Marette, S., 2022. The socio-economic factors affecting the emergence and impacts of new genomic

- techniques in agriculture: A scoping review. *New Genetics and Society Trends in Food Science & Technology*, 129: 38-48.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.013>
- Lemmon, Z.H.; Reem, N.T.; Dalrymple, J.; Soyk, S.; Swartwood, K.E.; Rodriguez-Leal, D.; Van Eck, J.; Lippman, Z.B., 2018. Rapid improvement of domestication traits in an orphan crop by genome editing. *Nature Plants*, 4 (10): 766-770. <http://dx.doi.org/10.1038/s41477-018-0259-x>
- Li, J.; Wang, Z.; He, G.M.; Ma, L.G.; Deng, X.W., 2020. CRISPR/Cas9-mediated disruption of TaNP1 genes results in complete male sterility in bread wheat. *Journal of Genetics and Genomics*, 47 (5): 263-272.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jgg.2020.05.004>
- Lotz, L.A.P.; van de Wiel, C.C.M.; Smulders, M.J.M., 2020. Genetic engineering at the heart of agroecology. *Outlook on Agriculture*, 49 (1): 21-28.
<http://dx.doi.org/10.1177/0030727020907619>
- Lu, K.; Wu, B.W.; Wang, J.; Zhu, W.; Nie, H.P.; Qian, J.J.; Huang, W.T.; Fang, Z.M., 2018. Blocking amino acid transporter OsAAP3 improves grain yield by promoting outgrowth buds and increasing tiller number in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 16 (10): 1710-1722.
<http://dx.doi.org/10.1111/pbi.12907>
- Lusk, J.L.; McFadden, B.R.; Wilson, N., 2018. Do consumers care how a genetically engineered food was created or who created it? *Food Policy*, 78: 81-90.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodpol.2018.02.007>
- Lusser M, Parisi C, Rodriguez Cerezo E, Plan D. New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development. EUR 24760 EN. Luxembourg (Luxembourg): Publications Office of the European Union; 2011. JRC6397. <http://dx.doi.org/10.2791/54761>
- Ma, X.N.; Zhang, X.Y.; Liu, H.M.; Li, Z.H., 2020. Highly efficient DNA-free plant genome editing using virally delivered CRISPR-Cas9. *Nature Plants*, 6 (7): 773-779.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41477-020-0704-5>
- Maass, O.; Consmuller, N.; Kehlenbeck, H., 2019. Socioeconomic Impact of Genome Editing on Agricultural Value Chains: The Case of Fungal-Resistant and Coeliac-Safe Wheat. *Sustainability*, 11 (22): 26.
<http://dx.doi.org/10.3390/su11226421>
- Marette, S.; Disdier, A.C.; Beghin, J.C., 2021. A comparison of EU and US consumers' willingness to pay for gene-edited food: Evidence from apples. *Appetite*, 159: 11.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2020.105064>
- Martin, P.; Morrison, M.; Turkmendag, I.; Nerlich, B.; McMahon, A.; de Saille, S.; Bartlett, A., 2020. Genome editing: the dynamics of continuity, convergence, and change in the engineering of life. *New Genetics and Society*, 39 (2): 219-242.
<http://dx.doi.org/10.1080/14636778.2020.1730166>
- Martin-Laffon, J.; Kuntz, M.; Ricroch, A.E., 2019. Worldwide CRISPR patent landscape shows strong geographical biases. *Nature Biotechnology*, 37 (6): 613-620. <http://dx.doi.org/10.1038/s41587-019-0138-7>
- Martre, P.; Quilot-Turion, B.; Luquet, D.; Memmah, M.; Chenu, K.; Debaeke, P., 2015. Model-assisted phenotyping and ideotype design. London: Academic Press Ltd-Elsevier Science Ltd (*Crop Physiology: Applications for Genetic Improvement and Agronomy, 2nd Edition*).
<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-417104-6.00014-5>
- Medvedieva, M.O.; Blume, Y.B., 2018. Legal Regulation of Plant Genome Editing with the CRISPR/Cas9 Technology as an Example. *Cytology and Genetics*, 52 (3): 204-212.
<http://dx.doi.org/10.3103/s0095452718030106>
- Metje-Sprink, J.; Sprink, T.; Hartung, F., 2020. Genome-edited plants in the field. *Current Opinion in Biotechnology*, 61: 1-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2019.08.007>
- Minoia, S.; Petrozza, A.; D'Onofrio, O.; Piron, F.; Mosca, G.; Sozio, G.; Cellini, F.; Bendahmane, A.; Carriero, F., 2010. A new mutant genetic resource for tomato crop improvement by TILLING technology. *BMC Research Notes*, 3 (1): 69.
<http://dx.doi.org/10.1186/1756-0500-3-69>
- Modrzejewski, D.; Hartung, F.; Lehnert, H.; Sprink, T.; Kohl, C.; Keilwagen, J.; Wilhelm, R., 2020. Which Factors Affect the Occurrence of Off-Target Effects Caused by the Use of CRISPR/Cas: A Systematic Review in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 11: 23.
<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2020.574959>
- Molla, K.A.; Sretenovic, S.; Bansal, K.C.; Qi, Y.P., 2021. Precise plant genome editing using base editors and prime editors. *Nature Plants*, 7 (9): 1166-1187.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41477-021-00991-1>
- Morineau, C.; Bellec, Y.; Tellier, F.; Gissot, L.; Kelemen, Z.; Nogue, F.; Faure, J.D., 2017. Selective gene dosage by CRISPR-Cas9 genome editing in hexaploid *Camelina sativa*. *Plant Biotechnology Journal*, 15 (6): 729-739.
<http://dx.doi.org/10.1111/pbi.12671>
- Muringai, V.; Fan, X.L.; Goddard, E., 2020. Canadian consumer acceptance of gene-edited versus genetically modified potatoes: A choice experiment approach. *Canadian Journal of Agricultural Economics-Revue Canadienne D Agroéconomie*, 68 (1): 47-63.
<http://dx.doi.org/10.1111/cjag.12221>
- Naegeli, H.; Bresson, J.L.; Dalmay, T.; Dewhurst, I.C.; Epstein, M.M.; Firbank, L.G.; Guerche, P.; Hejatko, J.; Moreno, F.J.; Mullins, E.; Nogue, F.; Serrano, J.J.S.;

- Savoini, G.; Veromann, E.; Veronesi, F.; Casacuberta, J.; Gennaro, A.; Paraskevopoulos, K.; Raffaello, T.; Rostoks, N.; Modified, E.P.G., 2020. Applicability of the EFSA Opinion on site-directed nucleases type 3 for the safety assessment of plants developed using site-directed nucleases type 1 and 2 and oligonucleotide-directed mutagenesis. *Efsa Journal*, 18 (11): 14. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6299>
- Nawaz, S.; Klassen, S.; Lyon, A., 2020. Tensions at the boundary: Rearticulating 'organic' plant breeding in the age of gene editing. *Elementa-Science of the Anthropocene*, 8: 20. <http://dx.doi.org/10.1525/elementa.429>
- Nieves-Cordones, M.; Mohamed, S.; Tanoi, K.; Kobayashi, N.I.; Takagi, K.; Vernet, A.; Guiderdoni, E.; Perin, C.; Sentenac, H.; Very, A.A., 2017. Production of low-Cs+ rice plants by inactivation of the K+ transporter OsHAK1 with the CRISPR-Cas system. *Plant Journal*, 92 (1): 43-56. <http://dx.doi.org/10.1111/tbj.13632>
- Nonaka, S.; Arai, C.; Takayama, M.; Matsukura, C.; Ezura, H., 2017. Efficient increase of γ -aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. *Scientific Reports*, 7 (1): 7057. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-06400-y>
- Nuffield Council on Bioethics; Greenfield, A.; Perry, T.; Watson, C.; Lawrence, D.; Thompson, C.; Dupré, J., 2016. *Genome editing: an ethical review*. London: Nuffield Council on Bioethics, 128 p. <https://www.nuffieldbioethics.org/assets/pdfs/Genome-editing-an-ethical-review.pdf>
- Nuijten, E.; Messmer, M.M.; van Bueren, E.T.L., 2017. Concepts and Strategies of Organic Plant Breeding in Light of Novel Breeding Techniques. *Sustainability*, 9 (1): 19. <http://dx.doi.org/10.3390/su9010018>
- Ogata, T.; Ishizaki, T.; Fujita, M.; Fujita, Y., 2020. CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of OsERA1 confers enhanced responses to abscisic acid and drought stress and increased primary root growth under nonstressed conditions in rice. *Plos One*, 15 (12): 12. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0243376>
- Olesen, J.E.; Trnka, M.; Kersebaum, K.C.; Skjelvag, A.O.; Seguin, B.; Peltonen-Sainio, P.; Rossi, F.; Kozyra, J.; Micale, F., 2011. Impacts and adaptation of European crop production systems to climate change. *European Journal of Agronomy*, 34 (2): 96-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2010.11.003>
- Oliva, R.; Ji, C.H.; Atienza-Grande, G.; Huguet-Tapia, J.C.; Perez-Quintero, A.; Li, T.; Eom, J.S.; Li, C.H.; Nguyen, H.; Liu, B.; Auguy, F.; Sciallano, C.; Luu, V.; Dossa, G.S.; Cunnac, S.; Schmidt, S.M.; Slamet-Loedin, I.H.; Cruz, C.V.; Szurek, B.; Frommer, W.B.; White, F.F.; Yang, B., 2019. Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing. *Nature Biotechnology*, 37 (11): 1344-+. <http://dx.doi.org/10.1038/s41587-019-0267-z>
- Ossowski, S.; Schneeberger, K.; Lucas-Lledo, J.I.; Warthmann, N.; Clark, R.M.; Shaw, R.G.; Weigel, D.; Lynch, M., 2010. The Rate and Molecular Spectrum of Spontaneous Mutations in Arabidopsis thaliana. *Science*, 327 (5961): 92-94. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1180677>
- Paraskevopoulos, K.; Federici, S.; European Food Safety Authority, 2021. Overview of EFSA and European national authorities' scientific opinions on the risk assessment of plants developed through New Genomic Techniques. *Efsa Journal*, 19 (4): 43. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6314>
- Procaccia, C.; Prud'homme, L., 2021. *Les nouvelles techniques de sélection végétale en 2021 : avantages, limites, acceptabilité*. Paris: Sénat, Les rapports du Sénat, n°671, 144 p. <http://www.senat.fr/rap/r20-671/r20-6711.pdf>
- Purnhagen, K.; Wesseler, J., 2021. EU Regulation of New Plant Breeding Technologies and Their Possible Economic Implications for the EU and Beyond JEL codes. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 43 (4): 1621-1637. <http://dx.doi.org/10.1002/aep.13084>
- Qaim, M., 2020. Role of New Plant Breeding Technologies for Food Security and Sustainable Agricultural Development. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 42 (2): 129-150. <http://dx.doi.org/10.1002/aep.13044>
- Ramstein, G.P.; Jensen, S.E.; Buckler, E.S., 2019. Breaking the curse of dimensionality to identify causal variants in Breeding 4. *Theoretical and Applied Genetics*, 132 (3): 559-567. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-018-3267-3>
- Rodriguez-Leal, D.; Lemmon, Z.H.; Man, J.; Bartlett, M.E.; Lippman, Z.B., 2017. Engineering Quantitative Trait Variation for Crop Improvement by Genome Editing. *Cell*, 171 (2): 470-+. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.030>
- Rose, K.M.; Brossard, D.; Scheufele, D.A., 2020. Of Society, Nature, and Health: How Perceptions of Specific Risks and Benefits of Genetically Engineered Foods Shape Public Rejection. *Environmental Communication-a Journal of Nature and Culture*, 14 (7): 1017-1031. <http://dx.doi.org/10.1080/17524032.2019.1710227>
- Sanchez-Leon, S.; Gil-Humanes, J.; Ozuna, C.V.; Gimenez, M.J.; Sousa, C.; Voytas, D.F.; Barro, F., 2018.

- Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnology Journal*, 16 (4): 902-910. <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.12837>
- Scheben, A.; Edwards, D., 2018. Bottlenecks for genome-edited crops on the road from lab to farm. *Genome Biology*, 19: 7. <http://dx.doi.org/10.1186/s13059-018-1555-5>
- Scheufele, D.A.; Krause, N.M.; Freiling, I.; Brossard, D., 2021. What we know about effective public engagement on CRISPR and beyond. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118 (22): 8. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.2004835117>
- Schinkel, H.; Schillberg, S., 2016. Genome editing: intellectual property and product development in plant biotechnology. *Plant Cell Reports*, 35 (7): 1487-1491. <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-016-1988-9>
- Schroder, P.; Sauvetre, A.; Gnadinger, F.; Pesaresi, P.; Chmelikova, L.; Dogan, N.; Gerl, G.; Gokce, A.; Hamel, C.; Milian, R.; Persson, T.; Ravnskov, S.; Rutkowska, B.; Schmid, T.; Szulck, W.; Teodosiu, C.; Terzi, V., 2019. Discussion paper: Sustainable increase of crop production through improved technical strategies, breeding and adapted management - A European perspective. *Science of the Total Environment*, 678: 146-161. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.212>
- Sherkow, Jacob S. 2017. « Patent protection for CRISPR: an ELSI review ». *Journal of Law and the Biosciences* 4 (3): 565-76.
- Shew, A.M.; Nalley, L.L.; Snell, H.A.; Nayga, R.M.; Dixon, B.L., 2018. CRISPR versus GMOs: Public acceptance and valuation. *Global Food Security-Agriculture Policy Economics and Environment*, 19: 71-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gfs.2018.10.005>
- Shi, J.R.; Gao, H.R.; Wang, H.Y.; Lafitte, H.R.; Archibald, R.L.; Yang, M.Z.; Hakimi, S.M.; Mo, H.; Habben, J.E., 2017. ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnology Journal*, 15 (2): 207-216. <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.12603>
- Shinoyama, H.; Ichikawa, H.; Nishizawa-Yokoi, A.; Skaptsov, M.; Toki, S., 2020. Simultaneous TALEN-mediated knockout of chrysanthemum DMC1 genes confers male and female sterility. *Scientific Reports*, 10 (1): 14. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-72356-1>
- Smyth, S.J., 2020. Regulatory barriers to improving global food security. *Global Food Security-Agriculture Policy Economics and Environment*, 26: 5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100440>
- Sprink, T.; Eriksson, D.; Schiemann, J.; Hartung, F., 2016. Regulatory hurdles for genome editing: process- vs. product-based approaches in different regulatory contexts. *Plant Cell Reports*, 35 (7): 1493-1506. <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-016-1990-2>
- Tabei, Y.; Shimura, S.; Kwon, Y.; Itaka, S.; Fukino, N., 2020. Analyzing Twitter Conversation on Genome-Edited Foods and Their Labeling in Japan. *Frontiers in Plant Science*, 11: 10. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2020.535764>
- Tagliabue, G.; Ammann, K., 2018. Some Basis for a Renewed Regulation of Agri-Food Biotechnology in the EU. *Journal of Agricultural & Environmental Ethics*, 31 (1): 39-53. <http://dx.doi.org/10.1007/s10806-018-9708-9>
- Tanksley, S.D.; McCouch, S.R., 1997. Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 277 (5329): 1063-1066. <http://dx.doi.org/10.1126/science.277.5329.1063>
- Therond, O.; Duru, M.; Roger-Estrade, J.; Richard, G., 2017. A new analytical framework of farming system and agriculture model diversities. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37 (3): 24. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-017-0429-7>
- van Bueren, E.T.L.; Jones, S.S.; Tamm, L.; Murphy, K.M.; Myers, J.R.; Leifert, C.; Messmer, M.M., 2011. The need to breed crop varieties suitable for organic farming, using wheat, tomato and broccoli as examples: A review. *Njas-Wageningen Journal of Life Sciences*, 58 (3-4): 193-205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.njas.2010.04.001>
- Veillet, F.; Kermarrec, M.P.; Chauvin, L.; Chauvin, J.E.; Nogue, F., 2020. CRISPR-induced indels and base editing using the *Staphylococcus aureus* Cas9 in potato. *Plos One*, 15 (8): 11. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0235942>
- Veillet, F.; Chauvin, L.; Kermarrec, M.P.; Sevestre, F.; Merrer, M.; Terret, Z.; Szydłowski, N.; Devaux, P.; Gallois, J.L.; Chauvin, J.E., 2019. The *Solanum tuberosum* GBSSI gene: a target for assessing gene and base editing in tetraploid potato. *Plant Cell Reports*, 38 (9): 1065-1080. <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-019-02426-w>
- Vives-Valles, J.A.; Collonnier, C., 2020. The Judgment of the CJEU of 25 July 2018 on Mutagenesis: Interpretation and Interim Legislative Proposal. *Frontiers in Plant Science*, 10: 15. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2019.01813>
- Walker, B.; Malson, J., 2020. Science, God, and Nature: A Textual and Frequency Analysis of Facebook Comments on News Articles About Agricultural and Environmental Gene Editing. *Environmental Communication-a Journal of Nature and Culture*, 14 (7): 1004-1016. <http://dx.doi.org/10.1080/17524032.2020.1761853>

- Wang, C.G.; Wang, G.K.; Gao, Y.; Lu, G.H.; Habben, J.E.; Mao, G.F.; Chen, G.W.; Wang, J.T.; Yang, F.; Zhao, X.Q.; Zhang, J.; Mo, H.; Qu, P.P.; Liu, J.H.; Greene, T.W., 2020. A cytokinin-activation enzyme-like gene improves grain yield under various field conditions in rice. *Plant Molecular Biology*, 102 (4-5): 373-388. <http://dx.doi.org/10.1007/s11103-019-00952-5>
- Wang, W.C.; Lin, T.C.; Kieber, J.; Tsai, Y.C., 2019. Response Regulators 9 and 10 Negatively Regulate Salinity Tolerance in Rice. *Plant and Cell Physiology*, 60 (11): 2549-2563. <http://dx.doi.org/10.1093/pcp/pcz149>
- Wang, Y.P.; Cheng, X.; Shan, Q.W.; Zhang, Y.; Liu, J.X.; Gao, C.X.; Qiu, J.L., 2014. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature Biotechnology*, 32 (9): 947-951. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.2969>
- Wesseler, J.; Politiek, H.; Zilberman, D., 2019. The Economics of Regulating New Plant Breeding Technologies-Implications for the Bioeconomy Illustrated by a Survey Among Dutch Plant Breeders. *Frontiers in Plant Science*, 10: 8. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2019.01597>
- Wickson, F.; Binimelis, R.; Herrero, A., 2016. Should Organic Agriculture Maintain Its Opposition to GM? New Techniques Writing the Same Old Story. *Sustainability*, 8 (11): 19. <http://dx.doi.org/10.3390/su8111105>
- Yang, Y.; Hobbs, J.E., 2020. How Do Cultural Worldviews Shape Food Technology Perceptions? Evidence from a Discrete Choice Experiment. *Journal of Agricultural Economics*, 71 (2): 465-492. <http://dx.doi.org/10.1111/1477-9552.12364>
- Ye, S.W.; Chen, G.; Kohnen, M.V.; Wang, W.J.; Cai, C.Y.; Ding, W.S.; Wu, C.; Gu, L.F.; Zheng, Y.S.; Ma, X.Q.; Lin, C.T.; Zhu, Q., 2020. Robust CRISPR/Cas9 mediated genome editing and its application in manipulating plant height in the first generation of hexaploid Ma bamboo (*Dendrocalamus latiflorus* Munro). *Plant Biotechnology Journal*, 18 (7): 1501-1503. <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.13320>
- Zhang, A.N.; Liu, Y.; Wang, F.M.; Li, T.F.; Chen, Z.H.; Kong, D.Y.; Bi, J.G.; Zhang, F.Y.; Luo, X.X.; Wang, J.H.; Tang, J.J.; Yu, X.Q.; Liu, G.L.; Luo, L.J., 2019. Enhanced rice salinity tolerance via CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the OsRR22 gene. *Molecular Breeding*, 39 (3): 10. <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-019-0954-y>
- Zhang, D.B.; Hussain, A.; Manghwar, H.; Xie, K.B.; Xie, S.S.; Zhao, S.H.; Larkin, R.M.; Qing, P.; Jin, S.X.; Ding, F., 2020c. Genome editing with the CRISPR-Cas system: an art, ethics and global regulatory perspective. *Plant Biotechnology Journal*, 18 (8): 1651-1669. <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.13383>
- Zhang, J.; Guo, S.G.; Ji, G.J.; Zhao, H.; Sun, H.H.; Ren, Y.; Tian, S.W.; Li, M.Y.; Gong, G.Y.; Zhang, H.Y.; Xu, Y., 2020a. A unique chromosome translocation disrupting CIWIP1 leads to gynoecey in watermelon. *Plant Journal*, 101 (2): 265-277. <http://dx.doi.org/10.1111/tpj.14537>
- Zhang, Z.H.; Zhang, X.; Lin, Z.L.; Wang, J.; Liu, H.Q.; Zhou, L.N.; Zhong, S.Y.; Li, Y.; Zhu, C.; Lai, J.S.; Li, X.R.; Yu, J.M.; Lin, Z.W., 2020b. A Large Transposon Insertion in the stiff1 Promoter Increases Stalk Strength in Maize (OPEN). *Plant Cell*, 32 (1): 152-165. <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.19.00486>
- Zsogon, A.; Cermak, T.; Naves, E.R.; Notini, M.M.; Edel, K.H.; Weinl, S.; Freschi, L.; Voytas, D.F.; Kudla, J.; Peres, L.E.P., 2018. De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nature Biotechnology*, 36 (12): 1211-1216. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.4272>
- Zyontz, S.; Pomeroy-Carter, C., 2021. *Mapping of the research, innovation and diffusion activity of CRISPR across countries*. Berlin: Expertenkommission Forschung und Innovation (EFI), Studien zum deutschen Innovationssystem, No 12-2021, 94 p. <https://www.econstor.eu/bitstream/10419/231480/1/1750534665.pdf>

Annexe 1 : Méthodologie de constitution et d'analyse du corpus bibliographique

L'interrogation a été effectuée sur le WoS, pour les bases SCIE, SSCI et A&HCI, pour les types de documents Article, Review, Editorial material et Letter, pour l'ensemble des années disponibles dans l'abonnement INRAE.

L'équation combine des termes liés à l'édition de génomes avec des termes liés aux végétaux, elle a été appliquée aux champs Titre, Mots-clés, Auteurs et Résumé.

Equation de recherche :

("CRISPR" OR "CAS9" OR "CAS12" OR "CAS13" OR "dCAS9" OR "nCAS9" OR "dCAS12" OR "Gene edit*" OR "Genome edit*" OR "Epigenome editing" OR "Base edit*" OR "Prime editing" OR "prime editor" OR "Targeted mutagenesis" OR "TALEN" OR "Transcription Activator Like Effector Nuclease\$" OR "Zinc finger nuclease\$" OR "ZFN" OR "CPF1" OR "Gene targeting" OR "Genome targeting")

AND

("Fragaria" OR "Strawberries" OR "Strawberry" OR "Litchi" OR "Litchis" OR "Letchi" OR "Letchis" OR "Lychee" OR "Lychees" OR "Cornus" OR "Ficus" OR "Fig" OR "Figs" OR "cashewapple" OR "cashewapples" OR "Anacardium" OR "mangosteen" OR "Garcinia" OR "date palm" OR "Phoenix" OR "Mangifera" OR "Mango" OR "Mangos" OR "Actinidia" OR "Kiwi" OR "Kiwis" OR "Kiwifruit" OR "Kiwifruits" OR "Juglans" OR "Walnut" OR "Walnuts" OR "Nut" OR "Nuts" OR "Hazelnut" OR "Hazel" OR "Hazels" OR "Corylus" OR "Pyrus" OR "Pear" OR "Pears" OR "Papaya" OR "Papayas" OR "Carica" OR "Castanea" OR "chestnut" OR "chestnuts" OR "Prunus" OR "Almond" OR "Almonds" OR "Amygdalus" OR "Apricot" OR "Apricots" OR "Armeniaca" OR "Cherry" OR "Cherries" OR "Peach" OR "Peaches" OR "Nectarine" OR "Nectarines" OR "Plum" OR "Plums" OR "Vaccinium" OR "Cranberry" OR "Cranberries" OR "Lingonberry" OR "Lingonberries" OR "Cowberry" OR "Cowberries" OR "Redcurrant" OR "Redcurrants" OR "currant" OR "currants" OR "Ribes" OR "Blackberry" OR "Blackberries" OR "Rubus" OR "Blueberries" OR "Blueberry" OR "Whortleberries" OR "Whortleberry" OR "Bilberry" OR "Bilberries" OR "Blackcurrant" OR "Raspberry" OR "Raspberries" OR "Musa" OR "Banana" OR "Bananas" OR "Musaceae" OR "plantain" OR "plantains" OR "Guava" OR

"Guavas" OR "Psidium" OR "Kaki" OR "Kakis" OR "Persimmon" OR "Diospyros" OR "Olive" OR "Olives" OR "Olea" OR "Coconut" OR "Cocos" OR "Ananas" OR "Pineapples" OR "Pineapple" OR "Quince" OR "Quinces" OR "Cydonia" OR "Avocado" OR "Avocados" OR "Persea" OR "Grape" OR "Grapes" OR "Grapevine" OR "Grapevines" OR "Vitis" OR "Apple" OR "Apples" OR "Malus" OR "Kumquat" OR "Kumquats" OR "Fortunella" OR "Citrus" OR "Lemon" OR "Lemons" OR "Pomelo" OR "Pomelos" OR "Pommelo" OR "Pommelos" OR "Pummelo" OR "Pummelos" OR "Mandarin" OR "Mandarins" OR "Orange" OR "Oranges" OR "Tangerine" OR "Tangerines" OR "Clementine" OR "Clementines" OR "Grapefruit" OR "Grapefruits" OR "Citrange" OR "Citranges" OR "Citroncirus" OR "chokeberry" OR "chokeberries" OR "berry" OR "berries" OR "aronia" OR "honeysuckle" OR "honeysuckles" OR "honey suckle" OR "honey suckles" OR "lonicera" OR "baie de mai" OR "baies de mai" OR "camerise" OR "camerises" OR "sea bucktorn" OR "sea bucktorns" OR "sandthorn" OR "sandthorns" OR "sand torn" OR "sand torns" OR "sallowthorn" OR "sallowthorns" OR "sallow thorn" OR "sallow thorns" OR "seaberry" OR "seaberries" OR "hippophae" OR "argouse" OR "argouses" OR "serviceberry" OR "serviceberries" OR "amelanchier" OR "amelanchiers" OR "sarvisberry" OR "sarvisberries" OR "juneberry" OR "juneberries" OR "shadbush" OR "shadwood" OR "shadblow" OR "elderberry" OR "elderberries" OR "sambucus" OR "pomegranate" OR "pomegranates" OR "punica" OR "jaboticaba" OR "guapuru" OR "plinia" OR "goji" OR "wolfberry" OR "wolfberries" OR "lycium" OR "acerola" OR "malpighia" OR "myrtle" OR "acai" OR "euterpe" OR "palmier pinot" OR "wassai" OR "acaizeiro" OR "podosiri" OR "murrapo" OR "chaenomeles" OR "tomato" OR "tomatos" OR "tomatoes" OR "Lycopersicon" OR "Solanum" OR "Potato" OR "Potatoes" OR "Brassica" OR "Brassicaceae" OR "Cabbage" OR "Cabbages" OR "Broccoli" OR "Broccolis" OR "Cauliflowers" OR "Cauliflower" OR "Kohlrabi" OR "Turnip" OR "Turnips" OR "Beet" OR "Beets" OR "Beta vulgaris" OR "Chard" OR "Chards" OR "Artichoke" OR "Artichokes" OR "Cynara" OR "Cardoon" OR "Cardoons" OR "Asparagus" OR "Eggplant" OR "Eggplants" OR "Aubergine" OR "Aubergines" OR "Brinjal" OR "Brinjals" OR "Pea" OR "Peas" OR "Pisum" OR "Calabash" OR "Calabashes" OR "Lagenaria" OR "Cucurbit" OR "Cucurbita" OR "Cucurbitaceae" OR "Cucurbits" OR "Pumpkin" OR "Pumpkins" OR "Marrow" OR "Marrows" OR "Zucchini" OR "Zucchinis" OR "Courgettes" OR

"Courgette" or "Squash" or "Squashes" or "Carrot" or "Carrots" or "Daucus" or "Chaerophyllum" or "Chervil" or "Chervils" or "Anthriscus" or "Spinach" or "Spinaches" or "Spinacia" or "bean" or "beans" or "Phaseolus" or "Vicia" or "Dioscorea" or "Yam" or "Yams" or "Cucumber" or "Cucumbers" or "Cucumis" or "gherkin" or "Gherkins" or "Melon" or "Melons" or "Watermelon" or "Watermelons" or "Citrullus" or "Canteloupe" or "Muskmelon" or "Cichorium" or "Chicory" or "Chicories" or "endive" or "endives" or "Pepper" or "Peppers" or "Capsicum" or "Allium" or "Garlic" or "Garlics" or "Chives" or "Chive" or "Shallot" or "Shallots" or "Onion" or "Onions" or "Leek" or "Leeks" or "Lens" or "Lentil" or "Lentils" or "Masoor" or "Masoor" or "Radish" or "Radishes" or "Raphanus" or "Manioc" or "Maniocs" or "Cassava" or "Cassavas" or "Manihot" or "Valerianella" or "Mache" or "Cornsalad" or "Lettuce" or "Lettuces" or "Lactuca" or "Salad" or "Salads" or "Ipomoea" or "Sweetpotato" or "Sweetpotatoes" or "Taro" or "Colocasia" or "Okra" or "gumbo" or "Abelmoschus" or "Hibiscus" or "ginger" or "Zingiber" or "Corn" or "Corns" or "Maize" or "Zea" or "conifer" or "conifers" or "deciduous" or "Pinus" or "Quercus" or "Fagus" or "Picea" or "Betula" or "Robinia" or "Juglans" or "Carpinus" or "Populus" or "Acer" or "Castanea" or "Abies" or "Larix" or "Pseudolarix" or "Fraxinus" or "pine" or "pines" or "oak" or "oaks" or "beech" or "beeches" or "spruce" or "spruces" or "birch" or "birches" or "locust" or "locusts" or "hornbeam" or "hornbeams" or "poplar" or "poplars" or "aspen" or "aspens" or "cottonwood" or "cottonwoods" or "maple" or "maples" or "fir" or "firs" or "larch" or "larches" or "ash" or "ashes" or "eucalyptus" or "rainforest" or "rainforests" or "Swietenia" or "Mahogany" or "Lauan" or "Diospyros" or "Teak" or "Tectona" or "Shorea" or "Parashorea" or "Aucoumea" or "Khaya" or "Entandrophragma" or "Dryobalanops" or "Dipterocarpus" or "Hevea" or "Chlorophora" or "Hymenaea" or "Virola" or "Angouma" or "Oukoume" or "Sapeli" or "Kapur" or "Keruing" or "Iroko" or "Milicia" or "Epena" or "Cumala" or "Meranti" or "cereal" or "cereals" or "wheat" or "Triticum" or "rice" or "Oryza" or "millet" or "Panicum" or "sorghum" or "quinoa" or "Chenopodium" or "sunflower" or "Helianthus" or "rapeseed" or "Artocarpus" or "breadfruit" or "breadfruits" or "jackfruit" or "jackfruits" or "Colocasia" or "cocoyam" or "cocoyams" or "bambarabean" or "bambarabeans" or "vigna" or "phaseolus" or "runnerbean" or "runnerbeans" or "limabean" or "limabeans" or "fieldbean" or "fieldbeans" or "chickpea" or "chickpeas" or "cicer" or "cowpea" or "cowpeas" or "dolicho" or "dolichos" or "lablab" or "Vicia" or "fababean" or "fababeans" or "broadbean" or "broadbeans" or "fenu grec" or "fenugrec" or "trigonella" or "grasspea" or "grasspeas" or "redpea" or "redpeas" or "cyprus" or "lathyrus" or "groundnut" or "groundnuts" or "lupin" or "lupins" or

"pea" or "peas" or "pisum" or "pigeonpea" or "pigeonpeas" or "cajanus" or "soy" or "glycine" or "soybean" or "soya" or "soja" or "soybean" or "splitpea" or "splitpeas" or "dal" or "dals" or "toor dal" or "toordal" or "vetch" or "vetches" or "vetchling" or "vicia" or "ervil" or "ervils" or "mungbean" or "mungbeans" or "black gram" or "black grams" OR "Arabidopsis" or "Brachypodium" or "Miscanthus" or "Klebsormidium" or "Nannochloropsis" or "tobacco" or "Nicotiana" or "Camelina" or "Chlamydomonas" or "alga" or "algae" or "microalga" or "microalgae" or "Nymphaea" or "Phaeodactylum" or "Gossypium" or "Physcomitrella" or "Rosa" or "rose" or "roses" or "Petunia" or "Petunias" or "Annona" or "buckwheat" or "Gerbera" or "Bougainvillea" or "flower" or "flowers" or "ornamental" or "ornamentals" or "Plant" or "plants" or "Planta" or "Seed" or "seeds" or "Crop" or "crops" or "Tree" or "trees" or "Agriculture" or "Agricultural" or "Fruit" or "Fruits" or "Orchard" or "Orchards" or "Vegetable" or "Vegetables" or "monocot" or "monocots" or "horticulture" or "horticultural" or "root" or "roots" or "leaf" or "leaves" or "forest" or "forests" or "agroforest" or "agroforests" or "silviculture" or "silviculture" or "Clover" or "clovers" or "Barley" or "Kale" or "Cotton" or "cottonseed" or "Setaria" or "peanut" or "peanuts" or "Arachis" or "gentian" or "rape" or "seaweed" or "seaweeds" or "basil" or "Ocimum" or "Neoporphyra" or "Salvia" or "Persicaria" or "Canola" or "Sage" or "Pennycress" or "Sugarcane" or "Dandelion" or "Bamboo" or "bamboos" or "Bambusa" or "Pulses" or "legume" or "Legumes" or "solanaceous" or "crucifer" or "crucifers" or "spelt" or "flax" or "MSCC" or "Alfalfa" or "Oat" or "Avena" or "Lupine" or "Lupinus" or "Rye" or "grass" or "Lolium" or "Dactylis" or "fescue" or "fescues" or "Festuca" or "Trifolium" or "birdsfoot" or "Rutabaga" or "mustard" or "Sinapis" or "Fennel" or "Fennels" or "Mimulus" or "monkeyflower" or "monkeyflowers" or "Poppy" or "poppies" or "Beetroot" or "Beetroots" or "Hemp" or "Hemp" or "Lavandula" or "lavandin" or "lavender" or "lavenders" or "Gladiolus" or "Tulip" or "tulips" or "tansy" or "Phacelia" or "groundcherry" or "groundcherries" or "Physalis" or "Chrysanthemum" or "Coffea" or "Gossypium" or "Hordeum" or "Linum" or "Lotus" or "Marchantia" or "Medicago" or "Nicotiana" or "Papaver" or "Parasponia" or "Petunia" or "Physcomitrella" or "Salvia" or "Taraxacum" or "Theobroma" or "cacao" or "Thlaspi" or "Torenia" or "Tragopogon" or "Actinidiaceae" or "Apiaceae" or "Asteraceae" or "Cannabaceae" or "Convolvulaceae" or "Euphorbiaceae" or "Fabaceae" or "Funariaceae" or "Lamiaceae" or "Linaceae" or "Linderniaceae" or "Malvaceae" or "Marchantiaceae" or "Papaveraceae" or "Poaceae" or "Rosaceae" or "Rubiaceae" or "Rutaceae" or "Salicaceae" or "Solanaceae" or "Vitaceae" or "Aloe" or "orchidaceae" or

"orchis" or "orchid" or "orchids" or "Setaria" or "saffron" or "Crocus" or "duckweed" or "Cardamine" or "Lemna" or "Dimocarpus" or "Artemisia" or "Stevia" or "jute" or "Corchorus" or "Ophiorrhiza" or "Zoysia" or "turfgrass" or "Stylosanthes" or "switchgrass" or "Dunaliella" or "oilseed" or "oilseeds" or "Heliotropium" or "Peucedanum" or "jojoba" or "Sedum" or "Lithospermum" or "palm" or "palms" or "Hedyosmum" or "Hyacinthus" or "Catharanthus" or "Cinchona" or "mint" or "Mentha" or "Stylosanthes" or "elm" or "elms")

Les termes "Genome engineering" OR "Genetic engineering" OR "Genetically engineered" OR "chromosomal engineering" OR "Site directed mutagenesis" OR "Site specific mutagenesis" OR "Precision breeding" OR "Meganuclease\$" OR "Site directed nuclease\$" OR "SDN" OR "SDN1" OR "SDN2" OR "SDN3" OR "Ribonucleoprotein\$" OR "Ribo nucleo protein\$" OR "Ribonucleo protein\$" OR "Ribo nucleoprotein\$" OR "RNP" OR "DNA free" OR "Genome deletion" OR "SSN" OR "Site specific nuclease\$" OR "Directed protein evolution" OR "Directed gene evolution" ont été évalués et n'ont pas été retenus pour l'analyse car les publications obtenues ne correspondaient pas à la thématique recherchée.

Les publications obtenues suite à l'interrogation du WoS ont été triées :

- Vérification que les sigles présents dans la partie Edition de génomes correspondent bien aux termes recherchés (exemple : ZFN peut signifier zygomatocofacial nerve...)
- Vérification des termes pour identifier les homonymes : cucumber peut désigner le sea cucumber, orange peut faire référence à la couleur...

Des lots de publications ont été évalués par les experts pour vérifier si les publications retenues étaient en adéquation avec la thématique.

Ont été exclues les publications répondant aux 2 critères :

- Présence d'un des termes parmi "Gene edit*" OR "Genome edit*" OR "Epigenome editing" OR "Base edit*" OR "Prime editing" OR "prime editor" OR "TALEN" OR "Transcription Activator Like Effector Nuclease\$" OR "Zinc finger nuclease\$" OR "ZFN" OR "CPF1" OR "Gene targeting" OR "Genome targeting" dans le résumé uniquement
- Présence d'un terme de la liste des végétaux dans le titre et les mots-clés auteur

L'intégralité des publications SHS, identifiées dans les bases SSCI et A&HCI, a été évaluée. Seules les

publications retenues par les experts ont été conservées pour l'analyse.

Une dernière vérification a été effectuée pour vérifier que les publications traitaient bien d'édition de génomes appliquée au végétal. En effet, l'édition de génomes peut concerner un virus (dont le nom contient un terme végétal) ou un champignon pathogène d'un végétal, dans ces deux cas, le terme végétal est présent mais l'édition de génomes ne porte pas sur le végétal.

Le corpus final est constitué de 2 415 publications (période 1988-2020).

Des listes de mots-clés ont été constituées afin d'identifier différents sous-corpus :

- Agroécologie et autres modes de culture
- Amélioration des plantes
- Traits
- SHS

Les pays et les institutions ont été identifiés à partir des adresses des auteurs. Les institutions ont été regroupées en grandes catégories (Academic, Corporate, Government, Health, Private, Nonprofit, Research Council, Research Institute, National Academy, Partnership).

Les espèces végétales ont été regroupées par catégories (Fruits, Légumes, Grandes cultures - céréales, Grandes cultures - autres, Forêt, Ornemental, CIMS, Industriel, Médicinal, Modèles, Autres).

Méthodologie de constitution et d'analyse du corpus bibliographique « amélioration des plantes et agroécologie et autres modes de culture »

L'interrogation a été effectuée sur le WoS :

- pour les bases SCIE, SSCI et A&HCI
- pour les types de documents Article, Review, Editorial material et Letter
- pour l'ensemble des années disponibles dans l'abonnement INRAE

L'équation combine des termes liés à l'amélioration des plantes et l'agroécologie et autres modes de culture avec des termes liés aux végétaux, elle a été appliquée aux champs Titre, Mots-clés, Auteurs et Résumé.

Equation :

("Deleterious allele" or "Positive allele" or Breeding or "marker-assisted selection" or improvement or domestication or "Doubled haploid" or "ideotype" or "indel" or Introgression or "Land race" or "landrace" or "Molecular marker" or "DNA amplification based method" or "DNA sequencing based method" or "Azide mutagenesis" or "EMS mutagenesis" or "Radiation mutagenesis" or "Transposon mutagenesis" or "Targeted mutagenesis" or "Mutation detection" or "detection of mutation" or "detections of mutation" or "Mutation rate" or "Spontaneous mutation" or "Breeding population" or "Natural population" or "Mapping population" or "Genetic resource" or "genetic and genomic resources" or "Biological resource" or Rewilding or "Genomic selection" or "Genetic selection" or "varietal selection" or "selection marker" or "genome-wide selection" or SNP or SNPs or "Single-nucleotide polymorphism" or "DNA-derived polymorphism" or "Natural polymorphism" or Tilling or "Causal variant" or "Structural variant" or "Copy number variation" or "Presence absence variation" or "Cultural Evolution" or "coding loci of evolution")

AND

("Biodiversity-based agriculture" or "Conservation agriculture" or "Ecological agriculture" or "Low-input agriculture" or "Organic agriculture" or "Sustainable agriculture" or "sustainable farming" or agroecology or "agro-ecology" or Agroecological or Agroforestry or "Biological defence" or "biological defense" or "crop diversification" or "Crop mixture" or "Co-cropping" or Intercropping or "inter-cropping" or "Ecological farming" or "Organic farming" or "Integrated disease management" or "Integrated Pest Management" or IPM or "Ecological intensification" or "Minimal soil disturbance" or "Variety mixture")

AND

Equation « végétaux » utilisée pour le corpus « édition de génomes végétaux »

Les publications obtenues suite à l'interrogation du WoS ont été triées :

- Vérification des termes pour identifier les homonymes : cucumber peut désigner le sea cucumber, orange peut faire référence à la couleur...
- Les publications présentes dans le corpus « édition de génomes végétaux » ont été exclues.

L'équation a permis d'identifier 1 342 publications (période 1991-2020) qui ont été évaluées par les experts.

Les publications contenant un terme agroécologie et autres modes de culture dans le titre et/ou les mots-clés auteurs et un terme amélioration des plantes dans le résumé ont été retenues (301 articles au total).

Annexe 2 :

Différentes formes d'agriculture se rapprochant de l'agroécologie sans être basées en priorité sur l'utilisation des interactions entre organismes vivants

• Les systèmes ou conduites à bas niveaux

d'intrants (*low-input*) privilégient la tolérance des variétés aux carences hydriques et minérales (souvent N), mais aussi aux maladies fongiques, bactéries, virus, ou insectes (dans le cadre de la réduction généralisée des pesticides et de la cohérence agronomique de ces systèmes). Lorsque l'accent est mis sur la gestion des bioagresseurs, on parle de protection voire de production intégrée des cultures ou des arbres fruitiers (IPM, "*integrated pest management*"). On considère par exemple pour les cultures de blé que les risques de pathogènes (dégâts, dommages) sont réduits dès lors qu'on limite les apports d'azote et la densité de peuplement. L'IPM a également donné lieu à la notion de mélange variétal en céréales pour diminuer le recours aux fongicides. La capacité à capturer les ressources comme l'eau ou les éléments minéraux sont également des caractères recherchés en systèmes bas intrants. Puisque ces systèmes se concentrent sur la réduction d'intrants, on peut y associer les systèmes extensifs où les interventions techniques sont très réduites du fait de la taille des exploitations ou de la recherche d'économies d'énergie. Dans ces situations, on recherche en priorité une stabilité des performances (notamment par la diversité des espèces et des variétés ou en privilégiant des variétés stables, peu sensibles à des interventions sub-optimales) au détriment d'une production élevée les années les plus favorables.

• **Les systèmes éco-efficients** ciblent avant tout l'efficacité maximale des intrants (et la réduction des pertes vers l'environnement), ce qui peut se traduire – mais pas obligatoirement – par une réduction d'intrants (par ex. augmenter l'efficacité d'utilisation de l'azote (NUE) en colza par la sélection végétale ; utiliser l'agriculture de précision pour apporter la bonne dose d'eau ou d'azote au bon endroit et au bon moment). Ces systèmes ne modifient pas fondamentalement la nature des systèmes de culture pratiqués mais visent en priorité à en optimiser l'usage des intrants. Variétés améliorées, agro-équipements de précision, et outils d'aide à la décision sont les piliers de ces systèmes.

• **En agriculture biologique** (AB), seuls les apports de fertilisants organiques et amendements divers non issus d'une synthèse industrielle sont autorisés pour

nourrir les plantes. De ce fait, si l'élevage n'est pas présent, l'alimentation azotée est souvent mentionnée comme facteur limitant en grande culture et la gestion de la qualité protéique des grains est souvent problématique (en dépit des plus faibles rendements). L'introduction de légumineuses dans la rotation est la principale source d'azote dans les exploitations sans élevage. Les fongicides de synthèse ne sont pas autorisés. En viticulture, notamment, les apports de cuivre et de soufre peinent à contrôler la pression des maladies. Ils contribuent néanmoins à augmenter l'Indice de Fréquence des Traitements (IFT) des systèmes en AB. En grande culture, du fait de techniques d'esquive (date de semis) ou du rationnement en azote, complété par l'offre variétal, les maladies fongiques ne sont pas les facteurs les plus limitants. La concurrence avec les adventices est souvent citée comme la plus difficile à contrôler en dépit des semis tardifs, faux-semis, ou rotation longue. C'est dans ce cadre (en particulier pour les cultures de céréales) que se sont développés des travaux sur la compétitivité des variétés vis-à-vis des adventices. L'AB est une forme d'agriculture bas intrants (en particulier parce que l'unité d'azote organique est chère) compensée par une augmentation du temps de travail, en particulier lié au désherbage mécanique. L'AB se fonde sur une obligation de moyens (cahier des charges) et non de résultats. Ainsi le bilan d'énergie des exploitations en AB peut être parfois peu favorable notamment en l'absence d'élevage sur l'exploitation.

• **L'agriculture de conservation des sols** (ACS) se fonde sur 3 piliers : la forte réduction du travail du sol et l'abandon du retournement du sol, le maintien d'un couvert végétal le plus « permanent » possible (avec cultures intermédiaires, semis sous couvert...) et la diversification de la succession de cultures. Elle pose la question de la diversité et des spécifications des couverts végétaux (composition, pérennité...) à introduire. L'ACS reste encore aujourd'hui largement dépendante de l'emploi d'herbicides non sélectifs (par ex. glyphosate) pour contrôler le développement des couverts végétaux et des adventices. Les expériences réussies d'ACS en système AB sont rares à ce jour.

Annexe 3 : Exemples de « nouvelles » cibles de sélection répondant aux besoins de la transition agroécologique

Élargissement de la gamme d'espèces :

- Plantes de service : pièges à nitrates, couvert anti-érosif, stockage du C, biofumigation, contrôle des adventices par étouffement ou allélopathie, attraction/répulsion de ravageurs, fonctions mellifères, phytoremédiation, plantes refuges pour la faune, infrastructures agroécologiques ;
- Plantes pour des marchés émergents, par exemple en alimentation humaine : légumineuses à graines (par ex. légumes secs), oléagineux (par ex. chia), céréales pérennes ;
- Espèces sauvages apparentées ;
- Mélanges intra- et inter-spécifiques.

Poursuite et intensification de la recherche de variétés, seules ou en mélanges, tolérantes/résistantes/efficaces face à des stress multiples et aléatoires

- Carences minérales (N...);
- Excès de salinité ;
- Contraintes hydriques / excès d'eau (esquive, évitement, tolérance) : régulation stomatique, sénescence, allocation privilégiée des produits de la photosynthèse, enracinement, vitesse de couverture précoce, précocité de floraison ;
- Hautes températures ;
- Forte concentration en CO₂ ;
- Maladies et virus : résistance intrinsèque, bonne réponse aux stimulateurs de défenses naturelles, phénologie ;
- Ravageurs (insectes, oiseaux, limaces...) : capacité à attirer/repousser ;
- Compétition vis-à-vis des adventices : vitesse de couverture du sol, architecture aérienne et racinaire.

Sélection pour de nouveaux caractères liés :

- Aux multiples fonctions des plantes de service. Par exemple : composition et quantité de nectar et pollen, concentration en composés allélopathiques (résidus, exsudats...), teneur en glucosinolates (crucifères) ;
- A la composition des nouvelles espèces sélectionnées notamment pour l'alimentation humaine (qualité des protéines, micro-éléments, vitamines...);
- A l'aptitude des variétés à l'association (agroforesterie, associations céréales-légumineuses, mélanges variétaux...):
 - Angles des feuilles, tolérance à l'ombrage, bonne perception/interaction avec microbiote sol et aérien, complémentarité d'enracinement ;
 - Vigueur précoce, vitesse et taux de couverture, architecture aérienne ;
 - Système racinaire : ancrage, mise en place, capture en profondeur, stockage de carbone... ;
 - Capacité d'extraction et allocation vers les organes cibles.

Développement de variétés adaptées aux changements de pratiques et d'environnements

- Date de semis plus précoces ou plus tardives : variétés très précoces pour la double culture, variétés tolérantes au froid pour les semis précoces de variétés tardives ;
- Accès à de nouveaux environnements : tolérance au froid pour extension des zones de culture d'espèces de printemps-été vers le Nord ;
- Désherbage mécanique : résistance à l'arrachement, tolérance aux blessures ;
- Mulch et non travail du sol : vigueur précoce, germination en conditions sèches.

Annexe 4 : Lexique

• **Edition du génome** : Modification localisée de la séquence génomique d'un organisme vivant par un ensemble de techniques alternatives (CRISPR-Cas, TALEN, nucléase à doigt de zinc, méganucléase) qui résulte en des délétions, insertions, ou substitution de quelques bases parmi les millions du génome.

• **Matrice de réparation** : Molécule d'ADN produite en laboratoire et introduite dans la cellule végétale en même temps que la nucléase. Sa séquence est identique à celle du génome de part et d'autre de la coupure, à l'exception de la base ou des bases à modifier. Lors de la réparation de la coupure par la cellule, la molécule sera utilisée comme matrice et sa séquence copiée dans le génome. La matrice de réparation en tant que telle n'est pas intégrée dans le génome.

• **Mutations** : Elles peuvent être de différentes natures et avoir différentes conséquences.

Mutation faux sens : Elle correspond à un changement de nucléotide dans la séquence codante d'un gène pouvant changer un acide aminé. Ce changement peut avoir des conséquences sur la fonction de la protéine correspondante.

Mutation non-sens : Elle correspond à un changement de nucléotide dans la séquence codante d'un gène qui va changer un codon spécifiant un acide aminé par un codon-stop et ainsi aboutir à la production d'une protéine tronquée.

Mutation synonyme : Elle correspond à un changement de nucléotide qui, en raison de la redondance du code génétique, ne modifie pas la séquence d'une protéine.

Mutation silencieuse : Elle correspond au changement d'un nucléotide présent dans la séquence non codante d'un gène (ex. introns). Dans certains cas ce type de mutations peuvent avoir des conséquences sur l'épissage du gène et donc sur la séquence de la protéine correspondante.

Insertion et délétion : L'addition ou la suppression de nucléotides multiple de 3 dans la séquence codante d'un gène provoquera l'addition ou la suppression d'acides aminés dans la protéine correspondante. Une addition ou une suppression de nucléotides non multiple de 3 provoquera un changement de cadre de lecture du code génétique aboutissant dans la plupart des cas à l'apparition d'un codon-stop prématuré et ainsi à la production d'une protéine tronquée.

• **NPBT (New Plant Breeding Technique)** : Le terme a été proposé dans un rapport du Joint Research Centre (JRC) de la Commission Européenne (CE) publié en 2011 (Lusser *et al.*, 2011)²². Il englobe 8 techniques : technologie des nucléases (méganucléases, nucléases à doigt de zinc, transcription activator-like effector nucleases (TALEN)), mutagenèse dirigée par oligonucléotides (ODM), cisgenèse et intragenèse, méthylation de l'ADN dépendante de l'ARN (RdDM), greffage sur porte-greffe génétiquement modifié (GM), sélection inverse, agroinfiltration et biologie synthétique. Au cours de la dernière décennie, des preuves de concept ont été fournies pour les 8 techniques, mais seule la technologie des nucléases permettant l'édition des génomes a eu un réel impact sur la recherche fondamentale et appliquée. L'absence de CRISPR-Cas s'explique par le fait que la technique n'était pas encore connue en 2011.

• **NGT (New Genomic Techniques)** : Le terme a été introduit par la Commission Européenne (CE) en 2020 lors d'une étude évaluant le potentiel de ces techniques pour une agriculture durable et la nécessité d'une nouvelle politique (https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/new-genomic-techniques_en). Il ne prend en compte qu'un sous-ensemble des 8 techniques initiales et ajoute CRISPR-Cas9. Les NGT sont définis comme « les techniques capables de modifier le matériel génétique d'un organisme et qui sont apparues ou ont été mises au point depuis 2001, année de l'adoption de la législation actuelle sur les organismes génétiquement modifiés (OGM) ». Selon la CE, des exemples incluent (i) des techniques d'édition du génome telles que CRISPR, TALEN, nucléases à doigts de zinc, méganucléases ou prime editing qui peuvent conduire à la mutagenèse et certaines d'entre elles (SDN3, voir ci-dessous) également à la cisgenèse, l'intragenèse ou la transgenèse, (ii) des techniques de mutagenèse telles que la mutagenèse dirigée par oligonucléotide (ODM) et (iii) des techniques épigénétiques de type RdDM.

• **SDN1** : Une technique de mutagenèse ciblée utilisant des SDN (site directed nuclease = technologie de nucléase ciblée) pour introduire de petites mutations (insertion, délétion, substitution) à un endroit précis du génome. Dans SDN1, aucun ADN matrice n'est fourni, le type de mutation est donc aléatoire. Seulement le site de la mutation au sein du génome est prédéterminé, pas la nature de la mutation.

• **SDN2** : Une technique de mutagenèse ciblée utilisant

des SDN (site directed nuclease = technologie de nucléase ciblée) pour introduire de petites mutations à un endroit précis du génome. Dans SDN2, un ADN matrice est utilisé pour obtenir une mutation souhaitée par copie de la séquence de la matrice. A la fois le site de la mutation au sein du génome et la nature de la ou des mutation(s) sont prédéterminés.

- **SDN3** : Une application de SDN (site directed nuclease = technologie de nucléase ciblée) qui permet l'introduction d'un matériel génétique supplémentaire (provenant de la même espèce ou d'une autre espèce) à un endroit précis du génome. Si le matériel inséré provient d'un organisme donneur sexuellement compatible avec l'hôte organisme, le processus relève de la cisgénèse (matériel natif) ou l'intragenèse (matériel réarrangé *in vitro*); si le matériel inséré provient d'un organisme donneur qui est sexuellement incompatible avec l'organisme hôte, le processus relève de la transgénèse.

- **Taux de transformation** : Nombre de plantes transgéniques obtenues par rapport au nombre d'explants (morceau de feuille, embryon immature,

etc...) mis en contact avec le transgène. Le taux de transformation se situe entre 1 % et 10 % pour la majorité des végétaux.

- **Transfection** : La transfection est une technique de biologie moléculaire qui consiste à introduire un ADN étranger dans une cellule eucaryote cultivée *in vitro*.

- **Transfert horizontal de gène** : C'est un processus au cours duquel un organisme incorpore le matériel génétique d'un autre organisme qui n'est pas son ascendant, c'est-à-dire hors du contexte de la reproduction sexuée. Cette transmission de gènes s'oppose au transfert vertical héréditaire, des parents vers leurs descendants. Très fréquent chez les bactéries, ce processus existe également chez les plantes, qui peuvent intégrer de cette façon des gènes provenant de virus, de bactéries, de champignons, de plantes parasites. A noter que la transgénèse via *Agrobacterium tumefaciens*, agrobactérie du sol, est fondée sur le processus naturel de transfert de gène de cette bactérie vers les plantes.



Centre-siège Paris-Antony

147 rue de l'Université – 75338 Paris cedex 07
Tél. +33 1 (0)2 42 75 90 00

Rejoignez-nous sur:



inrae.fr

**Institut national de recherche pour
l'agriculture, l'alimentation et l'environnement**



**RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

INRAE