

La recombinaison de l'ADN et le génie génétique naturel des plantes

Version originale en anglais sur le site [BATS](#)

Jean-Pierre Zryd, Institut d' Ecologie, Université de Lausanne, Suisse

Les organismes génétiquement modifiés s'obtiennent par l'introduction d'un fragment d'ADN étranger dans leur propre génome. Ce processus est-il vraiment différent de ceux qui se présentent spontanément dans les plantes et les autres organismes vivants? Pour certaines personnes, le génie génétique transgresse les lois naturelles. En fait, tout au long du 20^{ème} siècle, les scientifiques ont découvert que la nature accomplit une quantité de réorganisations, de mélanges et de transferts génétiques chez les micro-organismes, les plantes et les animaux. Aujourd'hui, on est à même d'utiliser ces connaissances pour rendre plus rapides et plus précises les méthodes traditionnelles de sélection et d'amélioration des plantes.

La diversité génétique

Gregor Mendel a postulé, puis démontré à travers ses expériences sophistiquées et soigneusement planifiées, que les "unités héréditaires", qui déterminent les traits visibles d'un organisme, se réarrangent spontanément et de manière aléatoire au cours de la reproduction sexuée; ces "unités héréditaires" sont ce que nous appelons aujourd'hui gènes. Dès le début des années 20, on a reconnu que, durant les processus complexes de la reproduction, le matériel génétique subit des réarrangements importants impliquant l'échange de longs fragments. En outre, alors qu'elle travaillait sur la plante de maïs, Barbara McClintock a découvert que certains gènes peuvent se déplacer fréquemment à l'intérieur du génome, en provoquant ainsi des mutations visibles, et ceci tout au long de la vie de la plante - et pas seulement lors des stades de reproduction [5]. Le fameux maïs indien témoigne de ce phénomène avec ses beaux grains variés, aux dessins rouges et jaunes. En 1983, à l'âge de 81 ans, Barbara McClintock reçut enfin le prix Nobel pour sa théorie des éléments transposables (gènes sauteurs). Si elle n'a reçu ce prix que 50 ans après ses premières observations, c'est que la communauté scientifique avait difficilement accepté l'idée d'une instabilité générale du génome. Maintenant, on sait que les transposons sont présents dans tous les organismes et sont actifs tout le temps. Une grande partie du matériel génétique présent dans le génome des plantes et des animaux (parfois plus de 50%) est formé d'une sorte spéciale de transposons, nommés rétrotransposons [2]. Les personnes peu familières avec la biologie pensent généralement que les organismes vivants sont stables et que les espèces restent indéfiniment telles quelles. Or nous changeons tous, et de nombreuses espèces évoluent très rapidement. On sait aujourd'hui que les êtres vivants possèdent un système interne très efficace, qui permet au génome de se modifier de façon très contrôlée; les organismes peuvent ainsi s'adapter à des changements très rapides du milieu; ceci est particulièrement important pour les plantes, qui ne peuvent pas se déplacer pour trouver des conditions favorables.

Colonisation génétique.

Les biologistes travaillant sur les plantes ont de la chance [1]. Ils ont découvert qu'*Agrobacterium tumefaciens*, une bactérie du sol pathogène pour les plantes, est

capable de transférer une partie minuscule, mais importante, de son matériel génétique lors de l'infection. Ce matériel génétique est transporté de la cellule bactérienne vers le noyau de la cellule végétale; là, il s'intègre dans le génome de la plante et commence à fabriquer ses propres produits. Les produits de ces gènes transférés provoquent une prolifération cellulaire tumorale et la synthèse de métabolites très nutritifs, dont la bactérie se nourrit. On nomme ces événements colonisation génétique. Les scientifiques se sont aperçus que la bactérie peut être rendue non pathogène (inoffensive pour la plante) tout en conservant la capacité de transférer de l'ADN. Cette découverte a constitué le début de l'histoire passionnante de la transformation génétique des plantes. Pour transformer une plante par l'intermédiaire d'*Agrobacterium tumefaciens*, on insère un fragment bien choisi d'ADN entre deux petites séquences spécifiques, nommées séquences-bordures: cela suffit pour pouvoir intégrer cet ADN dans le génome de la plante. L'intégration se fait au hasard, mais elle est unique; c'est-à-dire que le fragment d'ADN peut s'insérer n'importe où dans le génome de la plante, mais à une seule place. C'est ensuite le travail du généticien de vérifier que l'intégration s'est faite à un endroit convenable. La plupart des plantes transgéniques sont actuellement produites grâce à cette méthode.

Le jeu de la recombinaison

Les phénomènes d'adaptation et l'évolution sont des caractéristiques de la vie. Leur source réside dans les modifications du génome. Nous, humains, sommes là parce que nos ancêtres primates ont changé avant nous et il est à peu près inévitable que nous changions à notre tour. Les modifications du génome ont pour cause, entre autres, le réarrangement de certaines de ses parties au cours d'un mécanisme nommé recombinaison génétique. La recombinaison intervient dans différents contextes.

1) Un fragment d'ADN peut s'insérer n'importe où dans le génome: on parle alors de recombinaison illégitime; c'est ce qui a lieu lors du déplacement d'un transposon, par exemple, ou lorsqu'une plante est transformée à l'aide d'*Agrobacterium tumefaciens*. C'est le mécanisme de recombinaison prédominant chez la plupart des organismes.

2) Lorsqu'un fragment d'ADN s'insère dans un endroit précis du génome au niveau d'une séquence d'ADN qui lui est en tout point identique (homologue), on parle de recombinaison homologue. On a récemment montré qu'il est possible d'utiliser la recombinaison homologue pour transformer une plante en intégrant un fragment d'ADN étranger dans un point précis de son génome (ciblage de gènes). Ce type de recombinaison n'est possible que si le fragment d'ADN contient une petite séquence en tout point identique à la séquence cible du génome. Ainsi que Didier Schaefer l'a démontré, dans notre laboratoire de l'Université de Lausanne, ceci est possible de manière efficace pour la mousse *Physcomitrella patens* [4]. D'ici peu, il sera à notre portée de produire des plantes transgéniques par recombinaison homologue de petits fragments d'ADN adéquats: cette méthode constituera une génétique de haute précision, permettant des modifications subtiles et précises du génome, et ceci à volonté [3].

La recombinaison homologue est un mécanisme naturel: il a lieu au moment de la formation des cellules sexuelles (gamètes) en vue de la reproduction sexuée. Dans ce cas, la recombinaison touche de larges portions du génome; elle contribue à

accroître la diversité de la descendance. Alors qu'ils choisissaient leurs semences pour la saison prochaine, les tout premiers cultivateurs ont, sans le savoir, tiré avantage de ce mécanisme, de même que plus tard ceux qui ont pratiqué les méthodes traditionnelles de sélection.

Objectif: la diversité

Dans les méthodes conventionnelles de sélection des plantes, il est nécessaire de disposer d'une certaine variabilité du génome. Cette dernière s'obtient de plusieurs manières : on peut se contenter d'utiliser la variabilité naturelle présente dans les collections des cultivars produits par l'homme (agriculture indigène et traditionnelle) ou bien avoir recours à des croisements avec les espèces sauvages apparentées, identifiées (collections botaniques); au cours du 20^{ème} siècle, on a accru la variabilité en soumettant les plantes à des radiations ionisantes. Ces radiations accroissent le nombre de mutations (petits changements à l'intérieur des gènes) et ont pour effet annexe d'augmenter le taux de recombinaison: la plupart des plantes cultivées actuelles sont les descendantes de parents ainsi mutagénisés.

Beaucoup d'espèces végétales, à l'exemple de la pomme de terre et des orangers, se propagent spontanément sans reproduction sexuée; il a ainsi été possible de pratiquer le bouturage, le marcottage, le greffage et enfin, plus récemment, la micro-propagation végétative (cultures "*in vitro*"). Ces modes de propagation non sexuée ne sont toutefois pas aussi précis qu'on pourrait l'imaginer: alors que les plantes obtenues sont sensées être parfaitement identiques à la plante-mère, elles peuvent parfois présenter des différences importantes avec cette dernière; ces différences se nomment "variations somaclonales". Les variations somaclonales sont dues à des modifications importantes du génome; on peut les utiliser pour produire des variétés nouvelles.

Ces deux méthodes, la mutagenèse et l'utilisation des variations somaclonales, ont eu un effet très positif sur l'efficacité de la sélection végétale.

Récemment, on a introduit dans la sélection végétale les méthodes de l'ADN recombinant (transfert d'ADN), lorsque c'était possible: leur précision et leur efficacité permettent d'envisager un contrôle très sûr de la variabilité; elles ne sont pas destinées à remplacer les autres méthodes d'amélioration des plantes, mais à les compléter.

Le transfert d'ADN: une génétique de haute précision

Le transfert d'ADN est principalement destiné à l'addition ou à la modification de gènes bien connus. On peut parler de génétique de haute précision par comparaison avec les méthodes traditionnelles, qui utilisent des recombinaisons aléatoires de grandes portions du génome. En introduisant, dans une variété de riz, trois gènes bien connus responsables de la synthèse de la provitamine-A, des groupes universitaires de recherche, allemand et suisse, ont donné un brillant exemple de cette stratégie. Bien sûr, une telle prouesse technique n'est qu'une partie de l'ensemble du travail nécessaire: ces plantes de riz de haute technologie sont maintenant utilisées dans un programme conventionnel d'amélioration du riz, dont le but est d'introduire cette caractéristique extrêmement utile dans des variétés adaptées aux conditions agricoles locales. Il est clair que la variabilité, tant naturelle qu'artificielle, peut entraîner des risques: ses effets sont parfois bénéfiques ou neutres, mais peuvent aussi être néfastes; chaque nouvelle variété doit par conséquent être testée dans des conditions naturelles. L'avantage principal de la

nouvelle génétique de l'ADN recombinant (OGM) est de mettre aujourd'hui à notre disposition un contrôle plus précis des processus de sélection, d'où un bénéfice inestimable pour tous les systèmes agricoles.

1. Holsters M, Vernade D: Le plasmide Ti comme vecteur de gènes. In: Zryd J-P, Brettell R, all. (eds) Cultures de cellules, tissus et organes végétaux, pp. 195-200. PPUR, Lausanne (1988).
2. Kumar A, Bennetzen JL: Plant retrotransposons [Review]. Annual Review of Genetics 33: 479-532 (1999).
3. Puchta H, Hohn B: From centimorgan to base pairs - Homologous recombination in plants [Review]. Trends in Plant Science 1: 340-348 (1996).
4. Schaefer DG, Zryd J-P: Efficient gene targeting in the moss *Physcomitrella patens*. The Plant Journal 11: 1195-1206 (1997).
5. Thuriaux P, Zryd J-P: La génétique des éléments transposables et ses conséquences biologiques. Bull Soc Vaudoise Sci Nat 77: 1-16 (1984).