Les biotechnologies vertes : un enjeu stratégique pour l'avenir de la filière semencière française

Résumé à l'attention des décideurs

Rapport

Annexes

par le groupe de travail '*Nouvelles biotechnologies agricoles et alimentaires*'

experts de l'Académie d'Agriculture de France :

Jean-Marc Boussard (Sciences humaines et sociales), Yvette Dattée (Productions végétales), André Gallais (Productions végétales), Philippe Gate (Productions végétales), Louis-Marie Houdebine (Sciences de la vie), Gil Kressmann (Agrofournitures), Brigitte Laquièze (Sciences humaines et sociales), Philippe Gracien (Agrofournitures), Bernard Le Buanec (Productions végétales), Bernard Mauchamp (Sciences de la vie), Marc Richard-Molard (Productions végétales), Jean-François Morot-Gaudry (Sciences de la vie), Georges Pelletier (Sciences de la vie), Jean-Claude Pernollet (Sciences de la vie), Dominique Planchenault (Sciences de la vie), Catherine Regnault-Roger (Productions végétales), Agnès Ricroch (Sciences de la vie) et Michel Serpelloni (Alimentation humaine).

13 juillet 2017

Contact : Agnès Ricroch (agnes.ricroch@agroparistech.fr)

RÉSUMÉ À L'ATTENTION DES DÉCIDEURS

Depuis que l'homme a domestiqué les plantes et les a améliorées, il a utilisé tous les moyens à sa disposition pour le faire. Durant les 60 dernières années, avec le progrès des connaissances en biologie, notamment en génétique, de nouveaux outils, appelés "biotechnologies vertes", sont apparus et sont de plus en plus utilisés. Un groupe de travail de l'Académie d'Agriculture de France a évalué l'utilisation des biotechnologies vertes et identifié leur potentiel de développement à l'horizon 2030 pour répondre au triple défi de l'agriculture : faire face à la sécurité alimentaire, mieux respecter l'environnement et s'adapter aux changements climatiques. Ce rapport présente des informations originales issues d'une enquête menée en 2016 auprès de 80 centres français de sélection des plantes, privés et publics, qui ont été interrogés sur l'utilisation de ces outils. Les principaux points à retenir de l'étude sont résumés ci-dessous.

PRINCIPAUX MESSAGES

1 L'amélioration des plantes a participé très significativement aux progrès des rendements agricoles au XX^{e} siècle

Du Néolithique à nos jours, l'amélioration des plantes et l'amélioration des techniques culturales sont à l'origine de progrès majeurs pour l'agriculture qui nous assure une alimentation abondante, sûre et accessible au plus grand nombre.

À titre d'exemple, en France, depuis 1970, les rendements du blé ont été multipliés par 3, ceux du maïs par 4, ceux de la betterave sucrière par 2. Il est considéré que l'innovation variétale a contribué à 40% des gains des rendements du blé, 70% du maïs et 50% de la betterave. Les progrès réalisés ont permis de nourrir une population mondiale en très forte croissance : de 3 milliards en 1960 à 7,3 en 2015.

2 Le secteur semencier français : l'innovation au cœur des entreprises

Ces progrès ont été obtenus grâce à l'efficacité de notre secteur semencier. Ce secteur est composé d'entreprises très diverses, des TPE/PME, des coopératives et des filiales de groupes mondiaux, qui bénéficient de divers facteurs favorables pour leur développement en France : les conditions pédoclimatiques, les savoir-faire des agriculteurs, une recherche de premier ordre, notamment grâce à des partenariats public-privé, et un cadre réglementaire adapté.

Ce contexte a favorisé l'implantation et les investissements des entreprises. Elles engagent ainsi en moyenne près de 13% de leur chiffre d'affaires dans la recherche et le développement, un pourcentage équivalent à celui de l'industrie pharmaceutique. Le budget de la recherche privée française a augmenté de 67 % en cinq ans. Il a bondi de 236 millions € en 2011 à 393 millions € en 2016 (source GNIS-2017).

En conséquence, le solde positif du commerce extérieur du secteur français a atteint 900 millions € en 2015, soit un tiers du solde agricole français, plaçant une fois encore la France au 1er rang des exportateurs mondiaux.

3 Les biotechnologies vertes : des utilisations diversifiées

Les méthodes et outils de l'amélioration des plantes se sont perfectionnés au cours du temps. Au début, l'amélioration des plantes a surtout fait appel aux systèmes de reproduction (croisement et autofécondation) et à la sélection. Les progrès des connaissances en biologie, en particulier en génétique, ont permis de mettre au point un ensemble de méthodes appelées "biotechnologies vertes". Elles comprennent notamment l'haplodiploïdisation, le génotypage haut débit, la sélection génomique, la mutagénèse dirigée, etc.

Elles s'intègrent dans la « boite à outils » des sélectionneurs pour réaliser quatre grands objectifs : exploiter et élargir la diversité génétique, reproduire des plantes à l'identique, accélérer le cycle de création variétale et prédire la valeur des plantes candidates à la sélection.

4 Les biotechnologies vertes dans le quotidien des sélectionneurs français

Les nouvelles biotechnologies sont rapidement adoptées par les sélectionneurs et intégrées dans la routine des centres de recherche, dès qu'elles sont utilisables techniquement et réglementairement.

Il ressort des résultats de l'étude que les trois principales techniques actuellement utilisées sont la sélection assistée par marqueurs moléculaires, l'haplodiploïdisation et la culture d'embryons immatures.

La mutagénèse aléatoire a été et est encore très utilisée sur de nombreuses espèces ; des variétés issues de mutagénèse existent depuis près de 60 ans. La FAO a ainsi recensé en 2015, au niveau mondial, 3200 variétés directement obtenues par mutagénèse chez plus de 200 espèces cultivées.

Au cours des dix prochaines années, les obtenteurs prévoient une forte progression de la sélection génomique sur les grandes espèces et la progression de la mutagénèse dirigée sous réserve que celle-ci bénéficie dans l'Union européenne d'un cadre réglementaire adapté.

Ainsi, aujourd'hui, sauf pour les espèces mineures, **pratiquement toutes les variétés nouvelles qui arrivent sur le marché ont bénéficié d'une ou plusieurs techniques issues des biotechnologies vertes**.

5 Une nouvelle ère : la génétique de précision

Aujourd'hui, **les techniques les plus récentes de mutagénèse dirigée (ou « édition de gènes » ou « réécriture du génome ») apportent une plus grande précision et permettent de répondre plus rapidement aux enjeux agricoles**. Elles permettent le développement de caractères d'intérêt portant sur des résistances aux maladies, la tolérance au stress hydrique, des qualités nutritionnelles, etc.

Plus efficaces, plus faciles à mettre en œuvre et peu coûteuses, ces techniques ouvrent de nouvelles perspectives pour l'amélioration des plantes. Sous certaines conditions, elles devraient également permettre l'amélioration d'espèces mineures ou actuellement délaissées par les programmes d'amélioration variétale.

6 Un nécessaire encadrement non discriminatoire

Les plantes issues de mutagenèse dirigée ne sont pas distinguables de plantes classiques. Il est donc indispensable qu'elles bénéficient d'un encadrement réglementaire qui permette leur développement effectif en Europe. À l'inverse, **une réglementation discriminatoire favoriserait les importations de semences et de produits agroalimentaires des pays tiers au détriment du secteur semencier français.**

7 Les biotechnologies vertes au service de tous les types d'agricultures

Contrairement à une idée reçue, les variétés modernes issues de la recherche des entreprises de sélection sont plus rustiques, plus résistantes à des maladies, et demandent moins d'intrants ou les valorisent mieux. Elles sont donc aussi adaptées à des agricultures à faibles niveaux d'intrants. Plus généralement, **la mise en œuvre des biotechnologies vertes bénéficie à tous les types d'agricultures**.

Les nouvelles biotechnologies peuvent apporter de nouveaux caractères d'intérêt pour tous les agriculteurs tout en répondant plus rapidement à leurs demandes. Elles devraient ainsi permettre de **répondre au triple défi de l'agriculture** : **faire face à la sécurité alimentaire, mieux respecter l'environnement et s'adapter aux changements climatiques**.

C'est **la mobilisation de l'ensemble des outils et méthodes biotechnologiques**, et tout particulièrement la mutagénèse dirigée, qui permettra le maintien de la position forte de la France dans le secteur des semences donc le maintien d'une agriculture compétitive.

RAPPORT

Le groupe de travail *Nouvelles biotechnologies agricoles et alimentaires* de l'Académie d'Agriculture de France s'est saisi de la question de « la place des biotechnologies vertes dans la sélection française des espèces agricoles ». Il a dressé un bilan qualitatif et quantitatif des biotechnologies utilisées en amélioration des plantes et précisé quelles sont les biotechnologies actuellement privilégiées par les semenciers et leur potentiel de développement à l'horizon 2030.

L'étude a été construite d'une part à partir de travaux bibliographiques, de la consultation des bases de données et d'experts, et d'autre part par des entretiens avec des responsables d'entreprises de sélection présentes en France (76 centres de recherche privés de 23 entreprises et 4 centres de recherche publique). L'objectif était de connaître l'utilisation actuelle des biotechnologies et leur évolution prévisible à 15 ans.

- ## L'amélioration des plantes a contribué de façon très significative à l'augmentation des rendements agricoles au XX^{e} siècle

L'amélioration génétique des plantes cultivées vise à proposer des nouvelles variétés qui répondent mieux aux besoins des utilisateurs, agriculteurs, consommateurs, industriels comme aux nouvelles attentes de la société. Pour cela elle cherche à accumuler des caractères d'intérêt dans les variétés cultivées à partir des ressources génétiques présentes dans l'espèce (ou des espèces voisines) grâce à la sélection et aux croisements entre plantes qui permettent les échanges de gènes.

Dans l'histoire de l'humanité, l'amélioration des plantes a commencé avec la domestication de certaines espèces au Néolithique (10 000 ans) suite à la sédentarisation des chasseurs-cueilleurs devenus agriculteurs, et qui est à la base du développement des civilisations.

Les hommes ont choisi des plantes qui présentaient des avantages pour leur qualité de vie (facilité de récolte, de stockage, etc.). **Dans le cours du XIX^{e} et surtout du XX^{e} siècle, les avancées scientifiques ont permis une approche rationnelle de l'amélioration appelée aussi sélection variétale**, qui a fourni des plantes plus productives, plus résistantes aux ennemis des cultures, et de meilleures qualités pour l'utilisateur (industriel et consommateur). Ces améliorations ont été parallèles à une amélioration des techniques culturales, avec une augmentation des intrants, notamment la fumure azotée. Le résultat a été une augmentation très significative des rendements.

À titre d'exemple, depuis les années 1970, les rendements du blé ont été multipliés par 3 avec la révolution verte (due à l'introduction de gènes de nanisme chez les céréales à paille) ; les rendements du maïs ont été multipliés par 4 et ceux de la betterave sucrière par 2. On estime, respectivement pour chacune de ces trois espèces, une contribution de l'amélioration génétique de 40 %, 70 % et 50 %. Autre exemple, la tomate, quasi absente des marchés il y a un siècle, est devenue grâce à l'innovation variétale, le premier légume consommé en France. On peut ainsi citer de très nombreux exemples d'amélioration qui ont permis aux légumes de répondre aux goûts des consommateurs (endives moins amères, haricots verts moins filandreux, etc.).

- ## La France, premier exportateur mondial de semences et de plants

La production agricole repose sur une filière semences forte qui assure l'approvisionnement des agriculteurs en semences et plants de qualité. Cette filière assure également l'innovation variétale qui permet de répondre aux besoins d'un marché à la fois mondialisé et de plus segmenté dans un contexte économique et environnemental en rapide évolution.

Cette filière connaît une croissance importante (+65% dans les dix dernières années) avec aujourd'hui un chiffre d'affaires de plus de 3 milliards €, dont la moitié à l'exportation. Le solde positif du commerce extérieur du secteur était de 900 millions € en 2015, soit un tiers du solde agricole français. La France est ainsi le premier exportateur mondial de semences et de plants. Elle est aussi le premier producteur européen de semences et le troisième producteur mondial, derrière les Etats-Unis et la Chine.

- **L'importance de la recherche dans la réussite de la filière semences**

La recherche constitue un des facteurs de succès de cette filière sur le marché français et à l'exportation. En effet la durée de vie des variétés se raccourcit et le taux de renouvellement est très élevé : en France l'âge moyen des 10 premières variétés des principales espèces des grandes cultures est inférieur à 7 ans (Source : GNIS). De plus, le marché des semences est de plus en plus segmenté : il faut donc créer des variétés adaptées à chaque segment. **Les innovations variétales, donc les recherches dont elles sont issues, sont par conséquent indispensables pour les entreprises qui veulent pérenniser leur développement ou simplement survivre.**

Les entreprises de la filière semencière investissent ainsi 13 % de leur chiffre d'affaires dans la recherche, une proportion presque identique à celle des laboratoires pharmaceutiques (14%) et supérieure à celle de l'électronique (9 %) ! Le budget de la recherche privée française a augmenté de 67 % en cinq ans. Il a bondi de 236 millions à 393 millions € en 2016 (Source : enquête structure GNIS-2017).

Les centres de recherche privée emploient plus de 26 % des salariés de la filière semences, soit 3 150 personnes employées dans la recherche, ce dernier chiffre étant en forte augmentation depuis 5 ans (+ 38 %). Les effectifs dans la recherche ont progressé particulièrement aux postes biotechnologies avec un accroissement de 42 %.

Les performances de la recherche française expliquent ainsi en grande partie les réussites de la filière semencière de notre pays.

- **En moins d'un siècle de biotechnologies vertes ont bouleversé la sélection variétale**

Les biotechnologies vertes recouvrent toutes les interventions *in vitro* et au laboratoire sur les embryons, les organes, les tissus, les cellules ou l'ADN des végétaux, soit pour maîtriser ou accélérer leur production, soit pour modifier leurs caractéristiques. **L'annexe 1** définit ces différentes technologies.

Elles résultent d'un ensemble de sauts technologiques qui ont eu lieu depuis le début du XX^{e} siècle (**annexe 2**), soit principalement : la re-découverte des lois de la génétique (en 1900), la modification des génomes (mutagénèse par irradiation en 1927), la culture *in vitro* de plantes (initiée en 1939), la biologie moléculaire (découverte de l'ADN en 1953), et au XXI^{e} siècle, l'édition de gènes (en 2012).

Les biotechnologies vertes : des utilisations diversifiées

Les biotechnologies vertes sont très diverses et sont utilisées dans les programmes de sélection à des fins multiples. On distingue trois types de techniques, qui peuvent être associées entre elles :

◊ Les techniques de culture *in vitro* appliquées à la culture d'embryons immatures, la fusion de protoplastes, la micro-propagation, l'haplodiploïdisation.

◊ Les techniques qui modifient directement l'ADN ou le génome, comme la mutagénèse, la transgénèse ou le doublement chromosomique.

◊ Les techniques de marquage moléculaire du génome.

Ces techniques sont utilisées à diverses étapes des programmes d'amélioration pour :

◊ Exploiter et élargir la diversité génétique à la disposition du sélectionneur (culture d'embryons, transfert de gènes entre espèces différentes, mutagénèse, édition de gènes…) ;

◊ Reproduire des plantes à l'identique (micro-propagation) ;

◊ Accélérer la durée d'un cycle de création variétale (culture d'embryons immatures, haplodiploïdisation, transfert de gènes) ;

◊ Prédire la valeur des plantes candidates à la sélection : sélection assistée par marqueurs, sélection génomique.

Une nouvelle ère : la génétique de précision...

Les nouvelles techniques d'édition de gènes, ou mutagénèse dirigée, apportent une plus grande précision que la mutagénèse aléatoire : on parle maintenant de génétique de précision. Elles permettent d'obtenir de nouveaux caractères d'intérêt portant sur des résistances à des maladies, au stress hydrique, sur des qualités nutritionnelles ou technologiques, sans affecter le reste du génome. Ainsi, chez la vigne, la mutagénèse dirigée permettrait d'apporter une résistance génétique au mildiou, contribuant à diminuer fortement les traitements fongicides, sans modifier le reste du génome.

... et une rapidité de réponse

La mutagénèse dirigée permet aussi un gain de temps dans la création de variétés avec les caractères nouveaux obtenus. Ainsi, actuellement par la méthode conventionnelle du rétrocroisement, il faut de l'ordre de 25-30 ans pour introduire la résistance à la tavelure chez le pommier, avec la mutagénèse dirigée, l'introduction pourrait être réalisée en 5 ans et avec une plus grande précision.

Ces applications devraient se développer dans les 5-10 prochaines années. Des preuves de concept ont déjà été apportées dans nombreuses espèces : riz, blé, maïs, orge, sorgho, soja, chou, tomate, pomme de terre, laitue, oranger, peuplier, vigne, etc**.**

Plus efficaces, plus faciles à mettre en œuvre et très économiques elles ouvrent de nouvelles perspectives pour l'amélioration des plantes avec l'apport de nouveaux caractères. Elles devraient permettre l'amélioration d'espèces orphelines (dont le marché de trop petite taille ne permet pas les investissements lourds requis par les autres méthodes), et elles seront accessibles à la recherche publique comme aux entreprises de taille moyenne, ce qui devrait contribuer à limiter la concentration des entreprises de sélection.

D'autre part, les plantes qui en sont issues sont identiques à celles qui pourraient être obtenues par mutagénèse spontanée qui est à la base de toute la variation utilisée par le sélectionneur. Il est donc indispensable qu'elles bénéficient d'un encadrement réglementaire non discriminatoire qui permette leur développement effectif en Europe. À l'inverse, **une réglementation discriminatoire favoriserait les importations de semences et de produits agroalimentaires des pays tiers au détriment du secteur semencier français.**

• Tous les types d'agricultures bénéficient des biotechnologies vertes

Les biotechnologies permettent de créer plus rapidement qu'avec les méthodes conventionnelles, des variétés rustiques, résistantes à des maladies, et demandant moins d'intrants ou les valorisant mieux. Elles présentent donc aussi un intérêt pour les agricultures à faibles niveaux d'intrants, dont l'agriculture biologique. C'est déjà le cas chez le blé avec la variété Renan, très utilisée en agriculture biologique, et qui résulte d'hybridation interspécifique et des techniques de sauvetage d'embryons. C'est aussi le cas chez certains légumes comme la tomate.

• Des perspectives prometteuses

Les enjeux pour l'agriculture sont de plus en plus élevés pour faire face à **la sécurité alimentaire, à la transition agroécologique et aux changements climatiques.**

◊ L**e plan Agriculture Innovation 2025** a bien identifié l'amélioration des plantes et les biotechnologies comme un des leviers majeurs pour y répondre.

◊ Selon **la FAO** (Symposium des 15 et 16 février 2016) les biotechnologies sont une véritable fenêtre d'opportunité pour contribuer à rendre l'agriculture plus durable. Selon le directeur de la FAO « *nous avons besoin de tous les outils disponibles, de toutes les solutions, pour répondre aux défis d'aujourd'hui, dont les biotechnologies* ».

◊ L'**OCDE** vient de publier son nouveau rapport (décembre 2016) sur les perspectives de la science, la technologie et l'innovation. L'OCDE y dévoile les 10 tendances technologiques émergentes les plus prometteuses et qui s'articulent autour de 4 grands axes stratégiques : le numérique, les nouvelles technologies de la productique (robotique, nanotechnologies, impression 3D), **les biotechnologies et l'ingénierie du vivant** et enfin les technologies de l'énergie et des transports.

◊ Le Plan Ecophyto de réduction de l'usage des produits de protection des plantes a explicitement cité l'amélioration variétale comme un levier pour atteindre ses objectifs.

• Les biotechnologies dans le quotidien des sélectionneurs : les résultats de l'enquête

Les entreprises et organisations interrogées dans cette enquête (au total 80 centres de recherches privés et publics) ont des programmes de sélection d'amélioration sur vingt-huit espèces (16 plantes agricoles et 12 potagères). Ces espèces couvrent plus de 14 millions d'hectares, soit 80% des principales cultures.

L'enquête réalisée a permis d'estimer le poids des différentes biotechnologies actuellement utilisées en

France en 2015 et les perspectives à l'horizon 2030.

L'**annexe 3** présente les biotechnologies utilisées par espèce en 2015.

L'annexe 4 donne le poids relatif des différentes biotechnologies utilisées pour les principales espèces de grande culture.

L'**annexe 5** liste les entreprises qui ont répondu à l'enquête.

Les principaux enseignements de l'enquête sont résumés ci-après.

À cause de caractéristiques propres à chaque espèce, l'ensemble des méthodes n'est pas toujours disponible pour une espèce donnée. Par exemple, la régénération *in vitro* n'est pas encore disponible pour le maïs pour tous les génotypes, ce qui pourrait limiter ou compliquer la mise en œuvre de la mutagénèse dirigée chez cette espèce.

Les nouvelles techniques sont très rapidement adoptées par les sélectionneurs et intégrées dans la routine des centres de recherche lorsqu'il n'y a pas d'obstacle réglementaire. En levant des freins techniques importants, elles permettent d'accélérer et d'augmenter le progrès apporté par les variétés améliorées.

Il faut noter que **la mutagénèse aléatoire a été et est encore très utilisée sur de nombreuses espèces.** Les mutations obtenues ont été intégrées dans les ressources génétiques des sélectionneurs. Des plantes issues de mutagénèse existent depuis près de 60 ans et sont présentes dans 3 200 variétés chez plus de 200 espèces cultivées dans le monde (https://mvd.iaea.org/) sans compter les innombrables variétés dérivées de ces obtentions.

Les trois techniques actuellement les plus utilisées sont la sélection assistée par marqueurs moléculaires, qui est mise en œuvre sur de très nombreuses espèces, l'haplodiploïdisation et la culture d'embryons immatures. **Les biotechnologies vertes sont très largement utilisées pour l'amélioration des plantes cultivées**, les plantes de grande culture comme le blé, l'orge, le maïs, le colza, le tournesol, la betterave sucrière et les principales espèces potagères. Elles sont utilisées depuis des décennies et ont beaucoup contribué au progrès génétique sur différents caractères d'intérêt pour l'agriculteur et l'utilisateur (industriel et consommateur).

Ainsi, aujourd'hui, sauf pour les espèces mineures, **pratiquement toutes les variétés nouvelles qui arrivent sur le marché ont bénéficié d'une ou plusieurs techniques issues des biotechnologies vertes**.

Au cours des dix prochaines années, les obtenteurs contactés prévoient une forte progression de la sélection génomique sur les grandes espèces et la progression de la mutagénèse dirigée si celle-ci bénéficie d'un cadre réglementaire adapté.

CONCLUSIONS

Les biotechnologies vertes ont largement contribué à l'amélioration des espèces végétales qui font l'alimentation des français.

Les évolutions technologiques en cours permettent d'espérer que dans les 10 ans à venir une vague d'innovations variétales aidera l'agriculture à relever le triple défi du XXI^e^ siècle : produire plus, respecter l'environnement et s'adapter au changement climatique. Elles concerneront non seulement les espèces de grande culture mais les autres espèces comme les fruits, les légumes, la vigne, ainsi que les espèces mineures ou orphelines.

C'est la mobilisation de l'ensemble des outils et méthodes biotechnologiques et tout particulièrement la mutagénèse dirigée qui permettra le maintien de la position forte de la France sur le marché international de la semence végétale, un des rares marchés où nous sommes positionnés dans les trois premiers mondiaux. Notre agriculture pourra ainsi rester compétitive. Il est donc indispensable que ces techniques bénéficient d'un encadrement règlementaire qui favorise leur développement effectif.

ANNEXE 1 : GLOSSAIRE

Les biotechnologies vertes regroupent un grand nombre de méthodes et de techniques qui accompagnent le perfectionnement et la multiplication des plantes cultivées. Les principales d'entre elles sont listées ci-dessous, par ordre alphabétique.

Culture *in vitro* : méthode qui permet de multiplier des végétaux en grand nombre. Ainsi, grâce à elle, par exemple, un seul bourgeon de rosier fournira 300 000 plants en une année contre seulement 300 par greffage. **La guérison des maladies virales des végétaux** s'effectue également par culture *in vitro* des méristèmes. Les plants de fraisier ont ainsi été guéris du virus de la jaunisse du fraisier.

Génomique : domaine de la génétique qui étudie la structure et le fonctionnement des génomes. Elle permet de préciser la position des gènes sur les chromosomes, leur fonction et la régulation de leur expression. Elle s'appuie largement sur les techniques de séquençage de l'ADN et de traitements bioinformatiques des données.

Génotypage : constitution des cartes d'identité génétique des plantes (identification de certaines zones du génome, voire des gènes) de façon à repérer les différences entre elles. C'est une des applications de la génomique.

Haplométhode ou haplodiploïdisation : obtention de plantes entières directement à partir des cellules reproductrices. L'utilisation de cette méthode diminue au moins de moitié le temps nécessaire à la création d'une variété qui selon l'espèce varie habituellement de 8 à 30 ans. Elle est couramment utilisée pour la sélection du maïs, du colza, du riz, etc.

Hybridation : croisement contrôlé par le mode de reproduction naturel de l'espèce entre deux types de plantes appartenant à la même espèce ou à deux espèces différentes.

Hybridation somatique par fusion de protoplastes : obtention d'une plante entière à partir de la fusion *in vitro* de deux cellules. Elle permet la création de plantes hybrides entre espèces qui ne se croisent pas. Elle a permis par exemple le transfert à la pomme de terre de la résistance à la maladie du mildiou.

Mutagénèse aléatoire : ensemble des méthodes qui permettent d'augmenter la fréquence de certaines mutations. Par exemple, une exposition à certains traitements physiques (rayonnements ionisants) ou chimiques permet de multiplier par 1 000 environ cette fréquence. Le sélectionneur doit alors observer un nombre réduit de plantes dans la même proportion pour repérer et trier les nouveaux caractères intéressants apparus aléatoirement. C'est ainsi que des milliers de variétés cultivées dans le monde dérivent de mutagénèse, comme par exemple des tournesols enrichis en acide oléique, des variétés de pomme ou de raisin plus colorées, des pamplemousses sans pépins, etc.

Mutagénèse dirigée, ou édition de gènes : l'utilisation d'enzymes (nucléases) découvertes récemment, permet d'induire au niveau du génome, une coupure de la chaîne d'ADN en un point précis ; les mécanismes de réparation de l'ADN en recollant les deux parties de la chaîne vont entraîner la perte d'un ou deux nucléotides, ce qui se traduit par une mutation ponctuelle. CRISPR-Cas9 ou Cpf1 est la technique la plus récente et la plus facile de ce type à utiliser.

Mutation : changement réalisé dans la séquence de l'ADN qui peut se traduire par une substitution, une addition ou une élimination d'éléments (nucléotides) de l'ADN. Ce changement peut être ponctuel, un seul nucléotide, ou plus important portant sur un segment d'ADN jusqu'à des milliers, voire des millions de nucléotides. Les mutations sont à la base de la diversité des êtres vivants, notamment des plantes sauvages et cultivées (la domestication des plantes a débuté en sélectionnant des mutations).

Mutation spontanée : mutation provoquée par différents facteurs naturels tels que des défauts survenus lors de la copie de l'ADN, les rayons ultraviolets, des stress environnementaux et des attaques parasitaires. Leur fréquence est de l'ordre d'une mutation pour 8 à 10 millions de nucléotides (voir plus loin l'article "Séquençage") à chaque génération. On récolte donc, sans le savoir, environ 150 millions de mutations quand on récolte un hectare de blé !

Sauvetage d'embryons par culture *in vitro* qui autrement avorteraient sur la plante mère, en particulier dans le cas de croisements entre espèces. Ceci a permis par exemple l'obtention des triticales, obtenus par croisement du blé et du seigle, largement cultivés aujourd'hui notamment en agriculture biologique, ou encore l'introduction de résistances à des maladies chez la tomate à partir d'espèces sauvages.

Sélection assistée par marqueurs (SAM) : sélection des plantes utilisant leur carte d'identité génétique, après avoir établi la relation entre des marqueurs moléculaires de l'ADN et les caractères recherchés.

Sélection génomique : forme de sélection assistée par marqueurs qui vise à cumuler au cours des générations le maximum de gènes favorables, même à effets faibles, grâce à de très nombreux marqueurs moléculaires répartis sur l'ensemble du génome.

Séquençage : détermination de l'enchaînement des éléments (nucléotides A, T, G, C) de l'ADN du génome d'une plante. La séquence complète d'un maïs, par exemple, comprend environ 2,5 milliards de lettres (nucléotides) soit un livre d'un million de pages. On a ainsi découvert qu'il y a le même nombre de gènes chez une plante que chez un homme : entre 20 000 et 30 000 gènes. Plus de 60 espèces parmi les plantes les plus cultivées ont été séquencées. Parmi lesquelles : banane (2012), cacaoyer (2011), caféier (2014), clémentine (2014), fraisier des bois (2011), haricot (2014), kiwi (2013), lin (2012), maïs (2009), manioc (2014), melon (2012), myrtille (2014), pomme de terre (2011), pommier (2010), riz (2002), tomate (2012), vigne (2007) etc.

Transgénèse : introduction dans le génome d'une plante d'une séquence d'ADN contenant un gène issue d'une espèce différente ou non afin d'apporter un nouveau caractère recherché. Ce gène est en général préalablement reconstruit *in vitro* pour le rendre actif dans la plante. Des plantes génétiquement modifiées ont été cultivées sur 185 millions d'hectares dans le monde en 2016. A cause de la règlementation en Europe, les entreprises ne l'utilisent pas.

ANNEXE 2 : LES PRINCIPALES TECHNIQUES ET LEUR DATE DE PREMIÈRE UTILISATION

Méthode	Date	Intérêt	Quelques exemples
Culture d'embryons immatures	1922	Création d'hybrides interspécifiques (production d'hybrides entre plantes qui se croisent difficilement bien que proches génétiquement, en assurant la survie des embryons).	Tomate (la recherche de gènes de résistances à des maladies se fait à partir de croisements avec de nombreuses espèces de tomate « sauvage » telles que *Solanum chilense* ou *Solanum peruvianum*).
		Augmentation du nombre de générations par unité de temps. Pas besoin d'attendre la formation de graines.	Tournesol (4 à 5 générations par an au lieu d'une).
Mutagénèse aléatoire	1927 1947	Irradiation de graines (1927) (ou d'organes végétatifs) ou utilisation de produits chimiques (1947) pour l'obtention de nouveaux caractères	Colza (colza demi-nain, profil en acide gras modifié).
Doublement chromosomique	1938	Doublement du stock chromosomique provoquant une augmentation de la taille des appareils végétatif (feuille, tige, racine).	Ray-grass (plus adapté à la pâture, plus résistant à des maladies).
Micropropagation	1946	Production de plantes à l'identique, en toute saison, afin de disposer d'un grand nombre de plantes sans en perdre les propriétés. Cela permet également de multiplier les plantes dont la reproduction ne se fait pas par voie sexuée.	100% des fraisiers, poireau (parents femelles d'hybride).
Culture de méristèmes	1950	Assainissement des cultures *in vitro* (en cas d'infection des plantes par des virus).	100% des pommes de terre (guérison des variétés infectées par des virus à partir de 1955).
Utilisation de marqueurs (biochimiques et génétiques)	1957	Utilisation de marqueurs monogéniques liés à un gène pour le transfert d'un gène d'une plante à une autre par une succession de croisements et rétrocroisements. Evite le phénotypage qui peut être lourd.	Tournesol (introgression de gènes de résistance au mildiou).
	1985	Utilisation de marqueurs moléculaires du génome pour étudier la diversité génétique des plantes, la détection de QTL, etc.	Blé, chou, colza, maïs, pomme de terre, etc.
Haplodiploïdisation ou haplométhode	1922 1952	Accélération de la sélection par l'obtention de lignées homozygotes en une seule étape (au lieu de 6-7 générations d'autofécondation en partant du croisement de deux lignées).	Colza (par cultures *in vitro* de microspores), maïs (par croisement avec une lignée inductrice), blé (culture *in vitro* d'anthères ou croisement avec le maïs ou l'orge bulbeuse, avec sauvetage d'embryons).
Fusion de protoplastes	1972	Permet l'échange de matériel génétique cytoplasmique entre espèces apparentées.	Chou, colza, pour la restauration de l'activité chlorophyllienne de plantes mâles-stériles issues de croisement avec le radis. Transfert de la stérilité mâle du tournesol à la chicorée.
Sélection assistée par marqueurs	1988	Utilisation des marqueurs moléculaires du génome, en grand nombre, pour l'introgression de gènes, le tri des plantes après croisements sans recours au phénotypage, le cumul de QTL favorables (*Quantitative Trait Locus*) à effets assez forts.	Résistance au mildiou chez le tournesol. Résistance au Phoma chez le colza.
Sélection génomique	2001	Grâce au marquage à très haute densité, sélection de caractères sous le contrôle de nombreux gènes quelle que soit l'importance de leurs effets.	Tomate (qualité du fruit), maïs.

ANNEXE 3 : LES BIOTECHNOLOGIES UTILISÉES PAR LES ENTREPRISES DE SÉLECTION, EN FRANCE, EN 2015, PAR ESPÈCE CULTIVÉE

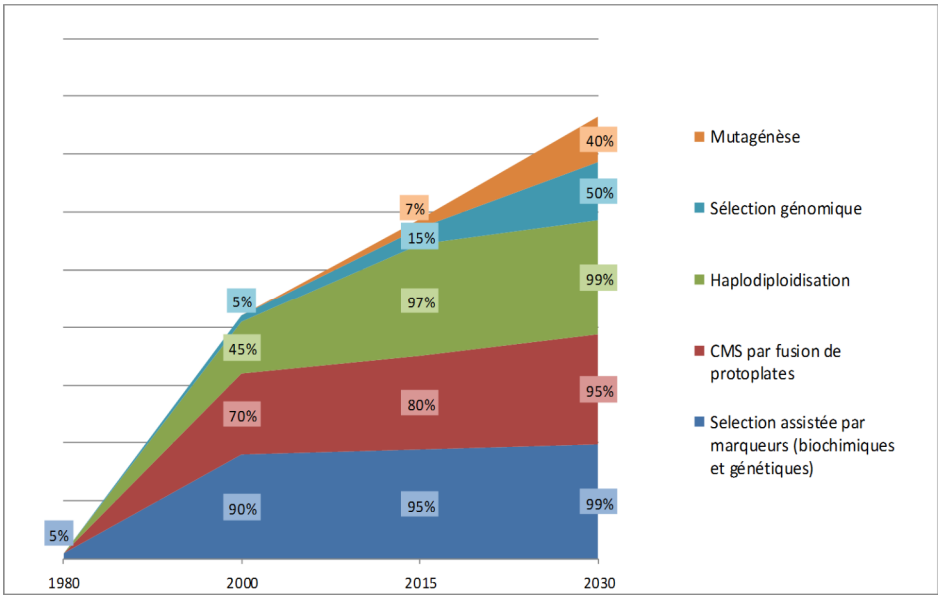
Espèce	Surfaces cultivées (ha)	Sélection assistée par marqueurs (génétiques)	Culture d'embryons immatures	Haplo-diploïdisation	Culture de méristèmes	Sélection assistée par marqueurs (biochimiques)	Micro-propagation	Mutagénèse aléatoire (chimique)	Fusion de protoplastes
Blé tendre	5 240 000	■	■	■					
Maïs	3 300 000	■	■	■				■	
Orge	1 765 000	■	■	■					
Colza	1 500 000	■	■	■	■	■		■	■
Tournesol	680 000	■	■					■	
Betterave	435 000	■	■	■			■	■	
Triticale	390 000	■	■	■					
Blé dur	320 000	■	■						
Pois	305 000	■							
Pomme de terre	170 000	■			■				
Sorgho	62 000	■				■			
Haricot	32 000		■						
Melon	14 000	■	■	■					
Carotte	12 000	■	■	■					
Oignon	11 000	■	■	■	■				
Laitue	9 000	■	■				■		
Ail et échalote	5 000		■	■	■				
Poireau	5 000	■							
Tomate	4 780	■	■	■					
Chou-fleur/ Chou/ Brocoli	3 620	■	■	■	■				■
Courgette	2 950		■			■			
Concombre	1 560	■	■	■					
Pastèque	886	■	■						
Piment et poivron	595	■	■	■					
Nombre d'espèces		**21**	**20**	**14**	**5**	**3**	**2**	**4**	**1**

ANNEXE 4 : POIDS RELATIF DES DIFFÉRENTES BIOTECHNOLOGIES UTILISÉES POUR LES PRINCIPALES ESPÈCES DE GRANDE CULTURE

Cette analyse n'a été possible que pour les espèces dont les entreprises interrogées fournissent entre 75% et 95% du marché et pour lesquelles il existe des informations sur les parts de marché des entreprises Les réponses individuelles pour 2015 et la projection 2030 ont été pondérées par leur part de marché effective en 2015. Les résultats pour les années 1980 et 2000 sont à dire d'experts. Pour cette approche quantitative, seules les principales techniques citées par les entreprises ont été exploitées. D'autres techniques sont utilisées mais plus rarement, dans le cadre de programmes spécifiques de sélection, ou par seulement quelques acteurs.

Les résultats sont présentés par espèce. **L'usage des différentes méthodes biotechnologiques est présenté sous forme de graphiques commentés espèce par espèce. En ordonnée, est indiqué le pourcentage du nombre de variétés présentes sur le marché français qui ont bénéficié d'une technique particulière directement ou via un parent même lointain** (la plupart des variétés sont le résultat de l'usage cumulé de plusieurs biotechnologies). Ainsi pour le colza, en 2015, stérilité mâle cytoplasmique (obtenue par fusion de protoplastes) est utilisée pour 80% des variétés commercialisées, l'haplodiploïdisation pour 97% des variétés.

LE COLZA



Commentaires :

La **sélection assistée par marqueurs** (SAM) a connu un développement spectaculaire entre les années 80 et 2000. Ce sont d'abord des marqueurs biochimiques qui furent utilisés pour les teneurs en glucosinolates et acide érucique (des molécules indésirables pour l'alimentation), ainsi que pour le profil lipidique. L'utilisation des marqueurs biochimiques n'était possible que pour certains caractères.

Le développement des marqueurs moléculaires a permis d'avoir des marqueurs liés à tout type de caractères, par exemple pour les résistances à des maladies (phoma, hernie) et les propriétés de l'huile. En 2030, la SAM devrait permettre aux entreprises d'avancer sur les teneurs en protéines des tourteaux.

La **fusion de protoplastes** a eu un impact majeur pour le colza avec la technique « Ogu-INRA ». En 1974, l'INRA réalise par croisements inter-génériques suivis de cultures d'embryons immatures in vitro, le premier transfert de la stérilité mâle du radis au chou, puis au colza. La fusion de protoplastes est ensuite utilisée pour rétablir l'activité chlorophyllienne des plantes ainsi obtenues. Après plusieurs années de travaux, l'INRA brevète la technique des cytoplasmes mâle-stériles « Ogu-INRA », qui permettra d'obtenir la stérilité mâle cytoplasmique (CMS) nécessaire à la production d'hybrides de colza.

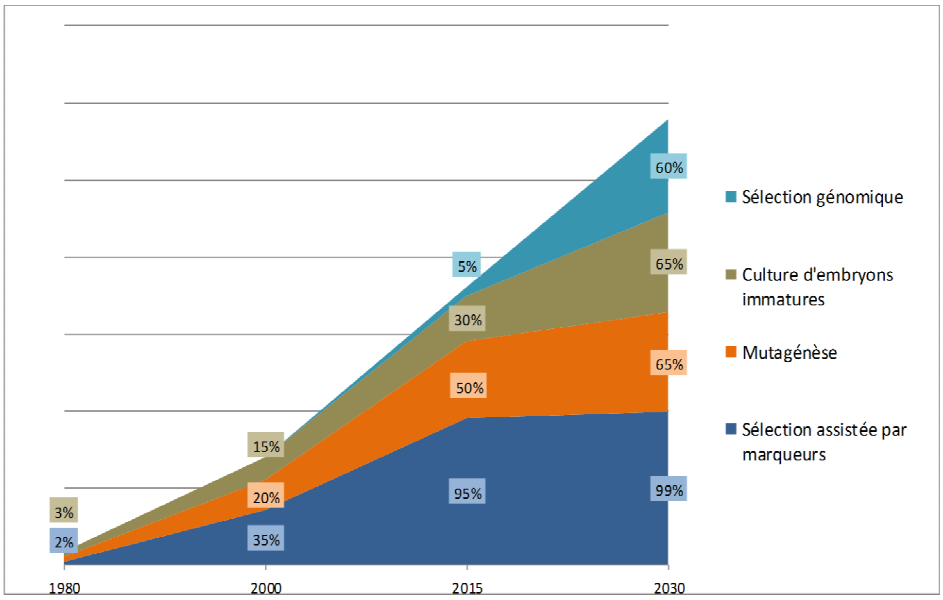
La technique de l'**haplodiploïdisation** (par culture *in vitro* de micro-spores suivie de doublement spontané ou induit des plantes haploïdes obtenues) est très facile à mettre en place pour toutes les variétés de colza et est très largement utilisée.

La **mutagénèse aléatoire** via l'exposition à des agents chimiques ou des rayons gamma a permis de créer des variétés avec des profils en acide gras particuliers, des tolérances à des herbicides et des variétés présentant des caractères de résistance au froid intéressants pour la culture au nord de l'Europe grâce à l'isolement du gène de nanisme par l'INRA.

En 2030, cette mutagénèse aléatoire devrait être remplacée par la **mutagénèse dirigée** (outils du système CRISPR/CAS 9 ou CRISPR/Cpfl1) et permettre le développement de nouveaux caractères d'intérêt pour le colza. Les projections de l'enquête en 2030 ne prennent pas en compte une interdiction de leur utilisation qui découlerait de la classification de ces techniques en OGM (le coût réglementaire serait trop élevé et le rejet des OGM bannirait le développement des variétés qui pourraient éventuellement être commercialisées), mais reflètent la prudence du secteur à la veille de décisions européennes décisives.

La **culture d'embryons immatures** est faiblement utilisée.

LE TOURNESOL



Commentaires :

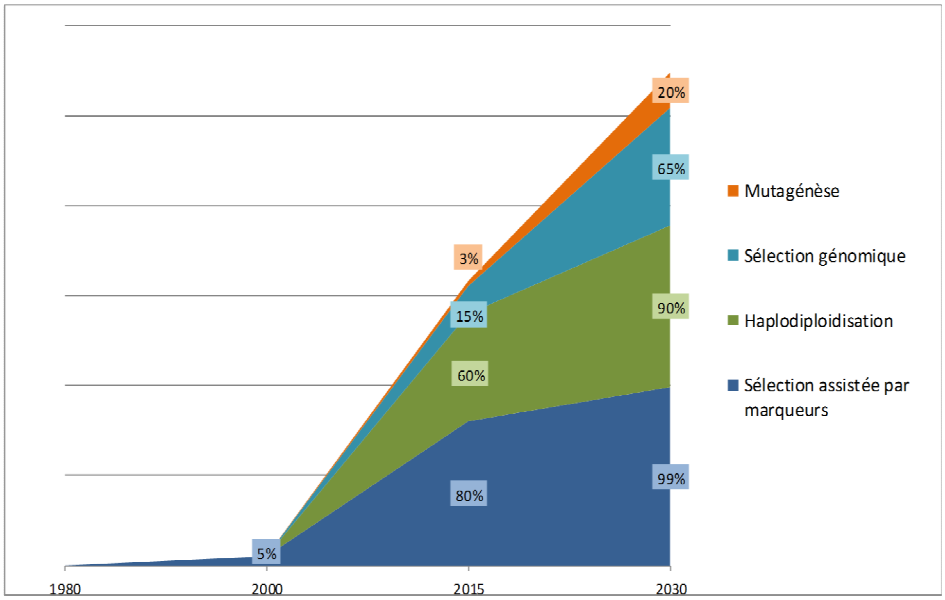
La **sélection assistée par marqueurs**. Elle est en œuvre en 2015 avec des marqueurs moléculaires, utilisés pour "marquer" des caractères de résistances à des maladies (mildiou) et à des adventices (orobanche), ainsi que la teneur en acide oléique et en huile. Actuellement, la SAM est utilisée en routine dans le cadre de l'introduction de la résistance au mildiou dans les variétés commerciales.

La **mutagénèse aléatoire** (par des agents chimiques) a permis, grâce à un programme russe développé en 1976, d'obtenir des variétés riches en acide oléique, ce qui explique la part importante des variétés qui en sont issues depuis 2000. Concernant le caractère de résistance à des herbicides, celui-ci a d'abord été récupéré dans des tournesols sauvages qui présentaient cette caractéristique aux USA, mais ensuite ce caractère a été obtenu grâce à la mutagénèse aléatoire.

Le développement de cette technique est freiné par la difficulté de régénérer des plantes entières obtenues par culture *in vitro* pour le tournesol.

La **culture d'embryons** est très facile à utiliser chez le tournesol et a été largement développée pour accélérer l'introduction dans les nouvelles variétés de la résistance au mildiou.

LE MAÏS



Commentaires :

La **sélection assistée par marqueurs moléculaires** est très utilisée en 2015 avec un développement extrêmement rapide en 15 ans, du fait du développement des marqueurs SNP (single nucleotide polymorphism, polymorphisme sur un seul nucléotide). Elle est ainsi utilisée en sélection de routine pour la détection de très nombreux critères comme la résistance à des maladies. Les marqueurs moléculaires sont aussi utilisés pour l'introduction de résistances, pour la connaissance des distances génétiques entre parents, la variabilité des lignées…).

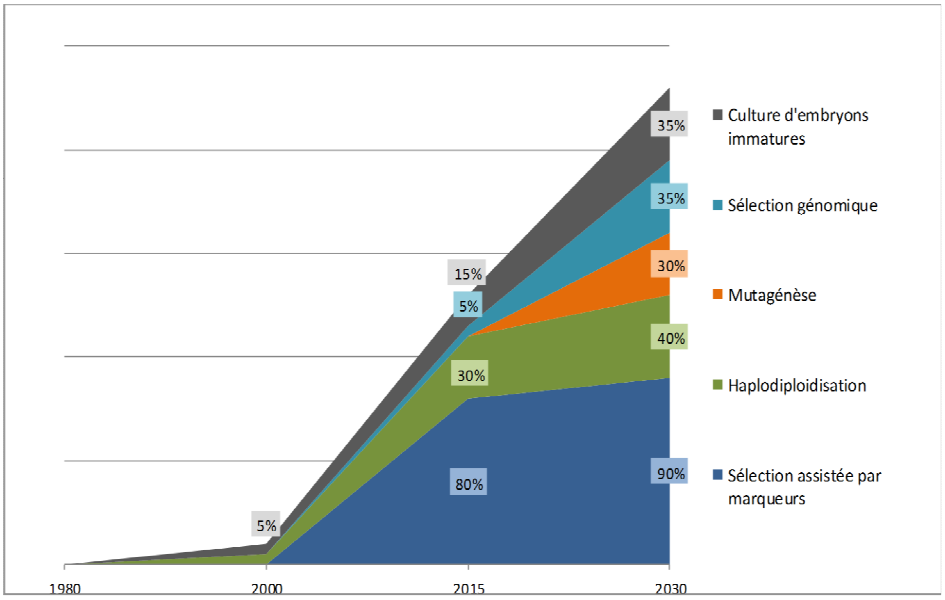
L'**haplodiploïdisation** (par croisement avec un génotype inducteur d'haploïdisation) a permis une accélération nette de l'obtention de lignées pures, nécessaires à la production d'hybrides. Elle est largement utilisée.

La **culture d'embryons immatures** est parfois utilisée pour accélérer des générations de fixation.

La **mutagénèse aléatoire** ne représente qu'un pourcentage très faible des variétés sur le marché en 2015. L'utilisation de la mutagénèse dirigée permettrait de développer de nouveaux caractères intéressants et de façon rapide, si l'évolution de la réglementation le permet.

La **sélection génomique** présente des perspectives très importantes. Elle permet de suivre un nombre de gènes quantitatifs importants, ce qui augmente la précision de la sélection des caractères qui sont sous le contrôle de plusieurs gènes (ex : rendement, précocité, digestibilité du maïs ensilage). Elle est en revanche peu utilisée pour les résistances à des maladies.

LE BLÉ



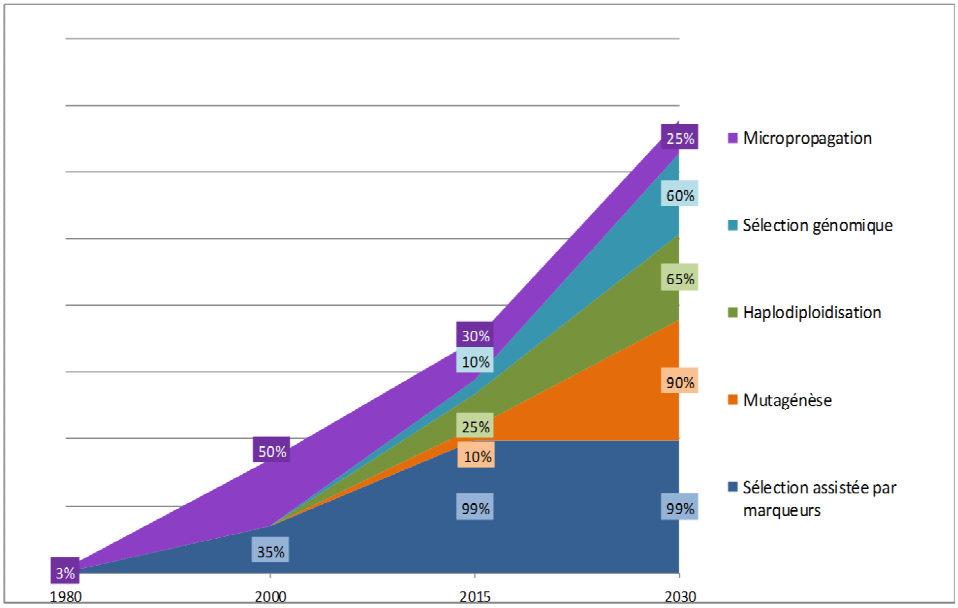
Commentaires :

La **sélection par marqueurs** et les techniques d'**haplodiploïdisation** (cultures d'anthères *in vitro* ou pollinisation par l'orge bulbeuse ou par le maïs) se sont développées de façon importante ces 15 dernières années (première variété par haplodiploïdisation en 1983) et représentent les principales techniques utilisées avec la **culture d'embryons immatures** (pour des croisements interspécifiques).

Les perspectives de développement des autres techniques, telles que **sélection génomique** et la **mutagénèse dirigée,** sont réelles mais dépendront de leur coût et de la rentabilité de leur usage pour l'espèce blé. La **sélection génomique** pourrait se développer s'il y a une forte baisse des coûts de sa mise en œuvre.

La mise en œuvre de la **mutagénèse dirigée** est dépendante de la levée des possibles freins réglementaires et des difficultés techniques.

LA BETTERAVE SUCRIÈRE



Commentaires :

Le doublement chromosomique, qui a été largement utilisé jusque dans les années 2000 pour la création de variétés triploïdes, est maintenant très peu utilisé, avec le développement de variétés diploïdes.

La sélection assistée par marqueurs est utilisée pour la création de l'ensemble des variétés présentes sur le marché en 2015 et a connu, comme pour les autres espèces, un développement rapide pour la résistance à des maladies. La sélection génomique est en cours de développement.

La **mutagénèse dirigée** devrait connaître un fort développement en l'absence de verrou réglementaire.

ANNEXE 5 : LISTE DES OBTENTEURS PRIVÉS QUI ONT PARTICIPÉ À L'ENQUÊTE

Agri-obtention	OBS
Barenbrug	RAGT Semences
Caussade Semences	SAATEN-UNION France
DSV France	Sakata
Euralis Semences	Secobra
Florimond Desprez	Syngenta
HM Clause	SESVanderHave
Jouffray Drillaud	Soltis
KWS	Terre de lin
Limagrain	Unisigma
Maïsadour Semences	Vilmorin MKS
Monsanto	