

LES ARBRES FORESTIERS GENETIQUEMENT MODIFIES (AGM)

*Ouahiba MEDDOUR-SAHAR, Rachid MEDDOUR & Arezki Derridj
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou*

1. Introduction

La compréhension des mécanismes responsables de la galle du collet, maladie connue depuis l'antiquité, a permis la mise en évidence d'un transfert génétique naturel. Elle est à l'origine des techniques de transformation génétique utilisées aujourd'hui.

Plusieurs découvertes scientifiques ont permis d'aboutir à l'obtention de la première plante transgénique en 1983. Dans le cas des arbres, les premiers résultats positifs n'ont été obtenus qu'en 1987, chez le peuplier (FILLATI *et al.*, 1987 ; PYTHOUD *et al.*, 1987).

Au moins 35 pays effectueraient des travaux sur les arbres transgéniques, soit au niveau des laboratoires, soit avec des expérimentations dans les champs, notamment dans les pays développés, mais également dans les pays en développement ou en transition, comme l'Inde, la Chine, l'Indonésie, le Chili, le Brésil et l'Afrique du Sud. Sur les 205 autorisations d'application enregistrées à la fin de 2003, 73,5% provenaient des Etats-Unis, 23% d'autres pays membres de l'OCDE (en particulier, la Belgique, le Canada, la France, la Finlande, la Nouvelle-Zélande, la Norvège, le Portugal, l'Espagne et la Suède) et 3,5% d'ailleurs (le Brésil, la Chine, le Chili, l'Afrique du Sud et l'Uruguay). Seule la Chine a signalé une dissémination commerciale d'arbres transgéniques, avec quelque 1,4 million de plants sur une superficie de 300-500 hectares en 2002. Cependant, selon la FAO (2005), les arbres génétiquement modifiés représentent à peine 20 % des 27.000 activités biotechnologiques qui ont été recensées au cours des 10 dernières années à travers le monde.

Les perspectives envisagées sont une production de bois accrue et l'amélioration de la qualité, ainsi que la résistance à des insectes, maladies et herbicides. Parmi les avantages escomptés, on indique une réduction des coûts de production et de transformation du bois, ainsi qu'une réduction des coûts financiers et environnementaux dans la fabrication de la pâte à papier.

2. La transgénèse

Technique de génie génétique permettant l'ajout d'un ou de plusieurs **gènes** étrangers (transgène) au **génome** d'un être vivant, de façon à provoquer une ou des modifications dans les caractéristiques de ce dernier.

2.1. Qu'est-ce qu'un arbre transgénique ?

Un arbre transgénique est un arbre génétiquement modifié pour renfermer certains gènes particuliers. Au cours du processus de modification génétique, on ajoute ou on retire des gènes du génome de l'arbre à l'aide de techniques, telles que l'ADN recombinant et la mutagenèse. Le génie génétique permet d'incorporer les gènes désirés beaucoup plus vite que les procédés traditionnels de reproduction sélective ou d'hybridation, qui prennent parfois des décennies pour intégrer complètement les caractères d'un arbre à un autre.

2.2. Etapes de la transgénèse : Identifier, isoler, intégrer, multiplier et transférer un gène d'intérêt

La première étape est l'identification d'un caractère que l'on veut introduire dans la plante, comme par exemple des caractères de qualité nutritionnelle, la résistance à certains insectes ou maladies, à des herbicides, etc. Le gène d'intérêt peut provenir de tout organisme vivant, plante, animal ou bactérie puisque le code génétique est universel. Il doit ensuite être isolé de l'organisme donneur. Il est intégré dans une construction génétique associant souvent un gène marqueur. Ce gène marqueur permet de sélectionner les cellules qui ont intégré le gène d'intérêt. La construction est ensuite multipliée (clonée) afin de disposer d'une quantité suffisante d'ADN pour son introduction dans les cellules végétales que l'on veut transformer.

Il y a plusieurs méthodes pour introduire un gène dans une cellule : la technique la plus couramment utilisée est la transformation biologique. Cette technique utilise une bactérie du sol, *Agrobacterium*, qui a la propriété de réaliser naturellement la transformation génétique d'une plante, afin de la parasiter. Ainsi, une construction génétique introduite dans la bactérie (rendue avirulente au préalable) sera transférée dans la plante et intégrée à son génome.

La transformation et la régénération étant des opérations délicates, le génotype de la plante choisie est celui qui facilite ces étapes. C'est pourquoi les plantes retenues sont ensuite soumises à une succession de rétrocroisements afin d'introduire le gène dans le matériel-élite et d'obtenir de nouvelles variétés commerciales exprimant ce caractère.

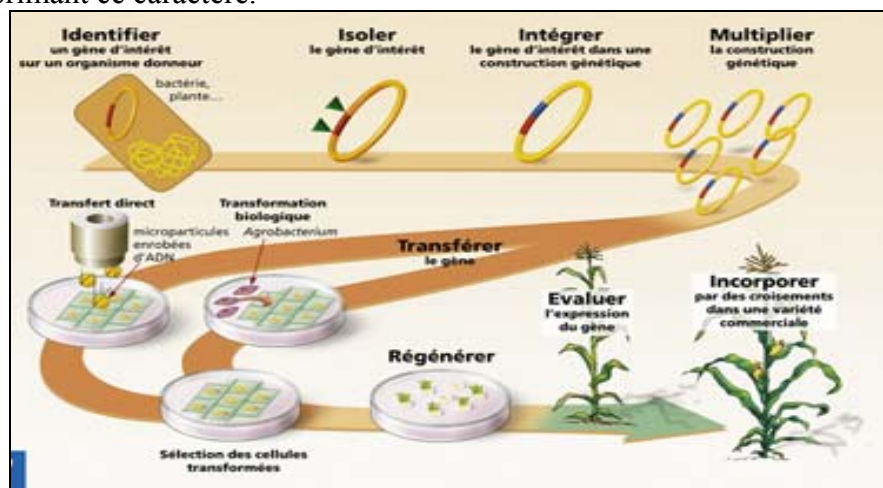


Fig. 1 – Les différentes étapes de la transgénèse

D'après BOERJAN *et al.* (1996), la plupart des modifications génétiques des arbres forestiers ont été faites par un transfert d'ADN au moyen d'une bactérie *Agrobacterium* sp. Mais, le bombardement avec des particules enduites d'ADN, appelé « biolistique », a également été utilisé.

2.3. Types d'arbres forestiers transgéniques dans le monde

Selon un rapport de la FAO (2005), les recherches et les applications biotechnologiques en foresterie avancent à grands pas. Au moins 140 espèces d'arbres sont concernées par des travaux de recherche et sont essentiellement limitées à 6 genres représentant environ 60 % des activités : Acacia, Chêne, Eucalyptus, Peuplier, Pin et Sapin.

Aux États-Unis, ainsi qu'au Canada, parmi les espèces d'arbres impliquées, on trouve le Peuplier, le Pin, le Copalme d'Amérique (*Liquidambar* sp., arbre producteur de gomme douce) et l'Eucalyptus qui recouvrent ensemble 85% des applications.

Bien que les arbres transgéniques aient des applications dans différentes industries, leur développement est actuellement axé sur l'industrie forestière. Les chercheurs créent des arbres transgéniques qui renferment des caractères spéciaux visant un large éventail d'applications :

- ◆ une accélération de la croissance ;
- ◆ une amélioration de la qualité de la fibre ligneuse ;
- ◆ une amélioration de la capacité de phytoremédiation, un processus utilisant les végétaux pour nettoyer les sols et les eaux pollués ;
- ◆ une résistance améliorée aux insectes et aux maladies ;
- ◆ une résistance améliorée aux stress environnementaux, tels que le froid, la sécheresse ou les inondations.

Quatre caractères concernent 80 % des applications : tolérance à un herbicide (32 %), gènes marqueurs (27 %), résistance à un insecte (12 %) et modification de la lignine (9 %).

3. Génie génétique du peuplier

Le peuplier (*Populus*) est le genre d'arbre forestier où *la modification génétique a été le mieux étudiée*, car il est relativement facile à transformer. Il a un génome petit, il pousse vite, et il peut être propagé de façon asexuelle. Autrement dit, c'est une essence idéale pour l'étude de la transgénèse d'arbres forestiers. Aussi, nous la retiendrons à titre d'exemple pédagogique.

Les principales étapes de la transformation génétique et de la culture in vitro du peuplier sont résumées dans la figure 2.

Il faut généralement compter 8 à 12 mois pour ce processus, qui comporte environ 6 étapes. Deux composantes initiales sont nécessaires : un clone spécifique de peuplier, cultivé dans des conditions stériles in vitro, et la souche compatible d'Agrobactérium portant sur son plasmide les gènes à introduire. L'inoculation de l'Agrobactérium constitue la première étape et permet à la bactérie d'entrer en contact avec les cellules végétales et de les infecter. Par la suite, il y a dégradation ou incorporation de l'ADN provenant du plasmide d'Agrobactérium au sein du génome de l'arbre. Afin de favoriser la croissance des cellules transformées génétiquement, on ajoute un antibiotique au milieu de culture des cellules végétales, ce qui constitue l'étape de la sélection. Après avoir identifié les cellules transformées, on les multiplie afin de régénérer des plantules. Par la suite, les plantules in vitro sont transférées sur un milieu de culture, pour l'enracinement. Une fois les plantules bien enracinées, le matériel est soumis à l'acclimatation, en vue de son transfert en serre (SEGUIN, 1998).

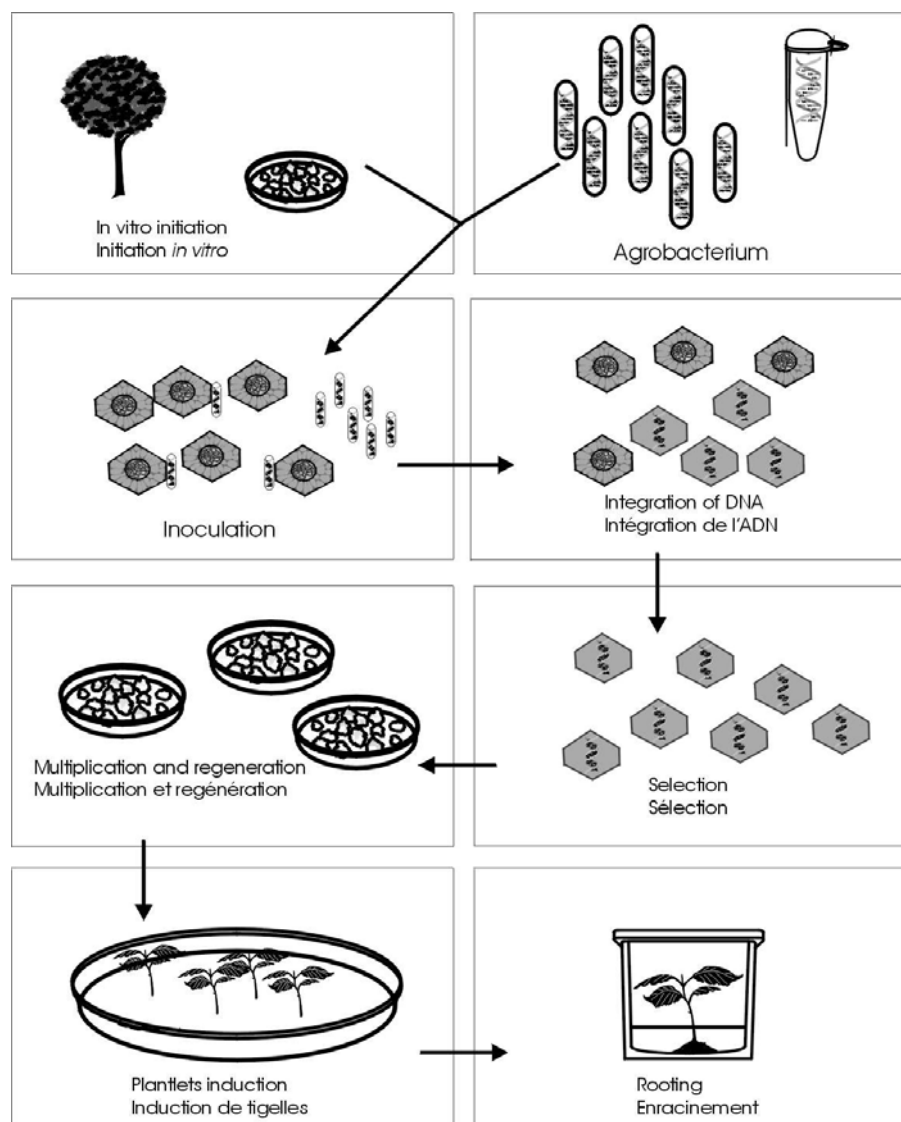


Fig. 2 – Les différentes étapes de la de la transformation génétique et de la culture in vitro du peuplier

3.1. Résistance aux insectes

L'utilisation de la bactérie *Bacillus thuringiensis* pour la lutte contre les insectes ravageurs a fait l'objet de descriptions exhaustives par plusieurs auteurs, tels que GILL *et al.* (1992), KNOWLES & DOW (1993) et CANNON (1995). Mentionnons brièvement, les travaux menés chez le peuplier dans plusieurs laboratoires par CORNU (1996), LEPLÉ *et al.* (1995), McCOWN *et al.* (1991), qui ont permis de produire des arbres transgéniques plus résistants aux insectes ravageurs.

3.2. Résistance à des pathogènes forestiers

Chez le peuplier, les pertes forestières causées par des infestations de champignons ou de bactéries sont importantes. Les gènes introduits pour obtenir cette résistance peuvent être responsables de la production de protéines antifongiques ou antibactériennes (CORNELISSEN, 1987). Différentes approches, actuellement au stade expérimental, permettront de déterminer l'efficacité de ces stratégies chez les arbres forestiers.

3.3. Résistance aux herbicides

Jusqu'à présent, on a créé des peupliers transgéniques résistants à plusieurs types d'herbicides, tels le glyphosate et la phosphinotricine.

3.4. Modification de la lignine

Les voies biochimiques de la synthèse de lignine ont fait l'objet de nombreuses recherches et plusieurs gènes responsables des enzymes impliquées ont été caractérisés (BOUDET *et al.*, 1995 ; WHETTEN & SEDEROFF, 1995). Ces travaux ont permis la modification de ces voies métaboliques par génie génétique et les résultats sont très prometteurs (CAMPBELL & SEDEROFF, 1996). Certains de ces arbres transgéniques renferment en effet une lignine modifiée qui serait éventuellement plus facile à extraire (BOERJAN *et al.*, 1996).

3.5. Capacité de phytoremédiation

L'utilisation de peupliers modifiés génétiquement pour éliminer les contaminants chimiques du sol est maintenant possible. Par exemple, on a introduit chez le peuplier un gène provenant d'une bactérie capable de dégrader des substances toxiques, les chlorophénols. Ces arbres transgéniques possèdent la capacité de maintenir leur croissance dans les sols contaminés par ces chlorophénols (STOMP *et al.*, 1994).

4. Quelques exemples d'applications

4.1. En France, les peupliers et mélèzes

Les recherches sur les arbres concernent principalement la transgénèse des peupliers parmi les feuillus, pour une résistance à la chrysomèle *Chrysomela tremulae*, un Coléoptère ravageur foliaire avec les protéines Bt.

Un mélèze hybride *Larix kaemferi* x *L. decidua*, parmi les Conifères, fait également l'objet de recherches. Un autre objectif est la réduction du taux de lignine dans le bois, en tenant compte de la complexité de la régulation du métabolisme de ce constituant, en travaillant sur une enzyme, la déshydrogénase de l'^{alcool cinnamylique}. Une attention particulière avait été portée à la stabilité de l'expression des gènes introduits, à l'impact de l'expression des gènes Bt sur l'apparition de résistances chez les insectes par contournement et, d'une façon générale, les impacts de ce matériel Bt sur la pression exercée sur les insectes, ciblés ou non. Afin d'éviter la dissémination des transgènes dans les populations naturelles, des recherches font intervenir un gène « tueur » qui bloque la formation des chatons floraux, afin de ne développer dans la nature que des arbres transgéniques stériles.

4.2. En Finlande, les bouleaux

L'industrie forestière et les biotechnologues tiennent beaucoup aux recherches sur les arbres transgéniques, dans l'espoir que les modifications génétiques vont permettre de réduire les coûts de production du papier et d'améliorer les produits grâce à la culture d'arbres aux caractéristiques optimales. L'unique site d'expérimentation comportait 400 bouleaux transgéniques qui ont été abattus ou déracinés en 2004, sans doute par des opposants aux OGM. La recherche en question visait à trouver des méthodes aptes à maintenir un transgène en fonctionnement afin de lancer la production d'arbres transgéniques clonés et stériles

4.3. En Allemagne, les peupliers

Une expérimentation est conduite sur un site industriel contaminé par des métaux lourds, avec des peupliers transgéniques qui produisent des quantités plus importantes de glutathion, une substance qui a la propriété de contaminer les sols. Les essais préliminaires en serres avaient permis de constater que ces arbres avaient absorbé plus de 15% de cadmium à partir d'un sol contaminé. Les essais conduits dans la nature doivent vérifier la croissance des arbres, la stabilité du transgène et l'absorption des métaux lourds.

4.4. Au Canada, les épicéas, mélèzes et peupliers

Une expérimentation sur 2.000 épinettes blanches ou sapinettes (*Picea alba*) est conduite au Centre Forestier des Laurentides, dans la banlieue de la ville de Québec, où l'on a réussi à insérer dans cette espèce, mais aussi dans le mélèze (*Larix* sp.) et le peuplier (*Populus* sp.), un gène Bt de la bactérie du sol *Bacillus thuringiensis*, qui produit une protéine toxique pour la tordeuse des bourgeons de l'épinette. Peupliers, sapinette blanche (*Picea alba*) et épicéa noir (*Picea nigra*) sont cultivés dans la nature pour des expérimentations. Plus d'un million de plantules de ces sapinettes (*Picea alba*) transgéniques auraient été distribuées à travers tout le Canada en 2000 à des fins expérimentales.

4.5. Aux Etats-Unis, les châtaigniers, peupliers, ormes

Jusque vers 1900, environ un quart des arbres feuillus des forêts de l'Est des Etats-Unis était constitué de châtaigniers d'Amérique (*Castanea dentata*), jusqu'à ce qu'un champignon microscopique (*Cryphonectria parasitica*) fâcheusement introduit, ne viennent pratiquement détruire ces arbres. En quelques années, la résistance à ce champignon a pu être introduite dans le châtaignier avec des techniques de transgénèse, en travaillant à partir d'embryons immatures.

De jeunes plants d'ormes (*Ulmus* sp.) transgéniques ont été génétiquement modifiés dans le but d'introduire une résistance à une maladie de cette espèce, la graphiose, causée par un champignon *Ophiostoma ulmi*. Une équipe de chercheurs aux Etats-Unis a obtenu des plantules de peuplier faux-tremble (*Populus tremuloïdes*) transgéniques capables de produire 40 % de moins de lignine et 15 % de plus de cellulose. Ainsi, pour un même volume de bois traité en usine, cette source de fibre permet de produire plus de pâte à papier réduisant les coûts de transformation. Des recherches et des essais de peupliers ont été également effectués pour les caractères suivants : la phytoremédiation des métaux lourds à partir du gène de réductase de l'ion mercurique.

4.6. Au Brésil, les eucalyptus

Ce sont des eucalyptus transgéniques qui ont fait l'objet de vastes plantations. La société brésilienne *Aracruz Cellulose*, qui est le plus grand producteur mondial de pulpe d'eucalyptus blanchie, possède un laboratoire de transgénèse des arbres et elle a obtenu, dès 1998, l'autorisation des autorités brésiennes de conduire des expérimentations avec des arbres transgéniques. Une autre société papetière, *Suzano*, possède 180.000 hectares de plantations d'eucalyptus et un budget de recherche annuel de 2 millions de \$ US, qui servent à financer des recherches sur les eucalyptus transgéniques.

Le programme officiel *Genolyptus* inclut 13 partenaires privés, dont *International Paper*, la plus grande société mondiale engagée dans les arbres transgéniques, et *Westvaco*, une société nord-américaine qui a acheté environ 400.000 hectares aux Etats-Unis et au Brésil pour y implanter des arbres transgéniques. Les sociétés *Aracruz*, *Suzano*, *International Paper* et *ArborGen* sont impliquées dans les recherches sur les arbres transgéniques parce qu'elles pensent pouvoir faire ainsi de l'argent.

4.7. Au Chili, les pins, eucalyptus

Des arbres transgéniques ont été créés sur mesure pour les forestiers et les industriels. A la faveur d'une coopération avec la société canadienne *Cellfor* qui remonte à 1999 et avec la création du programme conjoint *GenFor*, le Chili est en passe de devenir le leader dans les biotechnologies en Amérique latine. Le centre d'intérêt initial était de fabriquer des pins résistants à la chenille des pousses (*Rhyacionia buoliana*) qui affectait de vastes étendues de monoculture de pin de Monterey (*Pinus radiata*), qui couvre 500.000 hectares au Chili. En même temps, ont été travaillés des pins transgéniques porteurs d'une protéine Bt pour la résistance à certains insectes, d'une part, et des pins de Monterey (*Pinus radiata*) et des pins à encens (*Pinus taeda*), à haute teneur en cellulose et à teneur réduite en lignine, d'autre part.

L'un des facteurs limitant de production de bois dans la Cordillère est la rigueur du climat. Une recherche est engagée pour tenter de transférer la résistance au froid d'une graminée (*Deschampsia antarctica*) dans les eucalyptus et d'élargir ainsi les zones de culture de ces derniers.

4.8. En Chine, les peupliers

Plus d'un million de peupliers transgéniques auraient été plantés, après autorisation de l'administration officielle des forêts. Dans la zone nord-ouest de la province du Xinjiang, 8.000 kilomètres carrés (une surface grosso modo équivalente à l'île de Chypre) ont été affectés à l'implantation de monocultures d'arbres transgéniques. Autour des promontoires du Huang-Ho (Fleuve Jaune) et du Yang-Tsé-Kiang (Fleuve Bleu), 400.000 peupliers transgéniques ont été plantés, mais, ils sont toujours dévastés par des insectes, alors que ces arbres avaient été génétiquement modifiés pour résister aux insectes.

5. Conclusion

Les risques potentiels associés aux arbres transgéniques, de par leur nature, sont nombreux. Les arbres produisent en effet pendant plusieurs années beaucoup de pollen et de semences qui peuvent se disséminer dans la nature et y persister. Leur introduction dans l'environnement suscite les mêmes préoccupations que pour les espèces annuelles de grandes cultures : le transfert du transgène à des arbres voisins par pollinisation, provoquant ainsi le phénomène de *dispersion de gènes ou flux de gènes*. On cite également l'envahissement du milieu naturel par des arbres transgéniques qui pourraient se comporter comme des espèces nuisibles, et enfin, l'émergence de populations d'**insectes résistants**. Compte tenu de la longévité des arbres sur plusieurs décennies, la quantité de transgène incorporée dans les différents tissus et organes des sujets génétiquement modifiés est difficile à déterminer, notamment en raison des interactions possibles avec les autres gènes.

Bibliographie

Boudet A.M., Lapierre C., Grima Pettenati J., 1995- Biochemistry and molecular biology of lignification. *New Phytol.*, 129 : 203-236.

Campbell M.M., Sederoff R.R., 1996 - Variation in lignin content and composition. *Plant Physiol.*, 110: 3-13.

Cannon R.J.C., 1995 - *Bacillus thuringiensis* in pest control. In: Hokkanen HMT, Lynch JM (eds.) Biological Control, Benefits and Risks, pp. 190-200. Cambridge Univ. Press.

Cornelissen B.J., Horowitz J., van Kan J.A., Goldberg R.B., Bol J.F., 1987- Structure of tobacco genes encoding pathogenesis-related proteins from the PR-1 group. *Nucleic Acids Res.*, 15: 6799-811.

Cornu D., Leplé J.C., Bonadé-Bottino M., Ross A., Augustin S., Delplanque A., Jouanin L., Pilate G., 1996 - Expression of a proteinase inhibitor and a *Bacillus thuringiensis* endotoxin in transgenic poplars. IUFRO Meeting on "Somatic Cell Genetics and Molecular Genetics of Trees", pp. 131-135. Kluwer, Dordrecht.

Fillatti J.J., Sellmer J., McCown B., Haissig B., Comai L., 1987- Agrobacterium-mediated transformation and regeneration of *Populus*. *Mol. Gen. Genet.*, 206 : 192-199.

Gill S.S., Cowles E.A., Pietrantonio P.V., 1992- The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *An. Rev Entomol.*, 37: 615-636.

Knowles B.H., Dow J.A.T., 1993 - The crystal delta-Endotoxins of *Bacillus thuringiensis* : Models for their mechanism of action on the insect gut. *BioEssays*, 15: 469-476.

Leplé J.C., Bonadé-Bottino M., Augustin S., Pilate G., LeTan V.D., Delplanque A., Cornu D., Jouanin L., 1995- Toxicity to *Chrysomela tremulae* (Coleoptera : Chrysomelidae) of transgenic poplars expressing a cysteine proteinase inhibitor. *Mol. Breeding*, 1: 319-328.

McCown B.H., McCabe D.E., Russell D.R., Robison D.J., Barton K.A., 1991- Stable transformation of *Populus* and incorporation of pest resistance by electric discharge particle acceleration. *Plant Cell Rep.*, 9: 590-594.

Pythoud F., Sinkar V.P., Nester E.W., Gordon M.P., 1987 - Increased virulence of *Agrobacterium rhizogenes* conferred by the VIR region of pTi BO542 : application to genetic engineering of poplar. *Bio/Technology*, 5: 1323-1327.

Rogers H.J., Parkes H.C., 1995 - Transgenic plants and the environment. *J. Exp. Bot.*, 46 - 467-488.

Séguin A., 1998 - Le génie génétique du peuplier. Centre de foresterie des Laurentides, Service Canadien des Forêts.

Schuerman P.L., Dandekar A.M., 1993 - Transformation of temperate woody crops - progress and potentials. *Sci. Hort.*, 55: 101-124.

Stomp A.M., Han K.H., Wilbert S.M., Gordon M.P., Cunningham S.D., 1994 - Genetic strategies for enhancing phytoremediation. *Recombinant DNA Technology*, II 721: 481-491.

Strauss S.H., Rottmann W.H., Brunner A.M., Sheppard L.A., 1995 - Genetic engineering of reproductive sterility in forest trees. *Mol. Breeding*, 1: 5-26.

Walden R., Wingender R., 1995 - Gene-transfer and plant-regeneration techniques. *Trends Biotechnol.*, 13 : 324-331.