

COMPRENDRE L'INTERET DES MUTATIONS DANS LA SELECTION DES PLANTES

LA VIE N'EXISTE QUE PAR ERREURS

La vie repose depuis plus de trois milliards d'années sur l'existence et la reproduction de molécules d'acides nucléiques, essentiellement l'ADN qui se présente sous la forme de deux polymères complémentaires, les brins de la « double-hélice ». L'ordre dans lequel se succèdent des milliers, millions, ou milliards de nucléotides, symbolisés par les quatre lettres A, T, G, C, le long de ces brins correspond au message génétique, le génome, de l'organisme qui les porte.

Les mécanismes qui permettent la reproduction à l'identique de l'ADN à chaque division cellulaire ne sont pas infaillibles. De façon naturelle, l'ADN est soumis aussi à des aléas physiques, comme divers rayonnements, ou chimiques, des molécules provenant de la cellule qui le contient comme de l'extérieur de cette cellule. Ces aléas provoquent, par des processus plus ou moins complexes, des modifications de la séquence de l'ADN, des mutations dites spontanées. C'est une évidence que de dire que la diversité passée et présente des formes de vie et l'existence même de celle-ci sont le résultat d'une succession infinie de ces erreurs, de ces mutations, depuis l'origine : sans elles, les molécules initiales seraient restées confinées au domaine de la chimie et de la matière inanimée.

LES MUTATIONS NOUS ENTOURENT, MAIS SONT SOUVENT INVISIBLES

On a coutume de dire et de penser que ces mutations spontanées sont rares : l'expérience commune nous conforte dans l'idée de la fixité des espèces qui fut le dogme au cours des siècles, sauf sans doute chez le jardinier ou l'éleveur. Les outils modernes de séquençage de l'ADN permettent une mesure objective de la fréquence des mutations. Le génome de l'enfant est certes pour moitié celui de chacun de ses parents, mais à quelques 70 mutations près, qui se sont produites avant la réunion de leurs cellules germinales. Notre corps comprend des dizaines de milliers de milliards de cellules, et dans toutes ces copies de notre génome, très peu sont indemnes de mutations. L'agriculteur récolte dans un hectare de blé autant de mutations qu'il y a de gènes dans cette espèce, et dans le monde, chacun de ces gènes mute des centaines de millions de fois.

Cependant, ces mutations dans leur majorité sont silencieuses du fait de la faible proportion des séquences codantes dans le génome et des caractéristiques du code génétique et des protéines. Mais ce sont ces mutations spontanées qui construisent la variation génétique des espèces et c'est par elles que se réalise leur adaptation aux variations des écosystèmes. Cette variation est exploitée par la sélection pour la création de variétés nouvelles. Mais le sélectionneur ne peut exploiter qu'une part infime de cette variabilité pour des raisons purement matérielles. Le bactériologiste peut manipuler des milliards de bactéries dans un tube à essai, ou une espèce végétale adventice peut développer un mutant résistant à un herbicide si ce dernier est utilisé sur des milliers d'hectares où se trouvent des milliards de graines de cette espèce.

Mais en étudiant, observant, sélectionnant quelques milliers d'individus, ce qui est beaucoup pour les caractères dont il se préoccupe, le sélectionneur n'exploite qu'un millième, ou moins, de la variabilité de l'espèce. C'est la raison pour laquelle il a recours à l'induction de mutations, par divers moyens depuis plus d'un siècle, pour accéder à plus de variabilité.

LES MUTATIONS SPONTANÉES SONT DE NATURE EXTREMEMENT VARIABLE

Erreurs de réplication ou exposition à des aléas peuvent avoir diverses conséquences pour la molécule d'ADN : des substitutions de nucléotides ; l'ajout (insertion) ou le retrait (délétion) de nucléotides adjacents ; l'élimination d'un fragment de chromosome voire un chromosome entier (aneuploïdie) ; l'insertion d'autres séquences d'ADN endogène comme des fragments d'ADN chloroplastique voire un génome mitochondrial entier ; des réarrangements des fragments du génome les uns par rapport aux autres comme l'inversion de l'orientation d'une séquence sur un chromosome ou le déplacement d'un fragment à un autre site du génome (translocation) sur le même chromosome ou un autre ; l'insertion de transposons ou de rétro-transposons qui inactivent ou modifient l'expression d'un gène et qui ont joué un rôle important dans la domestication et la diversité des plantes cultivées.

LA MUTAGÈSE VÉGÉTALE INDUITE S'EST DÉVELOPPÉE AU 20ÈME SIÈCLE

Dès 1908, Stuart Gager exposait des plantes en fleurs de *Datura stramonium* au rayonnement du radium pour constater que ces traitements donnaient naissance dans la descendance à des plantes avec de nouvelles caractéristiques. Stadler en 1928 décrivait l'obtention des premiers mutants d'orge. Pendant la première moitié du 20ème siècle les rayons X ou gamma furent utilisés pour provoquer l'apparition de nouveaux caractères. A partir de la seconde moitié du siècle, diverses substances mutagènes ont été employées avec l'espoir, qui ne s'est jamais réalisé, que leur nature chimique puisse orienter vers la variation de certains gènes et donc certains caractères. Une certaine dérégulation des systèmes de réparation de l'ADN ou de contrôle des éléments transposables dans des conditions de stress en culture de tissus *in vitro* favorise l'apparition de mutations parmi les plantes régénérées. Ce procédé a été utilisé depuis les années 1970. La mutagenèse induite est ainsi devenue un outil banal dans la sélection végétale. A partir de déclarations non exhaustives d'obteneurs du monde entier, on recensait en 2015, parmi 170 espèces, plus de 3 200 variétés issues de traitements mutagènes, essentiellement par rayonnement. Il s'agit des espèces de grandes cultures (blé, colza, cotonnier, orge, riz, soja ...), de légumes (haricot, pois, patate douce...), d'arbres fruitiers (pommier, bananier...) et un grand nombre d'espèces ornementales (chrysanthème, rosier...).

LES MUTATIONS INDUITES SONT DE MÊME NATURE QUE LES MUTATIONS SPONTANÉES

L'utilisation de traitements mutagènes augmente considérablement la fréquence des mutations par rapport aux mutations spontanées, couramment par un facteur 1 000, ce qui réduit dans la même proportion le nombre d'individus à observer pour sélectionner la mutation désirée. Ces mutagènes « endommagent » l'ADN, ces dommages provoquent dans un deuxième temps des mutations s'ils ne sont pas parfaitement réparés. La mutation est le résultat d'une interaction entre l'inducteur (l'agent mutagène) la séquence d'ADN cible et la réaction des systèmes de réparation de l'ADN de la cellule. On voit bien ainsi tout le caractère intrinsèquement aléatoire des mutations qui se produisent au sein du génome, aléatoire par les modifications de la séquence et aléatoire par leur position sur celle-ci. Lors d'un traitement mutagène s'ajoutent aux mutations induites, en très faible proportion, les mutations spontanées.

Les altérations de l'ADN provoquées dans l'un et l'autre cas pouvant être les mêmes, il n'y a pas de signature sur l'origine d'une mutation, spontanée ou induite. Il y a seulement une plus grande probabilité qu'elle ait été provoquée par le traitement plutôt qu'elle soit spontanée. Une mutation « se produit », on ne la « fabrique » pas, à la différence d'un transgène que « l'on construit ».

LA MUTAGENÈSE VÉGÉTALE EST PRATIQUÉE DEPUIS LONGTEMPS *IN VITRO*

Pour profiter d'effectifs importants dans un volume réduit, à l'instar des microbiologistes, la mutagénèse et la sélection de cellules végétales *in vitro* est apparue dans la littérature scientifique dès la fin des années 1960. En effet, c'est l'époque où la régénération de plantes à partir de cellules uniques commençait à être maîtrisée. Chez le tabac des plantes résistantes à certains herbicides ont ainsi été obtenues en 1973 à partir de cellules traitées *in vitro* et divers mutants morphologiques à partir de culture de microspores irradiées en 1974. Un apport important de ces techniques pour les variétés de plantes à reproduction végétative, fut d'obtenir des plantes mutées dans l'ensemble de leurs cellules au contraire des chimères obtenues après traitement de bourgeons *in vivo*, grâce à la régénération à partir d'une cellule unique du tissu végétal cultivé *in vitro*. Des mutants de chrysanthème sont obtenus à partir d'explants foliaires irradiés en 1975, une variété de canne à sucre résistante à un virus dès 1974, des variétés de bananiers à régimes plus importants seront cultivés dès 1984, des colzas résistants aux herbicides de la famille des imidazolinones seront produits à la fin des années 1980 et commercialisés après 1995 au Canada puis en Europe. Il est à noter que dans ce dernier cas, des mutations du même gène ont été obtenues spontanément chez cette espèce. Des résistants aux mêmes herbicides étaient déjà obtenus en 1982 par sélection en culture *in vitro* chez le maïs, après traitement mutagène sur graines chez le blé et le riz dans les années 1990, spontanément chez un tournesol sauvage en 1996, permettant l'utilisation de ces herbicides sur toutes ces cultures. Autrement dit les mêmes mutations sont obtenues chez différentes espèces, dont rien ne permet de deviner l'origine, spontanée, induite, *in vitro* ou *in vivo*.

CONCLUSION : LES CIRCONSTANCES DE LA MUTAGENÈSE NE CHANGENT PAS LA NATURE DES MUTATIONS

En sélection végétale, la mutagénèse induite *in vivo* est utilisée depuis le début du XX^{ème} siècle et la mutagénèse *in vitro* depuis le milieu du XX^{ème} siècle. Ces deux sources de variation génétique ont conduit à la production de plantes avec des caractéristiques d'intérêt, agronomique ou de qualité, et ultérieurement à la commercialisation sans distinction de plus de 3 000 variétés dans le monde.

Les cellules végétales peuvent être soumises à l'action de mutagènes dans différentes circonstances, selon l'organe où elles se trouvent, inflorescence, pollen, bulbe, graine, bourgeons ou rameaux, qu'elles soient sur la plante ou isolées sous forme de micro-boutures ou de cellules en culture *in vitro*. Il n'y a pas de signature particulière de telles circonstances de mutagénèse. Aucune mutation ne se distingue d'une autre du fait qu'elle soit induite ou spontanée. Faire une distinction sur ce critère est sans fondement scientifique et donc arbitraire. Ce serait le cas d'une réglementation différenciée qui serait établie par exemple entre des mutants obtenus *in vitro* et des mutants obtenus dans d'autres circonstances.

Pour en savoir plus :

Broertjes C. (1976). The development of (new) *in vivo*, and *in vitro* techniques of significance for mutation breeding of vegetatively propagated crops. Association Euratom-ITAL, WAGENINGEN, The Netherlands (1976).

https://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:6218175.

Hu M. et al. (2015). Molecular characterization and detection of a spontaneous mutation conferring imidazolinone resistance in rapeseed and its application in hybrid rapeseed production. *Molecular Breeding*, **35**:46 DOI 10.1007/s11032-015-0227-3

Jain S. M. (2005). Major mutation-assisted plant breeding programs supported by FAO/IAEA Plant Cell, Tissue and Organ Culture, **82**:113–123.

Ossowski S. et al. (2010). The Rate and Molecular Spectrum of Spontaneous Mutations in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, **327**: 92-94.

Predieri S. (2001). Mutation induction and tissue culture in improving fruits. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **64**: 185–210.

Rahbari R. et al. (2016). Timing, rates and spectra of human germline mutation. *Nature Genetics*, **48** (2):126-136.

Radin D.N. et al. (1978). Herbicide-tolerant tobacco mutants selected in situ and recovered via regeneration from cell culture, *Genetic Research Cambridge*, **32**: 85-89.

Raina A. et al. (2016). Role of Mutation Breeding in Crop Improvement - Past, Present and Future. *Asian Research Journal of Agriculture*, **2** (2): 1-13.

Swanson E.B. et al. (1989). Microspore mutagenesis and selection: Canola plants with field tolerance to the imidazolinones. *Theoretical Applied Genetics*, **78**: 525-530.

Tan S. al. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science*, **61**: 246-257 - DOI: 10.1002/ps.993.

Xu L. et al. (2012). *In Vitro* Mutagenesis and Genetic Improvement. S.K. Gupta (ed.), *Technological Innovations in Major World Oil Crops*, Vol. 2: Perspectives, pp 151- 173 DOI 10.1007/978-1-4614-0827-7_6, © Springer Science+Business Media, LLC.

Yadav S. et al. (2019). DNA damage and repair in plants: A review. *Journal of Medicinal Plants Studies*, **7**(4): 06-09.