

Note explicative de la Démarche AFBV-WGG

Propositions pour permettre le développement de l'édition génomique en Europe

A. Les défis de l'agriculture :

L'agriculture mondiale est soumise à de nombreux défis dont les principaux sont une population mondiale qui augmente (9-10 milliards d'habitants en 2050) et des surfaces agricoles au mieux stables. D'où le besoin de produire plus sur la même surface tout en prenant en compte :

- Les contraintes environnementales liées, en particulier, aux variations climatiques et à la nécessité de réduire les intrants (produits phytosanitaires, engrais, eau ...)
- Les demandes et contraintes venant des consommateurs et des industries agro-alimentaires.

B. Nécessité de continuer d'innover en amélioration des plantes :

Pour relever ces défis le développement d'une agriculture innovante et performante doit être poursuivi en France, en Allemagne, en Europe et dans le reste du monde. Parmi les innovations indispensables à tous les stades depuis la semence jusqu'aux consommateurs celles liées à la génétique végétale jouent un rôle important. Il est indispensable que toutes les technologies disponibles pour la création de nouvelles variétés végétales puissent être utilisées sans exclusion de principe.

C. L'édition génomique :

L'édition génomique, une des techniques désignées sous le terme de NPBT (New Plant Breeding Techniques / Nouvelles techniques de sélection), regroupe un ensemble de technologies permettant la modification de l'information génétique par ajout (addition), suppression (délétion) ou échanges de nucléotides (remplacement) en un site déterminé de la séquence du génome de la plante receveuse. Ces technologies deviendront des outils essentiels pour obtenir rapidement, par exemple, la résistance aux stress biotiques, pathogènes et agresseurs ; l'amélioration de la tolérance aux stress abiotiques, sécheresse et variations de température ; ainsi que l'amélioration des qualités sanitaires, technologiques et alimentaires des produits récoltés.

Ces technologies ont montré, au niveau de la recherche/développement, un potentiel important dans l'amélioration génétique. D'ailleurs, les premières plantes issues de ces technologies arrivent sur le marché en Amérique du Nord. Diverses analyses et évaluations sur ces technologies en France, en Europe [en particulier le rapport de février 2017 du Scientific Advice Mechanism (SAM) sur les nouvelles biotechnologies en agriculture] et dans le Monde, concluent que ces nouvelles semences ne sont pas différentes dans leurs effets sur la santé et l'environnement de celles issues de technologies de sélection traditionnelle. Voir: SAM (2017) "New Techniques in Agricultural Biotechnology". <https://doi.org/10.2777/17902>, and SAM (2018) "A Scientific Perspective on the Regulatory Status of Products Derived from Gene Editing and the Implications for the GMO Directive", <https://doi.org/10.2777/407732>.

Compte-tenu du potentiel de ces technologies il semble indispensable que l'Europe réexamine la situation réglementaire des plantes issues des technologies d'édition génomique. Dans ce but, nous présentons ci-dessous nos propositions pour ce réexamen.

D. Justification de la démarche :

L'AFBV et le WGG ont conscience qu'une révision complète de la Directive 2001/18/CE qui réglemente les OGM prendra un temps long, difficilement compatible avec la nécessité de maintenir la compétitivité des équipes de recherche et des industries de la semence. En attendant une refonte des Directives et Règlements européens concernant les OGM, ainsi qu'une harmonisation avec les traités internationaux, nos organisations proposent d'introduire rapidement dans la Directive 2001/18/CE ainsi que dans les Règlements et Directives connexes, de nouvelles dispositions qui permettront d'utiliser les technologies d'édition génomique.

E. Propositions d'additions à la Directive 2001/18/CE :

Sans affecter la logique et la cohérence de l'ensemble de la Directive, nous proposons des additions qui tiennent compte des connaissances scientifiques actuelles et des progrès technologiques. Bien que les propositions résumées ci-dessous ne concernent que des changements dans la Directive 2001/18/CE, il va de soi que les autres Directives et Règlements relatifs à la réglementation OGM en Europe devront être adaptées pour intégrer les mêmes modifications.

Ces propositions ont été écrites avec l'intention de couvrir les plantes ; elles peuvent être adaptées, si nécessaire et le cas échéant, aux animaux et aux micro-organismes.

Il est proposé de traiter, d'une part, des conditions d'utilisations des technologies regroupées sous le terme d'édition génomique et, d'autre part, du statut réglementaire des ségréants négatifs :

1. **Définir les techniques d'édition génomique** : Inclure une définition de ces technologies dans la Directive (addition dans le nouvel alinéa (4) de l'Annexe I A, Partie 1) ;
2. **Supprimer du champ d'application de la Directive certaines catégories de plantes issues de l'édition génomique** : Comme les technologies d'édition génomique peuvent être utilisées pour créer un large éventail de nouvelles plantes, allant d'un changement d'un nucléotide à l'incorporation de gènes complets, nous proposons d'établir différentes catégories de plantes en fonction du type d'édition qui a été effectué. À ce stade, nous proposons quatre catégories de plantes dérivées des techniques d'édition génomique qui devraient être exclues de la Directive. Selon le processus de confirmation décrit ci-dessous, une fois qu'il est confirmé qu'une plante donnée répond aux critères de l'une des quatre catégories d'exclusion, cette plante serait alors réglementée de la même manière que les plantes dérivées de techniques de sélection traditionnelles. Les quatre catégories seront décrites dans une nouvelle annexe I C de la Directive comme suit :
 - **Catégorie 1** : Une plante dans laquelle un allèle natif a été édité¹ pour reproduire la fonctionnalité associée à un allèle connu et présent dans le patrimoine génétique de l'espèce². Cette édition équivaldrait, par exemple, au transfert, grâce à la sélection traditionnelle, d'un allèle connu dans une plante homologue sauvage à une variété cultivée de la même espèce ;

• ¹Les termes « édition » ou « édité » font référence à l'utilisation des techniques d'édition génomique.

• ²Le terme « patrimoine génétique de l'espèce » est défini comme incluant l'ensemble des gènes et des allèles (différentes versions d'un même gène) issus de plantes pouvant échanger des gènes par voie sexuée et ceux des espèces éloignées avec lesquelles on peut échanger des gènes par voie sexuée avec des techniques traditionnelles.

- **Catégorie 2 :** Une plante dans laquelle un allèle natif a été édité pour reproduire la fonctionnalité associée à un allèle connu et présent dans le patrimoine génétique d'une plante, en dehors de celui de l'espèce.
Dans la mesure où l'allèle modèle n'existe que dans une espèce non sexuellement compatible, il n'y a pas d'équivalent en sélection traditionnelle. Cette catégorie serait en fait une extension de la Catégorie 1 si la plante donneuse et la plante receveuse étaient sexuellement compatibles.
- **Catégorie 3 :** Une plante ayant un allèle natif édité présentant une fonctionnalité nouvelle, dont les modifications de séquence obtenues par édition génomique sont du même type que celles qui peuvent être obtenues par mutagenèse spontanée ou induite.
En sélection traditionnelle, ce changement serait équivalent à celui obtenu en sélectionnant une plante portant un allèle modifié à la suite d'une mutation spontanée ou induite, laquelle plante est ensuite croisée avec une plante cultivée afin de sélectionner la mutation d'intérêt ;
- **Catégorie 4 :** Une plante dans laquelle un gène connu et présent dans le patrimoine génétique de l'espèce a été inséré dans un site choisi de son génome.
Entre génotypes d'une espèce il existe une variation du nombre (de zéro à N) de copies de certains gènes (ceci peut être dû, par exemple, à des duplications au locus, des cross-overs inégaux ou des translocations par l'intermédiaire de transposons). En sélection traditionnelle il est possible de sélectionner pour ce critère « nombre de copies ». L'addition de copies d'allèles d'un gène par édition reproduit directement ce processus de sélection.

Pour toutes les Catégories mentionnées ci-dessus, il est possible d'avoir par édition génomique dans une même plante plusieurs allèles édités (ou gènes insérés). Dans ce cas chaque allèle édité (ou gène inséré) sera analysé indépendamment selon les critères définis ci-dessus. Si les allèles édités (ou gènes insérés) entrent dans la même catégorie, la plante appartient à cette catégorie. Si les allèles édités (ou gènes insérés) sont de catégories différentes, la plante finale devra satisfaire à chaque catégorie pertinente pour être exclue. Si l'on procède, dans une plante déjà exclue, à une nouvelle édition sur un autre allèle, seule la confirmation de l'exclusion pour cet allèle devra être demandée.

Vous trouverez, dans l'annexe 1, ci-jointe, des exemples de plantes pour chaque catégorie basés sur des publications scientifiques ou sur des dossiers réglementaires accessibles dans les bases de données publiques.

À mesure que les connaissances scientifiques et les progrès techniques évoluent, de nouvelles catégories pourront être ajoutées à l'Annexe I C (voir également le point 4 ci-dessous).

3. **Mettre en place un processus réglementaire nouveau, spécifique, efficace et prédictif pour ces catégories de plantes éditées :**

Une confirmation de l'exclusion de la plante éditée en développement devra être obtenue par le Développeur (notifiant). Le processus de confirmation devra être adapté à la catégorie de la plante.

• **Modalités du dépôt de la demande de confirmation :**

- Le notifiant déposera sa demande d'exclusion auprès de l'autorité d'un Etat membre en charge des réglementations OGM (en France le Ministère de l'Agriculture, et en Allemagne le Ministère Fédéral de l'Alimentation et de l'Agriculture) qui s'appuiera sur les structures en place pour l'évaluation des OGM (ANSES ou HCB en France, et en Allemagne le BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit – l'Office Fédéral pour la Protection des Consommateurs et la Sécurité Alimentaire]) ;
- Cette demande de confirmation sera effectuée par le notifiant lorsque celui-ci voudra bénéficier de cette exclusion et s'affranchir de l'application de la Directive 2001/18/CE, des

Règlements (CE) N° 1829/2003, N° 1830/2003 ainsi que de toute autre réglementation OGM en vigueur dans l'Union européenne.

- L'exclusion d'une plante éditée vaudra pour toutes les variétés obtenues à partir de cette plante éditée, comportant la même modification et s'appliquera à l'ensemble des Etats Membres ;
 - Une fois la confirmation d'exclusion obtenue, la ou les variétés obtenues à l'aide de la plante éditée sera/seront soumise(s) aux réglementations « semences & plants » applicables aux espèces concernées comme pour toute variété issue de la sélection traditionnelle, notamment la réglementation de l'inscription au Catalogue Officiel des espèces et variétés de plantes cultivées pour les espèces concernées par cette réglementation dans l'Union européenne.
- **Contenu de la demande de confirmation :**

Les éléments à fournir pour obtenir la confirmation d'exclusion seront adaptés à la catégorie de la plante :

- *Eléments communs à toutes les catégories :*
 - (i) Les Nom et adresse du notifiant (société ou institut) ;
 - (ii) La description taxonomique de la plante receveuse dans laquelle l'édition ou l'insertion du gène a été réalisée ;
 - (iii) La technique utilisée et les principales étapes réalisées, notamment, si applicable, la production ou non d'un OGM intermédiaire pour procéder à l'édition, et les modalités d'élimination de toute séquence d'acide nucléique recombinant et la confirmation de cette élimination (ségrégant négatif) ;
- *Eléments spécifiques à chaque catégorie :*
 - *Catégories 1 et 2 :*
 - (i) La description taxonomique de la plante donneuse contenant l'allèle modèle et la description de cet allèle modèle ;
 - (ii) La description de l'édition réalisée dans la plante finale (addition, délétion, remplacement) et la confirmation de la séquence éditée et la comparaison de la fonctionnalité de l'allèle modèle avec celle de l'allèle édité ;
 - *Catégorie 3 :*
 - (i) La description de l'allèle nouveau et de sa fonctionnalité qui seront obtenus après édition et les informations disponibles sur les raisons d'éditer cet allèle et sur son origine (travaux de recherche par exemple) ;
 - (ii) La description de l'édition réalisée dans la plante finale (addition, délétion, remplacement) et la confirmation de la séquence éditée et de la nouvelle fonctionnalité ;
 - *Catégorie 4 :*
 - (i) La description taxonomique de la plante donneuse contenant le gène inséré et la description du gène ;
 - (ii) La confirmation de la séquence du gène après insertion par rapport au gène d'origine ;
 - (iii) La confirmation que l'insertion du gène est bien au niveau du site choisi sur le génome.

Tout élément d'information fourni par le notifiant pour lequel il souhaiterait conserver la confidentialité devra être marqué « Confidentiel ».

Le délai d'examen par l'autorité compétente d'un État membre pour déterminer si une plante éditée relève ou non de l'une des quatre catégories d'exclusion ne devrait pas dépasser soixante jours.

4. **Permettre la mise à jour périodique de la Directive si les avancées des connaissances scientifiques et du progrès technique le justifient** : Comme indiqué ci-dessus, ces propositions sont basées sur l'état actuel des connaissances scientifiques et les technologies qui en dérivent. Mais, ces dernières évoluant rapidement, nous proposons que tous les cinq ans, après avoir consulté les parties prenantes concernées et en collaboration avec les autorités compétentes des États membres, la Commission rende compte au Parlement Européen de l'évolution des connaissances scientifiques et des progrès technologiques et, si nécessaire, propose une révision des annexes.
5. **Traiter du statut des ségréants négatifs (descendance d'une plante génétiquement modifiée dont la fonctionnalité OGM a été supprimée)**. En parallèle à cette révision de la Directive, nous proposons que soit confirmé le statut d'exclusion des ségréants négatifs. A noter, qu'un ségréant négatif qui est obtenu après édition génomique et qui est aussi une plante éditée, sera soumis au processus de confirmation de l'exclusion selon les modalités décrites ci-dessus pour les quatre catégories.

Ces différents éléments ont été intégrés dans une proposition d'avenant que vous trouverez en annexe 2.

Francfort et Paris, Janvier 2020

Annexe 1

Quelques exemples de plantes appartenant aux catégories exclues, sur la base des publications scientifiques ou sur des dossiers réglementaires accessibles dans les bases de données publiques

Ces exemples sont tirés de la littérature ou de dossiers réglementaires. Nous avons essayé de retrouver, à partir des informations publiques disponibles l'origine de l'allèle modèle. Ainsi, pour chaque exemple, et lorsque disponible, la première référence concerne la plante éditée et les autres références décrivent l'origine probable des allèles modèles. Sauf pour les plantes déjà commercialisées en Amérique du Nord, ces exemples ne préjugent pas du devenir de ces plantes éditées et des possibilités de commercialisation.

Méthodologie et critères retenus :

- L'exemple doit décrire une plante éditée produite ;
- Pour les exemples des Catégories 1 et 2, un allèle modèle est identifié dans une plante sexuellement compatible (catégorie 1) ; non sexuellement compatible (catégorie 2) ;
- Pour les exemples de la Catégorie 3 des informations sont fournies sur les approches utilisées pour obtenir le gène édité, incluant des résultats en plantes transgéniques (expériences RNAi par exemple) ;
- Pour la catégorie 4, des informations sont fournies sur le gène inséré ;
- Pour les plantes éditées nous avons cherché à utiliser la publication d'origine ; pour les allèles modèles nous avons cherché à les retrouver dans les publications citées par les inventeurs de la plante éditée.

Catégorie 1 :

- Une plante de riz tolérant au sel suite à l'inactivation du gène *OsRR22* (allèle connu). Zhang *et al.*, 2019 ; Takagi *et al.*, 2015.
- Une plante de pomme de terre éditée en inactivant le gène *StGBSS1*, conduisant à l'accumulation d'amylopectine (amidon waxy) dans le tubercule. Basé sur la disponibilité de mutants de pomme de terre riches en amylopectine et sur les connaissances sur la synthèse de l'amylopectine chez le manioc, le maïs et le blé. Veillet *et al.*, 2019 ; Hovenkamp-Hermelink *et al.*, 1987.
- Une plante de riz dont le promoteur de trois gènes codant pour des transporteurs de sucrose, *SWEET11*, *SWEET13* and *SWEET14* ont été édités (modification de nucléotides) pour ne plus être sensible au facteur de transcription produit par *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. Il existe des mutants de riz pour ces gènes ; plusieurs gènes édités ont été associés dans cette plante. Oliva *et al.*, 2019 ; Zaka *et al.*, 2018
- Une plante de tomate à fruit rose suite à l'inactivation du gène *SIMYB12* (allèle connu). Deng *et al.*, 2018 ; Fernandez-Moreno *et al.*, 2016.
- Une plante de maïs tolérante à *Setosphaeria turcica* (*Helminthosporium turcicum*) suite au remplacement, par édition, de l'allèle sensible du gène *NLB 18* codant pour une kinase membranaire et responsable de l'interaction avec le champignon par l'allèle résistant identifié dans un maïs tolérant à ce champignon (allèle connu). Schmidt 2018 ; Hurni et al., 2015 ; Li & Wilson 2006.

- Une plante de maïs accumulant que de l'amylopectine dans le grain suite à l'inactivation du gène *waxy (Wx1)* codant pour la Granule Bound Starch Synthase (*GBSS*) (allèle connu). Basé sur le maïs *waxy* mutant commercialisé depuis plusieurs années. Schmidt 2016.
- Une plante de soja ayant une forte teneur en acide oléique suite à l'inactivation de deux gènes d'acide gras désaturase (*FAD2-1A* et *FAD2-1B*) (allèles connus). Haun *et al.*, 2014 ; Pham *et al.*, 2010.
- Une plante de colza éditée pour être tolérante aux herbicides des familles imidazolinones et sulfonyleurées en modifiant un seul nucléotide du gène *BnAHAS1* dans le Génome C et un seul nucléotide du gène *BnAHAS3* dans le Génome A de *Brassica Napus*. <https://www.inspection.gc.ca/plant-health/plants-with-novel-traits/approved-under-review/decision-documents/dd-2013-100/eng/1427383332253/1427383674669> ; <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/novel-food-information-cibus-canola-event-5715-imidazolinone-sulfonyleurea-herbicide-tolerant.html>. Plusieurs mutants de cette enzyme sont connus chez le colza conférant la tolérance aux sulfonyleurées. Magha *et al.*, 1993.

Catégorie 2 :

- Une plante de tomate dont le gène *SlJAZ2*, orthologue du gène *AtJAZ2* d'*Arabidopsis*, a été édité (modification de la séquence nucléotidique) pour reproduire la version mutante dominante d'*Arabidopsis* (absence du C-terminal – jas motif) pour obtenir la résistance à la maladie des taches bactériennes (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pto) DC3000). Ce récepteur modifié, *SlJAZ2Δjas*, ne fixe plus la coronatine synthétisée par la bactérie ; par conséquent les stomates ne s'ouvrent pas. Ortigosa *et al.*, 2019 ; Gimenez-Ibanez *et al.*, 2017.
- Une plante de vigne dans laquelle (i) le gène *Mlo* a été inactivé pour obtenir la résistance à l'oïdium et (ii) le gène *VvDMR6* a été inactivé sur la base des connaissances obtenues sur la suppression du gène analogue chez *Arabidopsis thaliana* pour obtenir la résistance au mildiou. Giacomelli *et al.*, 2019 ; van Damme *et al.*, 2008.
- Une plante de manioc résistante au potyvirus [Maladie des stries brunes du manioc - Cassava brown streak disease (CBSD)] obtenue par édition (modification de la séquence nucléotidique) du gène codant pour le facteur d'initiation de la traduction eIF4E. De nombreuses isoformes de ce facteur donnant la résistance sont connues dans de nombreuses plantes : piment, tomate, pois, mutants d'*Arabidopsis*. Gomez *et al.*, 2019 ; Bastet *et al.* 2019.
- Une plante de blé dans laquelle les trois gènes correspondant au Mildew resistance Locus (*Mlo*) dénommés *TaMlo-A1*, *TaMlo-B1* et *TaMlo-D1*, situés sur les chromosomes 5AL, 4BL et 4DL, sont simultanément inactivés pour reproduire un phénotype de résistance à l'oïdium, basé sur la connaissance des allèles du gène *Mlo* présent à l'état naturel chez l'orge. Wang *et al.*, 2014 ; Büschges *et al.*, 1997.

Catégorie 3 :

- Un cultivar de pommier où le gène *MdDIPM4* (un récepteur à kinases) est inactivé par édition pour obtenir la résistance à la tavelure (*Erwinia amylovora*). Par analogie avec des mutants d'*Arabidopsis* et des études d'interaction du récepteur avec l'effecteur de la bactérie (DspA/E) une séquence de *MdDIPM4* a été délétée dans le gène du pommier. Pompili *et al.*, 2019 ; Degraeve *et al.*, 2013 ; Borejsza-Wysocka *et al.*, 2004.
- Une plante de pétunia à floraison prolongée par inactivation du gène *Ph ACO1* qui code pour une 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase impliquée dans la production d'éthylène (quantité réduite chez la plante éditée). Par analogie avec les résultats obtenus en exprimant des antisens dans le pétunia. Xu *et al.*, 2020 ; Huang *et al.*, 2007.

- Une plante de blé dur éditée pour réduire par inactivation jusqu'à 35 des 45 gènes de la famille de gènes α -gliadin (allèles connus) sur trois chromosomes. On observe une réduction de la production d' α -gliadines et une forte baisse de l'immunoréactivité de 85%. Sanchez Leon *et al.*, 2018
- Une plante de tomate dont le promoteur de l'allèle SICLV3 a été édité pour augmenter la taille du fruit. Rodriguez-Leal *et al.* 2017.
- Dans plusieurs espèces d'agrumes le promoteur du gène *CsLOB1* (LATERAL ORGAN BOUNDARIES 1) a été édité par délétion de la séquence *EBEP_{thA4}* [qui fixe l'effecteur produit par la bactérie] conférant une résistance au chancre des agrumes [*Xanthomonas citri subsp. citri* (Xcc)]. Basé sur les connaissances des interactions entre le promoteur et l'effecteur de la bactérie et sur des travaux similaires sur le riz. Jia *et al.*, 2016a (pamplemoussier) ; Jia *et al.*, 2016b (citronnier) ; Peng *et al.*, 2017 (oranger). Pour que ces plantes éditées puissent bénéficier de l'exclusion dans cette catégorie il faudra éliminer les ADN recombinants utilisés pour l'édition (ségréants négatifs).

Catégorie 4 :

Nous n'avons pas trouvé de plantes éditées répondant à la définition. Il existe de nombreux exemples de plantes contenant un ou plusieurs cisgènes (voir deux exemples ci-dessous), mais aucun ne sont le résultat d'une insertion à un site choisi et de recombinaisons homologues. Les cisgènes introduits dans les plantes décrites ci-dessous ont été obtenus pas transgénèse. Avec l'édition génomique, l'insertion du cisgène pourra se faire à un site choisi par une double recombinaison homologue, sans séquence résiduelle de vecteur.

- Une plante de pomme de terre dans laquelle plusieurs gènes résistants au mildiou provenant exclusivement d'espèces de pomme de terre sauvages ont été insérés en utilisant *Agrobacterium tumefaciens*, sélectionnée sur les critères que (i) tous les gènes R soient exprimés et (ii) la conformité au type variétal soit conservée. Haverkort *et al.*, 2016.
- Un cultivar de pommier « Gala Galaxy » rendu résistant à la tavelure en insérant le cisgène FB_MR5 de la variété sauvage *Malus xrobusta 5(Mr5)* dans le chromosome 16. Kost *et al.*, 2015.

Exemples de plantes contenant des allèles de catégories différentes :

Comme indiqué dans la Note, une même plante éditée peut contenir des allèles correspondants à des catégories différentes. Deux exemples sont présentés ci-dessous.

- Une plante de tomate éditée en inactivant les gènes (1) *SIER* (régulateur de la longueur de tige), (2) *SP5G* (lié à une floraison précoce) et (3) *SP* (lié à l'arrêt de la croissance), tous les trois ayant des allèles mutés connus, pour obtenir des plants compacts et à rendement précoce, adaptée à l'agriculture urbaine. Cette plante contient des gènes édités correspondant à la catégorie 1 pour les allèles des gènes *SIER* et *SP* et à la catégorie 3 pour l'allèle du gène *SP5G*. Kwon *et al.* 2019 ; Xu *et al.*, 2015 ; Soyk *et al.*, 2017 et Menda *et al.*, 2004.
- Une plante de manioc accumulant de l'amylopectine (amidon waxy) à la place de l'amylose par inactivation des gènes codant pour la PROTEIN TARGETING TO STARCH (*PTST1*) et la Granule Bound Starch Synthase (*GBSS1*). Basé sur la disponibilité de mutants de manioc riches en amylopectine et sur les connaissances sur la synthèse de l'amylopectine chez la pomme de terre, le maïs et le blé. Cette plante contient deux gènes édités, l'allèle du gène *GBSS1* correspond à la catégorie 1 et l'allèle du gène *PTST1* à la catégorie 3. Bull *et al.*, 2018 ; Morante *et al.*, 2016.

Références mentionnées dans les exemples ci-dessus :

- Bastet *et al.* 2019. Mimicking natural polymorphism in eIF4E by CRISPR-Cas9 base editing is associated with resistance to potyviruses. *Plant Biotechnology Journal* **17**: 1736–1750- doi: 10.1111/pbi.13096
- Borejsza-Wysocka *et al.*, 2004. Silencing of apple proteins that interact with DspE, a pathogenicity effector from *Erwinia amylovora*, as a strategy to increase resistance to fire blight. *Acta Horticulturae* **663**: 469–474 - doi:10.17660/ActaHortic.2004.663.81
- Bull *et al.*, 2018. Accelerated *ex situ* breeding of GBSS- and PTST1-edited cassava for modified starch. *Science Advances* **4**:eaat6086 - doi.org/10.1126/sciad.v.aat6086
- Büsches, R. *et al.*, 1997. The barley Mlo gene: A novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* **88**: 695–705.
- Degrave *et al.*, 2013. The bacterial effector DspA/E is toxic in *Arabidopsis thaliana* and is required for multiplication and survival of fire blight pathogen. *Molecular Plant Pathology* **14**: 506–517 - DOI: 10.1111/mpp.12022.
- Deng *et al.*, 2018. Efficient generation of pink-fruited tomatoes using CRISPR/Cas9 system. *Journal of Genetics and Genomics* **45**: 51-54 - doi.org/10.1016/j.jgg.2017.10.002.
- Fernandez-Moreno *et al.* 2016. Characterization of a new pink-fruited tomato mutant results in the identification of a null allele of the SIMYB12. *Plant Physiology* **171**: 1821-1826.
- Giacomelli *et al.*, 2019. Generation of mildew-resistant grapevine clones via genome editing, ISHS Acta Horticulturae 1248: XII International Conference on Grapevine Breeding and Genetics - DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1248.28.
- Gimenez-Ibanez *et al.*, 2017. JAZ2 controls stomata dynamics during bacterial invasion. *New Phytologist* **213**: 1378–1392 - doi: 10.1111/nph.14354.
- Gomez *et al.*, 2019. Simultaneous CRISPR/Cas9-mediated editing of cassava *eIF4E* isoforms *nCBP-1* and *nCBP-2* reduces cassava brown streak disease symptom severity and incidence. *Plant Biotechnology Journal* **17**: 421–434 - doi: 10.1111/pbi.1298.
- Haun *et al.*, 2014. Improved soybean oil quality by targeted mutagenesis of the fatty acid desaturase 2 gene family. *Plant Biotechnology Journal* **12**: 934–940 - doi: 10.1111/pbi.12201.
- Haverkort *et al.*, 2016. Durable Late Blight Resistance in Potato Through Dynamic Varieties Obtained by Cisgenesis: Scientific and Societal Advances in the DuRPh Project. *Potato Research* - DOI 10.1007/s11540-015-9312-6.
- Hovenkamp-Hermelink *et al.*, 1987. Isolation of an amylose-free starch mutant of the potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theoretical Applied Genetics* **75**: 217–221 - https://doi.org/10.1007/bf00249167.
- Huang *et al.*, 2007. Delayed flower senescence of *Petunia hybrida* plants transformed with antisense broccoli ACC synthase and ACC oxidase genes. *Postharvest Biol. Technol.* **46**: 47–53.
- Hurni *et al.*, 2015. The maize disease resistance gene Htn1 against northern corn leaf blight encodes a wall associated receptor-like kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 8780-8785 - doi/10.1073/pnas.1502522112.
- Jia *et al.*, 2016a. Modification of the PthA4 effector binding elements in Type I CsLOB1 promoter using Cas9/sgRNA to produce transgenic Duncan grapefruit alleviating XccDpthA4:dCsLOB1.3 infection. *Plant Biotechnol. J.* **14**, 1291–1301.
- Jia *et al.*, 2016b. Genome editing of the disease susceptibility gene CsLOB1 in citrus confers resistance to citrus canker. *Plant Biotechnol. J.*, doi.org/10.1111/pbi.12677.
- Kwon *et al.*, 2019. Rapid customization of Solanaceae fruits crops for urban agriculture. *Nature Biotechnology* - doi.org/10.1038/s41587-019-0361-2.
- Kost *et al.*, 2015. Development of the First Cisgenic Apple with Increased Resistance to Fire Blight. *PLoS ONE*, **10**, e0143980 - DOI:10.1371/journal.pone.0143980.

Li & Wilson, 2006. Composition and methods for enhancing resistance to northern leaf blight in maize. World Intellectual Property Organization, Application No. PCT/US2011/041822.

Magha *et al.*, 1993. Characterization of a spontaneous rapeseed mutant tolerant to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Plant Breeding* **111**: 131-141.

Menda *et al.*, 2004. In silico screening of a saturated mutation library of tomato. *Plant Journal* **38**: 861–872.

Morante *et al.*, 2016. Discovery of new spontaneous sources of amylose-free cassava starch and analysis of their structure and techno-functional properties. *Food Colloids* **56**: 303-395 - doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.025.

Oliva *et al.*, 2019. Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing. *Nature Biotechnology* **37**: 1344-1350.

Ortigosa *et al.*, 2019. Design of a bacterial speck resistant tomato by CRISPR/Cas9-mediated editing of SJAZ2. *Plant Biotechnology Journal* **17**: 665–673 - doi: 10.1111/pbi.13006.

Peng *et al.*, 2017. Engineering canker-resistant plants through CRISPR/Cas9-targeted editing of the susceptibility gene CsLOB1 promoter in citrus, *Plant Biotechnology Journal* **15**: 1509–1519 - doi: 10.1111/pbi.12733.

Pham *et al.*, 2010. Mutant alleles of *FAD2-1A* and *FAD-1B* combine to produce soybeans with the high oleic acid seed oil trait. *BMC Plant Biology* **10**: 195-206 - biomedcentral.com/1471-2229/10/195.

Pompili *et al.*, 2019. Reduced fire blight susceptibility in apple cultivars using a high-efficiency CRISPR/Cas9-FLP/FRT-based gene editing system. *Plant Biotechnology Journal* - doi: 10.1111/pbi.13253.

Rodriguez-Leal *et al.*, 2017. Engineering Quantitative Trait Variation for Crop Improvement by Genome Editing, *Cell* **171**, 470–480, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.030>.

Sanchez Leon *et al.*, 2018. Low-gluten, non-transgenic wheat engineered with CRISPR-Cas9. *Plant Biotechnology Journal* **16**: 902–910 - doi: 10.1111/pbi.12837.

Schmidt 2016. Corn with high content of amylopectine developed by CRISPR/Cas technology. 15-352-01_air_inquiry_cbidel Pioneer. https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/regulated_article_letters_of_inquiry/regulated_article_letters_of_inquiry.

Schmidt 2018. Corn with Improved Resistance to Northern Leaf Blight developed by CRISPR-Cas technology. 17-076-018_air_inquiry_a1_cbidel revised Pioneer, https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/regulated_article_letters_of_inquiry/regulated_article_letters_of_inquiry.

Soyk *et al.*, 2017. Variation in the flowering gene *SELF PRUNING 5G* promotes day-neutrality and early yield in tomato. *Nature Genetics* **49**: 162–168.

Takagi *et al.*, 2015. MutMap accelerates breeding of a salt-tolerant rice cultivar. *Nature Biotechnology* **33**: 445–449.

van Damme *et al.*, 2008. *Arabidopsis* DMR6 encodes a putative 2OG-Fe(II) oxygenase that is defense-associated but required for susceptibility to downy mildew. *The Plant Journal* **54**:785-793 -. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03427.x.

Veillet *et al.*, 2019. The *Solanum tuberosum* GBSSI gene: a target for assessing gene and base editing in tetraploid potato, *Plant Cell Reports* **38**:1065–1080, <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02426-w>

Wang *et al.*, 2014. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature Biotechnology* **32**: 947-952 - doi:10.1038/nbt.2969.

Xu *et al.*, 2020. CRISPR/Cas9-mediated editing of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase1 enhances *Petunia* flower longevity. *Plant Biotechnology Journal* **18**: 287-297 - doi: 10.1111/pbi.13197.

Xu *et al.*, 2015. A cascade of arabinosyltransferases controls shoot meristem size in tomato. *Nature Genet.* **47**, 784–792.

Zaka *et al.*, 2018. Natural variations in the promoter of OsSWEET13 and OsSWEET14 expand the range of resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. PLoS ONE 13(9): e0203711 - doi.org/10.1371/journal.pone.0203711.

Zhang *et al.*, 2019. Enhanced rice salinity tolerance via CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the OsRR22 gene. Mol Breeding **39**: 47-56 - doi.org/10.1007/s11032-019-0954-y.

Quelques Revues publiées : Pour plus d'information sur la production de plantes par édition génomique :

- Chen *et al.*, 2019. CRISPR/Cas genome editing and precision plant breeding in Agriculture. Annual Review of Plant Biology **70**: 28.1-28.31 – doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100049.
- Jaganathan *et al.*, 2018. CRISPR for crop improvement. An update review. Frontiers in Plant Science - doi:10.3389/fpls.2018.00985
- Metje *et al.*, 2020. Genome edited plants in the field. Current Opinion in Biotechnology **61**: 1-6 - doi.org/10.1016/j.copbio.2019.08.007.
- Modrzejewski *et al.*, 2019. Environmental Evidence - What is available evidence for the range of application of genome-editing as a new tool? Environmental Evidence 8- <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0171-5>.
- Sharma *et al.*, 2019. Recent advances in developing disease resistance in plants, F1000Research, 8(F1000 Faculty Rev):1934 Last updated: 19 NOV 2019, doi.org/10.12688/f1000research.20179.1.
- Soda *et al.*, 2018. CRISPR-Cas9 based plant genome editing: significance, opportunities and recent advances. Plant Physiology and Biochemistry **131**: 2-11 – dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.024.
- Zhang *et al.*, 2018. Applications and potential of genome editing in crop improvement. Genome Biology 19: 210-XXX – doi.org/10.1186/s13059-018-1586-y.