

La transgénèse pour l'innovation variétale fruitière : état des lieux et perspectives

E. Chevreau

UMR GenHort 1259 (INRA/Agrocampus-ouest/Université d'Angers), 42 rue G. Morel, 49071 Beaucouzé Cedex

Correspondance : elisabeth.chevreau@angers.inra.fr

Résumé

En dépit du succès mondial croissant des plantes transgéniques de grandes cultures, le développement de variétés transgéniques reste extrêmement limité pour les productions fruitières. Les progrès techniques permettent aujourd'hui de transformer génétiquement la plupart des grandes espèces fruitières. Cependant l'efficacité de ces méthodes est très variable, et certaines espèces sont encore récalcitrantes. La transgénèse permet de modifier certains caractères soit en ajoutant un nouveau gène, soit en supprimant l'expression d'un gène, soit en modifiant la régulation d'un gène. Les exemples de caractères modifiés par transgénèse chez les espèces fruitières concernent la résistance aux maladies virales, bactériennes et fongiques, le port de la plante, son cycle de reproduction et certains caractères de qualité des fruits. Une seule variété fruitière transgénique est actuellement commercialisée : la papaye « Rainbow », résistante à un virus. La prochaine variété en cours d'autorisation aux Etats-Unis est un prunier transgénique « Honey Sweet » résistant à la sharka. Parmi les pistes de recherche actuellement les plus prometteuses figure la possibilité de réduire la période juvénile et donc de raccourcir les cycles de sélection. D'autres avancées méthodologiques permettent d'envisager pour l'avenir la création de variétés « intragéniques », c'est-à-dire ne contenant que des séquences génétiques issues de la plante elle-même ou d'une espèce proche.

Mots-clés : fruits, transgénèse

Abstract: Gene transfer for fruit tree breeding: state of the art and perspectives.

Despite the global success of crop plant GMOs, the development of transgenic varieties is still very limited for fruit species. Technological progresses enable genetic transformation of most fruit species. However, the efficiency of these methods is very variable, and some fruit species are still recalcitrant. Gene transfer enables modification of some traits through addition of a new gene, silencing of a gene, or modification of a gene regulation. Examples of traits which have been modified by gene transfer in fruit species include resistance to virus, bacteria and fungus diseases, tree habit, reproductive cycle and some fruit quality traits. Only one transgenic fruit variety is presently on the market: the "Rainbow" papaya, carrying a resistance to a virus disease. The next variety presently under deregulation in USA is the transgenic plum "Honey Sweet", resistant to sharka. Among the most promising current research topics is the possibility of reducing the duration of juvenile phase and thus of accelerating breeding cycles. Other methodological improvements now enable production of "intragenic" varieties, containing only genetic sequences from the plant itself or from one of its closely related species.

Keywords: fruits, gene transfer

Introduction

L'ensemble des espèces fruitières fournit environ 15% de la production alimentaire mondiale, et constitue une source de nutriments particulièrement diversifiée, due au nombre très élevé d'espèces cultivées dans ce groupe (environ 30 % des espèces primaires alimentaires recensées par la FAO) (Heslop-Harrison, 2005). Malgré cette importance agronomique indéniable, les progrès des connaissances génétiques et génomiques sur ces plantes sont plus lents que ceux accomplis sur les espèces de grande culture. Les limites dues aux particularités biologiques de ces espèces en sont une des raisons. En effet, les espèces fruitières sont en majorité des espèces pérennes caractérisées par la longueur de leur cycle reproductif (période juvénile pouvant aller de 3 à plus de 10 ans suivant les espèces). Ce sont pour la plupart des espèces à multiplication végétative, reproduites par bouturage ou marcottage pour les porte-greffe, greffage pour les variétés. La structure des variétés est donc clonale. Le régime de reproduction le plus fréquent est l'allogamie, et le niveau d'hétérozygotie des variétés est élevé. Enfin, ces espèces ont pour beaucoup d'entre elles un génome d'origine polyploïde. Cependant, des progrès appréciables ont été accomplis sur certaines espèces fruitières tempérées (pommier, vigne, fruits à noyaux, Citrus). Les avancées technologiques récentes en génomique ont permis le séquençage du premier génome d'une espèce fruitière, la vigne en 2007 (Jaillon et al, 2007), puis celui de la papaye, en 2008 (Ming et al, 2008). Celui du pommier sera également publié très prochainement.

La production de fruits est caractérisée par le fait que, pour de nombreuses espèces, la gamme variétale dans une zone géographique est très restreinte. Ainsi, la production française de poire repose sur une dizaine de variétés, créées pour la plupart au 18^{ème} ou au 19^{ème} siècle. La situation extrême est celle du kiwi, espèce domestiquée récemment, dont la production mondiale dépend majoritairement d'une seule variété d'*Actinidia deliciosa* nommée 'Hayward'. Toutefois, chez certaines espèces fruitières comme le fraisier ou le pêcher, la gamme variétale est plus vaste et se renouvelle rapidement (Doré et Varoquaux, 2006).

Depuis une cinquantaine d'années, l'amélioration génétique des espèces fruitières a principalement été accomplie par hybridation, ainsi que par la recherche de mutants spontanés ou induits après mutagenèse. Les objectifs de sélection des principales variétés fruitières comprennent généralement la résistance aux bio-agresseurs, la qualité gustative et l'aptitude à la conservation des fruits, ainsi que la régularité de production. Les porte-greffe des arbres fruitiers font l'objet de programmes d'amélioration spécifiques, ciblés sur les aptitudes à la multiplication et la vigueur conférée, ainsi que la tolérance aux bio-agresseurs.

Au niveau mondial, la grande majorité des recherches en génétique et des programmes d'amélioration des arbres fruitiers sont réalisés par le secteur de la recherche publique. Les innovations créées sont souvent difficiles à faire accepter par l'ensemble de la filière, du producteur au distributeur. En France, un effort important a été fait pour articuler la recherche conduite à l'INRA et les structures professionnelles en charge de la multiplication et de la diffusion du matériel végétal fruitier. Cette démarche favorise l'acceptation des innovations, comme en témoigne par exemple le succès de la variété de pommier Ariane, sélectionnée par l'INRA et lancée par la SARL Novadi (Laurens, 2003).

Dans le contexte biologique et économique propre aux espèces fruitières, la transgénèse constitue, théoriquement, un outil d'innovation très complémentaire de l'hybridation. En effet, la sélection d'un transformant primaire permet, en une seule étape, l'amélioration ponctuelle et ciblée d'un caractère d'un génotype « élite », sans modification de l'ensemble de ses caractéristiques agronomiques. Sa reproduction conforme est permise par la multiplication végétative, et sa très grande similarité avec la variété d'origine doit faciliter son acceptation et sa diffusion (Scorza, 2001).

Cet article fera un point sur l'état de l'art en matière de transformation génétique des arbres fruitiers, sur les applications en cours de développement sur ces espèces, ainsi que sur l'état d'avancement des principaux projets de création variétale utilisant cette méthode.

Efficacité des méthodes de transformation génétique

Pratiquement toutes les espèces fruitières d'importance économique peuvent aujourd'hui être transformées génétiquement. Les premiers succès sur ce groupe de plantes datent d'une vingtaine d'années, avec la publication de la transformation du noyer (McGraham et al, 1988) puis du pommier (James et al, 1989). Les publications mentionnant la régénération de plantes entières transgéniques se sont ensuite succédées pour au moins une trentaine d'espèces fruitières (Tableau 1).

Tableau 1 : Historique de la transformation génétique des espèces fruitières

Année	Espèce avec production de plantes transgéniques publiée
1988	noyer
1989	pommier
1990	papaye, myrtille, Citrus, vigne, fraisier, framboisier
1991	kiwi, prunier, pêcher, cassissier
1992	manguier, airelle, abricotier
1995	bananier
1995	cerisier
1996	noix de pécan, poirier
1997	palmier à huile, kaki
1998	ananas, châtaignier
1999	olivier, amandier
2003	mûrier, cacaoyer
2005	caféier
2008	figuier, avocat

Cependant, l'efficacité de la transformation génétique reste très variable d'une espèce à l'autre. Quatre espèces (ou groupe d'espèces) se distinguent par le nombre élevé de génotypes (variétés et porte-greffe) transformés avec succès : plus de 10 espèces de Citrus (Singh et Rajam, 2009), 40 génotypes de pommier (Malnoy et al, 2008), 35 de vigne (Bouquet et al, 2008), et 33 de fraiser (Qin et al, 2008). Pour la plupart des autres espèces fruitières, seuls quelques génotypes présentant une très bonne aptitude à la régénération *in vitro* ont pu être transformés génétiquement. Il ne s'agit pas toujours de variétés présentant un réel intérêt commercial (Petri et Burgos, 2005).

Les systèmes de régénération *in vitro* sur lesquels sont basés les protocoles de transformation génétique ne permettent pas la régénération à partir de tissus adultes chez toutes les espèces fruitières. Ainsi, pour des plantes telles que l'abricotier, le pêcher, le noyer ou le châtaignier, les transformants obtenus proviennent d'embryons zygotiques ou de jeunes semis, et ne reproduisent donc pas de façon conforme le génotype de la variété d'origine. De tels transformants doivent donc subir une phase de sélection similaire à celles de nouveaux hybrides, afin de s'assurer qu'ils combinent les caractères agronomiques désirés. C'est là une limitation majeure à l'emploi de la transgénèse pour l'innovation variétale chez ces espèces.

Même si les méthodes de transformation directe (bombardement de microparticules ou électroporation de protoplastes) ont parfois été employées pour la transformation d'espèces fruitières, la méthode la plus couramment employée est l'utilisation du vecteur naturel de transformation, *Agrobacterium tumefaciens*, mis en contact avec des explants en culture *in vitro*, aptes à la régénération de plantes entières par la voie de l'embryogenèse somatique ou de la régénération adventive. La figure 1 illustre un exemple de protocole de transformation génétique d'espèce fruitière, tel qu'il est pratiqué sur le poirier à l'INRA d'Angers, dans le cadre de la recherche de transformants moins sensibles au feu bactérien. L'efficacité de transformation sur cette espèce (entre 0,4 et 40%) et la durée du cycle allant de l'inoculation par *A. tumefaciens* au premier test en serre sur les transformants primaires (2 ans) sont dans la moyenne de ce qui est généralement obtenu sur espèces fruitières.

Il faut toutefois signaler deux cas pour lesquels la méthode de transformation génétique a été rendue suffisamment performante pour envisager des applications à « haut débit ». D'une part, l'équipe de l'Université de Cornell, à Geneva, maîtrise la transformation génétique du pommier et parvient à un taux de transformations de 80% sur le génotype M26. Cette technique a été récemment couplée à la transformation par un mélange de 5 vecteurs RNAi, pour une validation fonctionnelle de gènes candidats (Borejsza-Wysocka et al, 2009). D'autre part, Osumi et al (2006) ont développé une technique de transformation sur fraisier diploïde qui permet d'obtenir un taux de réussite de 100 % et la floraison de plantes transgéniques en serre en 6 mois. Cette avancée ouvre la voie à l'utilisation du fraisier diploïde comme espèce modèle pour la validation fonctionnelle de gènes chez les Rosacées fruitières.

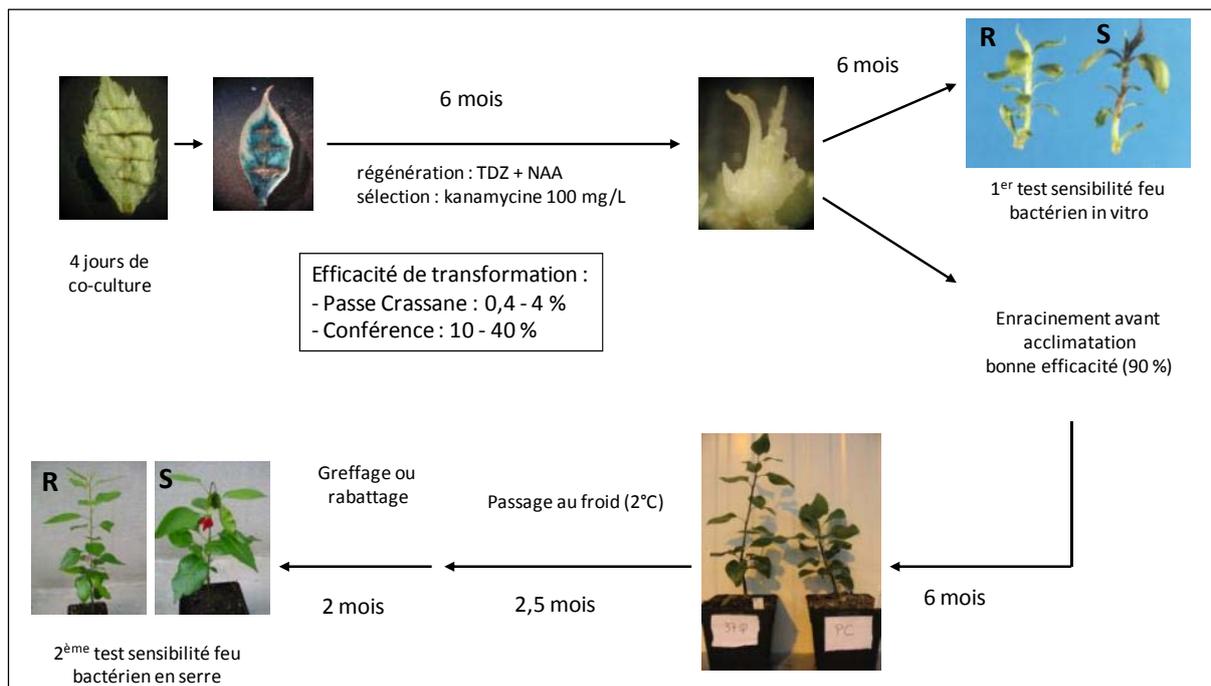


Figure 1 : Protocole de transformation génétique du poirier utilisé à l'INRA d'Angers pour la recherche d'une tolérance au feu bactérien

Applications en cours de développement

Théoriquement, l'ensemble des caractères d'une plante peut être modifié par transgénèse, par l'une ou l'autre des voies suivantes : 1) ajout d'un gène absent chez cette plante ; 2) suppression de l'expression d'un gène de la plante (ou silencing) ; 3) modification de la régulation d'un gène de la plante. Cependant, il est très difficile de moduler finement par cette approche un caractère ayant un déterminisme génétique très complexe (qualité aromatique d'un fruit par exemple). D'autre part, les modifications génétiques créées par l'addition d'un seul transgène peuvent s'avérer fragiles (cas d'une résistance à une maladie que le pathogène pourra contourner). Enfin, l'addition d'un seul transgène peut avoir dans la plante des effets multiples (pléiotropiques) importants.

En ce qui concerne les espèces fruitières, les caractères les plus fréquemment modifiés par transgénèse sont, par ordre d'importance des travaux décroissant : la résistance aux virus, la résistance aux champignons, la maturité du fruit, la résistance aux insectes, la résistance aux bactéries, la qualité du fruit, l'aptitude à l'enracinement, l'autocompatibilité, la réduction de la période juvénile, et la tolérance

aux stress abiotiques. Quelques exemples caractéristiques des différentes approches de transgénèse développées sur arbres fruitiers peuvent être cités :

- la résistance aux virus est fréquemment obtenue par une stratégie de sur-expression d'un gène du génome viral lui-même, qui conduit par silencing à l'absence de réplication du virus dans la plante. Cette stratégie a été développée avec succès pour obtenir la résistance de la papaye au virus PRSV (Fitch et al, 1992), et celle du prunier au virus de la sharka (Scorza et al, 2001).
- après avoir employé de nombreux transgènes issus d'organismes variés pour conférer une résistance aux maladies bactériennes des arbres fruitiers, plusieurs équipes ont choisi de bloquer certains facteurs de pathogénicité du pathogène lui-même. Ainsi, le noyer a été rendu résistant à la galle du collet par une stratégie amenant l'extinction de deux gènes de virulence d'*Agrobacterium tumefaciens* (Escobar et al, 2002).
- les progrès accomplis dans la découverte des gènes de résistance des espèces fruitières elles-mêmes rendent maintenant possible leur utilisation en transgénèse. Ainsi, l'ajout, dans une variété de pommier sensible à la tavelure, du gène majeur de résistance récemment cloné chez cette espèce (HcrVf) a conféré à cette variété une forte résistance à certaines races du champignon (Belfanti et al, 2004).
- la transgénèse permet de modifier profondément les caractéristiques de reproduction des arbres fruitiers. Ainsi, chez le pommier, espèce auto-incompatible, une variété a été rendue totalement auto-fertile par extinction du locus S d'incompatibilité (Brootharts et al, 2004). La durée de la période juvénile des arbres fruitiers peut également être très significativement réduite par transgénèse. Ainsi, l'ajout de gènes d'*Arabidopsis* contrôlant la floraison (Leafy, Apetala 1) a permis la floraison d'un citrange (porte-greffe de Citrus) en 2 ans au lieu de 5 ans (Pena et al, 2001).
- l'amélioration des porte-greffe représente un domaine d'application de la transgénèse particulièrement intéressant pour les arbres fruitiers, puisque seule la partie racinaire de l'arbre sera transgénétique, réduisant ainsi les risques de dissémination par le pollen ou les graines, et faisant disparaître les risques potentiels liés à l'ingestion d'aliments transgénétiques. L'aptitude à l'enracinement de porte-greffe de poirier a été significativement améliorée par l'ajout du gène RolB d'*Agrobacterium rhizogenes* (Zhu et al, 2003), et un essai au champ est actuellement en cours en Suède pour apprécier les aptitudes agronomiques des arbres greffés sur ces porte-greffe.

Etat d'avancement des projets de création variétale par transgénèse

L'analyse des essais au champ de plantes fruitières transgénétiques donne une indication sur le nombre de projets de recherche qui atteignent le stade de la vérification en conditions de culture des caractéristiques agronomiques du matériel produit. Les données sur les essais au champ conduits sous permis sont consultables pour les pays de l'OCDE (pour l'Europe sur <http://mbg.jrc.ec.europa.eu/deliberate/dbplants.asp>, pour les USA sur <http://www.isb.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm>, pour l'OCDE en général sur webdomino1.oecd.org/ehs/biotrack.nsf). Les informations sur les essais conduits en Asie sont beaucoup plus difficiles à obtenir. Plus de 200 essais au champ de plantes fruitières transgénétiques ont été conduits depuis 1989, les ¾ d'entre eux se sont déroulés aux USA. Dans ce pays, les essais au champ sur espèces fruitières ont commencé en 1990. Leur nombre a augmenté jusqu'en 1998 puis a commencé à régresser. En Europe, une cinquantaine d'essais au champ de plantes fruitières transgénétiques a été autorisée depuis 1993. Ces essais concernent majoritairement le pommier, les Citrus, la vigne et le fraisier (Tableau 2).

Tableau 2 : Essais au champ d'espèces fruitières transgéniques conduits en Europe entre 1993 et 2008 (d'après <http://mbg.jrc.ec.europa.eu/deliberate/dbplants.asp>)

Espèce	Pays de l'UE ayant autorisé un essai au champ	Nb. essais
Pommier	Allemagne, Belgique, Grande Bretagne, Pays-Bas, Suède	10
Citrus	Espagne, Italie	8
Vigne	Allemagne, France, Italie, Rép. Tchèque	8
Fraisier	Espagne, Grande Bretagne, Italie	8
Prunier	Espagne, Rép. Tchèque, Roumanie	4
Cerisier	Italie	3
Kiwi	Italie	3
Cerisier	Italie	3
Olivier	Italie	2
Framboisier	Italie	1
Poirier	Suède	1
TOTAL		51

Une seule espèce fruitière transgénique est aujourd'hui commercialisée dans le monde. Il s'agit des 2 variétés de papaye transgéniques 'SunUp' et 'Rainbow', obtenues par les universités de Cornell et Hawaï aux USA. Ces variétés sont résistantes au virus PRSV (Papaya Ring Spot Virus), grâce à l'introduction d'un gène de protéine capsidique du virus, qui provoque l'extinction post-transcriptionnelle de ce gène. Ces variétés ont permis à la production d'Hawaï de se redresser après les dégâts causés par l'arrivée du PRSV dans cette zone de production en 1992. Les fruits sont consommés aux USA, et autorisés à l'importation au Canada depuis 2003. Mais de nombreux marchés restent fermés à l'importation de papayes transgéniques (Fitch, 2005).

Une autre espèce fruitière transgénique est en cours de demande de culture et de commercialisation aux USA. Il s'agit de la variété de prunier 'HoneySweet', rendue résistante au virus de la sharka (PPV : Plum Pox Virus) par le transfert d'un gène de protéine capsidique de ce virus. Le tableau 3 illustre la longueur du processus de développement d'une variété fruitière transgénique.

Tableau 3 : Calendrier de développement d'une variété transgénique d'espèce fruitière : exemple de la variété de prunier 'HoneySweet' (adapté d'après Callahan, 2008)

Année	Etape du processus
1992	Isolation du gène de capsidique de PPV et construction d'un vecteur; mise au point d'un système de transformation du prunier sur explants immatures
1993-1994	Obtention de pruniers transformés (descendant de « Bluebyrd ») avec le gène capsidique du PPV, caractérisation moléculaire, multiplication et acclimatation
1994-1997	Tests de résistance au PPV en serre, études d'expression du transgène, détermination du mécanisme de résistance (silencing)
1997-2004	Tests au champ (USA, Espagne, République Tchèque), analyse de la qualité des fruits et du rendement, études d'expression du transgène au champ
2005-2006	Dossier de dérégulation déposé à l'APHIS (santé animale et végétale) : accepté
2007	Dossier de dérégulation déposé à la FDA (alimentation)
2008	Dossier en cours de préparation pour l'EPA (environnement)

Les travaux sur le clonage du gène de protéine capsidale du PPV et la mise au point de la transformation génétique d'explants immatures de prunier ont débuté aux USA et en France en 1992. Après plusieurs années d'analyses moléculaires et de tests en condition de quarantaine, les essais au champ ont eu lieu aux USA et en Europe, de 1997 à 2004. Trois agences fédérales distinctes sont responsables aux USA de l'autorisation de culture et de commercialisation de plantes transgéniques : l'APHIS autorise la culture, la FDA statue sur les risques alimentaires et l'EPA sur les risques pour l'environnement. Ces dossiers d'autorisation sont toujours en cours pour la variété de prunier 'HoneySweet'. Aux USA, une fois la variété autorisée, tous ses descendants le sont également automatiquement. Ceci permettra un travail d'amélioration par hybridation de cette première variété transgénique, issue d'un semis de hasard de la variété 'Bluebyrd' (Callahan, 2008).

D'autres variétés fruitières transgéniques pourraient voir le jour dans les prochaines années. Ainsi, la société canadienne de biotechnologies 'Okanagan Speciality Fruits' annonce sur son site (<http://www.okspecialtyfruits.com/>) le développement de son premier produit commercial : une variété de pomme ne brunissant pas, adaptée aux produits de 3^{ème} et 4^{ème} gammes. La modification génétique est dans ce cas l'extinction de gènes de polyphénol oxydase du pommier.

Au-delà des difficultés d'ordre scientifique et technique, de nombreux obstacles d'ordre économique et législatif freinent aujourd'hui le développement de variétés fruitières transgéniques. Les principaux facteurs ont été analysés récemment par Bradford et Alston (2004) :

- la diversité des espèces fruitières cultivées nécessite d'adapter les outils de transformation génétique à chacune. Des techniques spécifiques sont parfois à développer pour chaque génotype. Modifier un caractère d'une variété « élite » particulière peut donc demander un lourd investissement de recherche et développement.
- les marchés horticoles sont très segmentés et beaucoup de variétés fruitières ont des marchés de niche, adaptés à une localisation géographique, à une saison, aux goûts spécifiques des consommateurs. Une amélioration génétique réalisée par transgénèse doit donc être répétée dans de multiples variétés pour atteindre un vrai succès commercial.
- le marché potentiel d'une variété fruitière est souvent limité. L'investissement de recherche en biotechnologie est donc beaucoup plus difficile à rentabiliser que sur les espèces de grande culture.
- les grandes firmes distributrices de produits frais (dont les fruits) ont leurs propres exigences, qui viennent s'ajouter aux obligations réglementaires, encore très peu harmonisées entre les pays concernés par un même marché d'exportation.
- pour de nombreuses espèces fruitières, la recherche publique joue un rôle majoritaire dans les activités de recherche en génétique et de création variétale, y compris en biotechnologie. Quels que soient les pays, ses moyens ne peuvent être comparés à ceux des très grandes entreprises semencières internationales qui développent aujourd'hui les principales variétés transgéniques de plantes de grande culture. Celles-ci monopolisent également l'accès à la propriété intellectuelle, en détenant la majorité des brevets sur les gènes d'intérêt et les technologies de transfert de gènes.

Perspectives pour la recherche en transgénèse

Parmi les pistes de recherche actuellement les plus prometteuses, figure la possibilité de réduire la période juvénile et donc de raccourcir les cycles de sélection des arbres fruitiers. La période juvénile du pommier dure entre 5 et 10 ans selon les génotypes. L'introduction par transgénèse d'un gène de bouleau appartenant à la famille des MADS-box a permis d'obtenir la floraison de pommiers dans les 3-

4 mois suivant leur acclimatation en serre (Flachowsky et al, 2007). Ce nouveau caractère, introduit dans une variété de pommier cultivée 'Pinova', permet de réaliser un croisement par an. Un tel système permet d'accélérer les cycles de back-cross nécessaires pour introgresser un nouveau gène de résistance à une maladie, issu d'une espèce sauvage de *Malus*, dans le pommier cultivé, en sélectionnant à chaque génération les semis porteurs du gène de résistance grâce à des marqueurs moléculaires très liés (Figure 2). Un tel programme est actuellement en cours en Allemagne (Flachowsky et al, 2009).

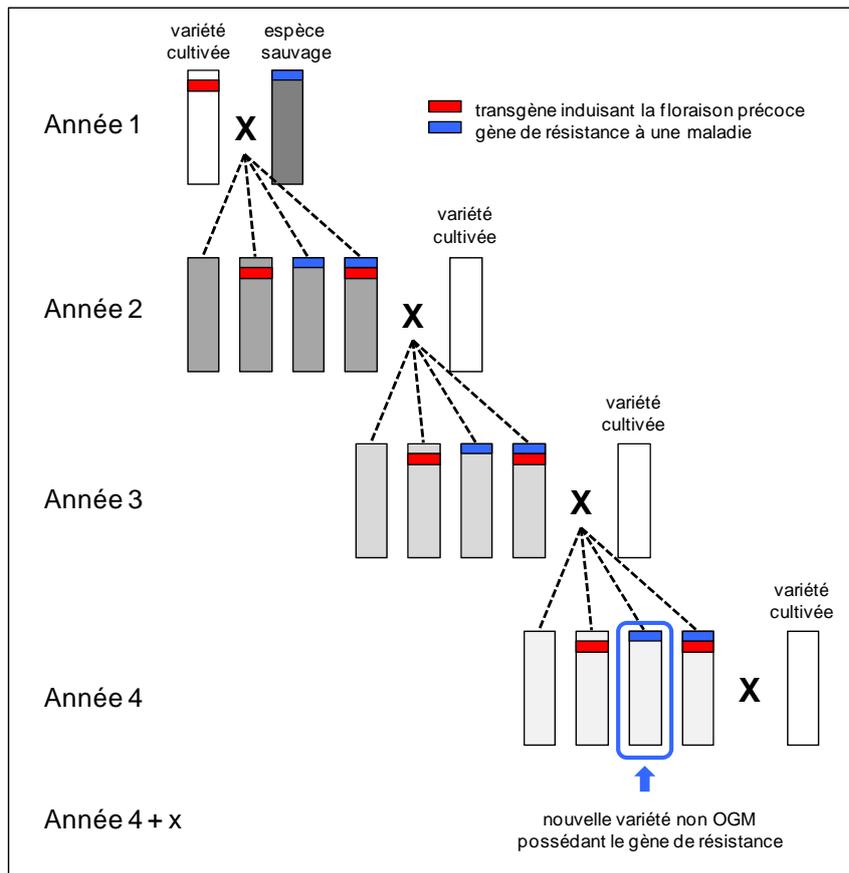


Figure 2 : Schéma d'hybridation accélérée chez le pommier, pour introgresser en 4 ans un gène de résistance issu d'une espèce sauvage (adapté de Flachowsky et al, 2009)

Parmi les freins actuels à l'adoption des plantes transgéniques, la crainte de la juxtaposition dans un même organisme d'informations génétiques issues d'espèces éloignées, et la perception d'un risque potentiel de transfert horizontal de résistance aux antibiotiques sont deux éléments importants. De nombreuses équipes travaillent à développer des méthodologies de transgenèse pour les espèces fruitières qui permettent de répondre à ces deux préoccupations. Parmi les stratégies permettant de s'affranchir de la présence de gènes de résistance aux antibiotiques dans les plantes transgéniques, un des systèmes les plus prometteurs en cours de développement sur les espèces fruitières est l'utilisation de la sélection par la kanamycine suivie de l'excision du gène de résistance à cet antibiotique. Ce système associe une recombinase inducible chimiquement et un gène marqueur bifonctionnel permettant une première sélection positive des cellules transgéniques par la kanamycine, puis après l'excision la sélection négative des cellules sans gène marqueur par la fluorocytosine. Déjà performant sur le fraisier (Schaart et al, 2004.), ce système est actuellement testé chez le pommier et le poirier. De nombreux travaux concernent également la recherche de séquences promotrices permettant de contrôler l'expression des transgènes de la façon la plus fine possible : dans un tissu précis, à un stade de développement de la plante, ou bien en réponse à un stress biotique ou abiotique. Enfin, la recherche de gènes issus des espèces fruitières travaillées et permettant de contrôler des caractères importants pour le producteur ou le consommateur est en plein développement. Clonage de plusieurs

gènes de résistance aux maladies de la vigne et du pommier, identification des principaux allergènes de la pomme, caractérisation de plusieurs gènes du fraisier impliqués dans la modification des parois cellulaires au cours de la maturation, en sont quelques exemples.

Deux nouveaux termes ont été récemment proposés pour définir ces plantes transgéniques « de nouvelle génération ». En 2006, Shouten et al. ont proposé le terme « plantes cisgéniques » pour définir des plantes produites par transgénèse en n'utilisant que des gènes issus d'une espèce compatible sexuellement, et en conservant toutes les séquences régulatrices natives de ce gène. En 2007, Rommens et al. ont élargi cette définition et proposé le terme « plantes intragéniques » pour désigner des plantes transgéniques ne contenant que des gènes issus d'une espèce compatible sexuellement, mais dont la régulation a pu être modifiée par changement du promoteur, ou bien par une construction permettant l'extinction du gène. Dans les 2 cas, ces auteurs argumentent l'absence de risque de ces nouvelles plantes transgéniques, très voisines de celles produites par les méthodes d'amélioration conventionnelle, et demandent que les plantes cisgéniques et/ou intragéniques soient exemptées de la législation actuelle sur les plantes transgéniques.

Conclusion

L'utilisation rationnelle de la transgénèse est compatible avec les exigences actuelles d'une production fruitière respectueuse de l'environnement et garantissant une totale sécurité alimentaire. Elle peut être utilisée en complément des approches traditionnelles d'amélioration génétique, pour accélérer l'introggression de caractères issus d'espèces sauvages voisines des espèces cultivées, ou pour fournir des géniteurs porteurs de caractéristiques inédites. Elle peut aussi permettre de créer directement de nouvelles variétés ou de nouveaux porte-greffe améliorés. L'accroissement rapide des connaissances sur les fonctions des gènes des espèces fruitières va considérablement élargir la gamme des innovations accessibles par cette technologie. Pour que ces innovations soient acceptées, il sera nécessaire d'étendre les caractères étudiés pour prendre en compte non seulement les attentes des producteurs, mais aussi celles des distributeurs et des consommateurs. La communauté des chercheurs travaillant sur les espèces fruitières se mobilise pour le développement des nouvelles stratégies de cisgénèse et d'intragenèse, afin de faciliter l'acceptation de futures variétés fruitières transgéniques, comme en témoigne la communication orale présentée conjointement par des chercheurs de huit pays différents lors du dernier congrès sur la génomique des Rosacées (Schouten et al, 2008).

Références bibliographiques

- Belfanti E., Silverberg-Dilworth E., Tartarini S., Patocchi A., Barbieri M., Zhu J., Vinatzer B.A., Gianfranceschi L., Gessler C., Sansavini S., 2004. The *HcrVf* gene from a wild apple confers scab resistance to a transgenic cultivated variety. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 101, 886-890.
- Borejsza-Wysocka E., Norelli J., Baldo A., Malnoy M., Farrell R.E., Bassett C.L., Aldwinckle H., 2009. Efficient generation of RNAi mutants of apple using multi-vector transformation. *Phytopathology* 99, 191.
- Bouquet A., Torregrossa L., Iocco P., Thomas M.R. 2008. Grape. In C. Kole et T.C. Hall (Eds.), *Transgenic temperate fruits and nuts*. Wiley-Blackwell, UK, p 189-232.
- Bradford K.J., Alston J.M., 2004. Horticultural biotechnologies: challenges for commercial development. *Chronica Horticulturae* 44, 4-8.
- Broothaerts W., Keulemans J., Van Nerum I., 2004. Self-fertile apple resulting from S-Rnase gene silencing. *Plant Cell Reports* 22, 497-501.

- Callahan A.M. 2008. Plums. In C. Kole et T.C. Hall (Eds.), Transgenic temperate fruits and nuts. Wiley-Blackwell, UK, p 93-118.
- Doré C., Varoquaux F., 2006. Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Ed. Quae C/O INRA Versailles, 812 pages.
- Escobar M.A., Leslie C.A., Mc Granham G.H., Dandekar A.M., 2002. Silencing crown gall disease in walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science* 163, 591-597.
- Fitch M.M.M., Manshardt R.M., Gonsalves D., Slightom J.L., Sanford J.C., 1992. Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus. *Bio/Technology* 10, 1466-1472.
- Fitch M.M.M., 2005. Papaya. In : R.E. Litz, (Ed.), *Biotechnology of Fruit and Nut Crops*. C.A.B. International, Wallingford, UK, p 174-207.
- Flachowsky H., Peil A., Sopanen T., Elo A., Hanke M.V., 2007. Over-expression of *BpMADS4* from silver birch (*Betula pendula* Roth.) induces early-flowering in apple (*Malus x domestica* Borkh.). *Plant Breeding* 126, 137-145.
- Flachowsky H., Hanke M.V., Peil A., Strauss S.H., Fladung M., 2009. A review on transgenic approaches to accelerate breeding of woody plants. *Plant breeding* 128, 217-226.
- Heslop-Harrison J.S., 2005. Introduction. In : R.E. Litz, (Ed.), *Biotechnology of Fruit and Nut Crops*. C.A.B. International, Wallingford, UK, p xix-xxiv.
- Jaillon O., Aury J.M., Noël B., Policriti A., Clepet C., Casagrande A., Choisne N., Aubourg S., Vitulo N., Jubin C. et al., 2007. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449, 463-468.
- James D.J., Passey A.J., Barbara D.J., Bevan M.V., 1989. Genetic transformation of apple (*Malus pumila* Mill.) using disarmed Ti-binary vector. *Plant Cell Reports* 7, 658-666.
- Laurens F., Pitiot C., 2003. French apple breeding program: a new partnership between INRA and the nurserymen of NOVADI. *Acta Horticulturae* 622, 575-582.
- Malnoy M., Korban S., Boresjza-Wisocka E., Alwinckle H.C. 2008. Apple. In C. Kole et T.C. Hall (Eds.), *Transgenic temperate fruits and nuts*. Wiley-Blackwell, UK, p 1-52.
- McGraham G.H., Leslie C.A., Uratsu S.L., Martin L.A., Dandekar A.M., 1988. *Agrobacterium*-mediated transformation of walnut somatic embryos and regeneration of transgenic plants. *Bio/technology* 6, 800-804.
- Ming R., Hou S., Feng Y., Yu Q., Dionne-Laporte A., Saw J.H., Senin P., Wang W., Ly B.V., Lewis K.L.T. et al., 2008. The draft genome of the transgenic tropical fruit tree papaya (*Carica papaya* Linnaeus). *Nature* 452, 991-997.
- Osumi T., Gruszewski H.A., Blishak L.A., Baxter A.J., Wadl P.A., Shuman J.L., Veilleux R.E., Shulaev V., 2006. High-efficiency transformation of the diploid strawberry (*Fragaria vesca*) for functional genomics. *Planta* 223, 1219-1230.
- Pena L., Martin-Trillo M., Juarez J., Pina J.A., Navarro L., Martinez-Zapater J.M., 2001. Constitutive expression of *Arabidopsis* LEAFY or APETALA1 genes in *Citrus* reduces their generation time. *Nature Biotechnology* 19, 263-267.
- Petri C., Burgos L., 2005. Transformation of fruit trees. Useful breeding tool or continued future prospect ? *Transgenic Research* 14, 15-26.
- Quin Y., Teixeira da Silva J.A., Zhang L., Zhang S., 2008. Transgenic strawberry: state of the art for improved traits. *Biotechnology Advances* 26, 219-232.
- Rommens C.M., Haring M.A., Swords K., Davies H., Belknap W.R., 2007. The intragenic approach as a new extension to traditional plant breeding. *Trends in Plant Science* 12, 397-403.
- Schaart J.G., Krens F.A., Pelgrom K.T.B., Mendes O., Rouwendal G.J.A., 2004. Effective production of marker-free transgenic strawberry plants using inducible site-specific recombination and a bifunctional selectable marker gene. *Plant Biotechnology Journal* 2, 233-240.
- Scorza R., 2001. Progress in tree fruit improvement through molecular genetics. *HortScience*, 36, 855-858.

Scorza R., Callahan A.M., Levy L., Damsteegt L., Webb V., Ravlonandro M., 2001. Post-transcriptional gene silencing in plum pox virus resistant transgenic European plum containing the plum pox virus coat protein gene. *Transgenic Research* 10, 201-209.

Shouten H.J., Krens F.A., Jacobsen E., 2006. Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants. International regulations for genetically modified organisms should be altered to exempt cisgenesis. *EMBO Reports* 7, 750-753.

Schouten H.J., Soriano J.M., Joshi S.G., Khan.S.A., Schaart J.G., Krens F.A., Kortstee A.J., Allan A.C., Hellens R.P., Flaishman M., Malnoy M., Velasco R., Szankowski I., Tartarini S., Sansavini S., Hanke V., Flachowsky H., Chevreau E., Gessler C., Aldwinckle H.S.,. 2008 Cisgenesis and intragenesis in Rosaceae crops. 4th Rosaceae Genomics Conference, Pucon, Chili, 16-19 mars 2008. (oral communication).

Singh S., Rajam M.V., 2009. *Citrus* biotechnology: achievements, limitations and future directions. *Physiology and Molecular biology of Plants* 15, 1-22.

Zhu L.H., Li X.Y., Ahlman A., Welander M. 2003. The rooting ability of the dwarfing pear rootstock BP10030 (*Pyrus communis*) was significantly increased by introduction of the rolB gene. *Plant Science* 165, 829-835.