



pas une vague idée de sa localisation dans le génome ou de sa séquence (il est plus facile de retrouver un ami à Paris si l'on connaît son adresse ou, au moins, son nom de famille et son prénom).

En 1990, toutefois, j'ai jugé que le clonage de la séquence *Xa21* était possible, car Steven Tanksley et Susan McCouch, à l'Université Cornell, venaient d'établir une carte qui pouvait guider l'exploration de l'énorme génome du riz. La technique de clonage que j'ai utilisée est « cartographique » : comme son nom l'indique, elle nécessite de connaître approximativement la position de repères, ou marqueurs, sur l'ADN. La carte génétique élaborée par S. Tanksley et S. McCouch indiquait l'existence de plusieurs centaines de marqueurs utiles sur les douze chromosomes du riz.

Pendant quelques années, nous avons utilisé cette carte pour pister *Xa21*. Nous avons examiné plus d'un millier de plants de riz, afin de mesurer à quelle fréquence les marqueurs connus de l'ADN étaient couplés avec une résistance à la nielle bactérienne. Nous examinions les échanges et les réarrangements entre chromosomes qui ont lieu au cours de la reproduction sexuée : plus deux sites sont proches sur un chromosome, moins ils ont de chances d'être séparés pendant la recombinaison génétique qui accompagne la reproduction sexuée. Ainsi plus la fréquence de transmission d'une résistance couplée à celle d'un marqueur donné était élevée, plus le gène de résistance devait être proche de ce marqueur.

Par un extraordinaire coup de chance, le premier marqueur chromosomique dont nous avons montré la proximité de *Xa21* fut particulièrement utile. Un dimanche de mai 1994, deux ans après avoir créé mon laboratoire à

l'Université de Davis, je découvris que la séquence du marqueur était identique à celle de nombreux gènes de résistance récemment clonés à partir de plants de tabac, de tomate, de lin et de moutarde. Seule au laboratoire ce matin-là, j'appelai mon collègue et ami John Salmeron, de l'Université de Berkeley, et lui demandai de comparer minutieusement ma séquence avec celle de son gène de résistance de tomate. Nous étions surpris et excités de trouver tant de ressemblances entre des gènes de plantes aussi différentes.

Avec mon équipe, nous avons alors passé toute l'année qui a suivi à cloner des séquences qui pouvaient être la séquence *Xa21* que nous cherchions et à préparer leur insertion dans des plants de riz. Nous savions que le test décisif serait le transfert de la séquence isolée dans un plant de riz normalement sensible à *Xanthomonas oryzae* : si nous avions cloné le bon gène, les plants transgéniques obtenus seraient résistants à la nielle bactérienne. Nous étions impatients de commencer ces expériences, mais nous devions résoudre un problème de taille : nous ne savions pas introduire des gènes dans des cellules de riz, et très peu de laboratoires savaient pratiquer ce procédé de « transformation » du riz.

Dans la ligne de mire

Le transfert de gènes dans des cellules de plantes est une opération difficile : de nombreux types de cellules végétales sont réfractaires à l'incorporation d'ADN étranger. Toutefois, en 1987, à l'Université Cornell, John Sanford mit au point un canon capable de projeter des particules microscopiques dans des cellules intactes (voir *Les plantes transgéniques*, par Charles Gasser et Robert Fraley, *Pour La Science*, août 1992). Les premiers prototypes de J. Sanford fonctionnaient à la poudre noire, mais les modèles ultérieurs utilisaient de l'hélium comprimé pour tirer de petites billes d'or d'un diamètre inférieur au centième de millimètre ; recouvertes d'ADN, elles apportaient ainsi l'ADN au cœur des cellules.

En 1991, personne n'avait encore appliqué cette technique au riz, mais, quand nous fûmes prêts à tester nos séquences clonées, le Laboratoire international de biotechnologie agricole tropicale accepta de nous aider : une équipe utilisa le canon de J. Sanford pour transformer des cellules de riz de

2. LES MÉTHODES CLASSIQUES DE SÉLECTION ne procurent que très lentement des variétés de riz résistant aux maladies. Quand on féconde un plant sensible à une maladie, mais qui possède un caractère utile (production d'un nombre élevé de grains ou bien de grains à goût agréable), avec le pollen d'un plant résistant, les descendants reçoivent un mélange aléatoire du matériel génétique des deux parents (*barres colorées*). Si l'on croise ensuite les descendants résistants avec le plant sensible initial, on obtient des descendants qui possèdent en proportion supérieure des caractères utiles des parents d'origine. À chaque croisement, la sélection des descendants résistants garantit la présence du gène de résistance (ici le gène *Xa21*).

la variété *Taipei 309* (une variété ancienne qui n'est plus cultivée, mais que nous avons choisie, car elle est sensible à la bactérie *Xanthomonas oryzae* et facilement transformable) avec notre ADN cloné. Nous avons cultivé 1 500 plants transformés ; chacun contenait dans son génome l'ADN cloné. Après six semaines de culture, nous avons testé leur résistance à la nielle bactérienne.

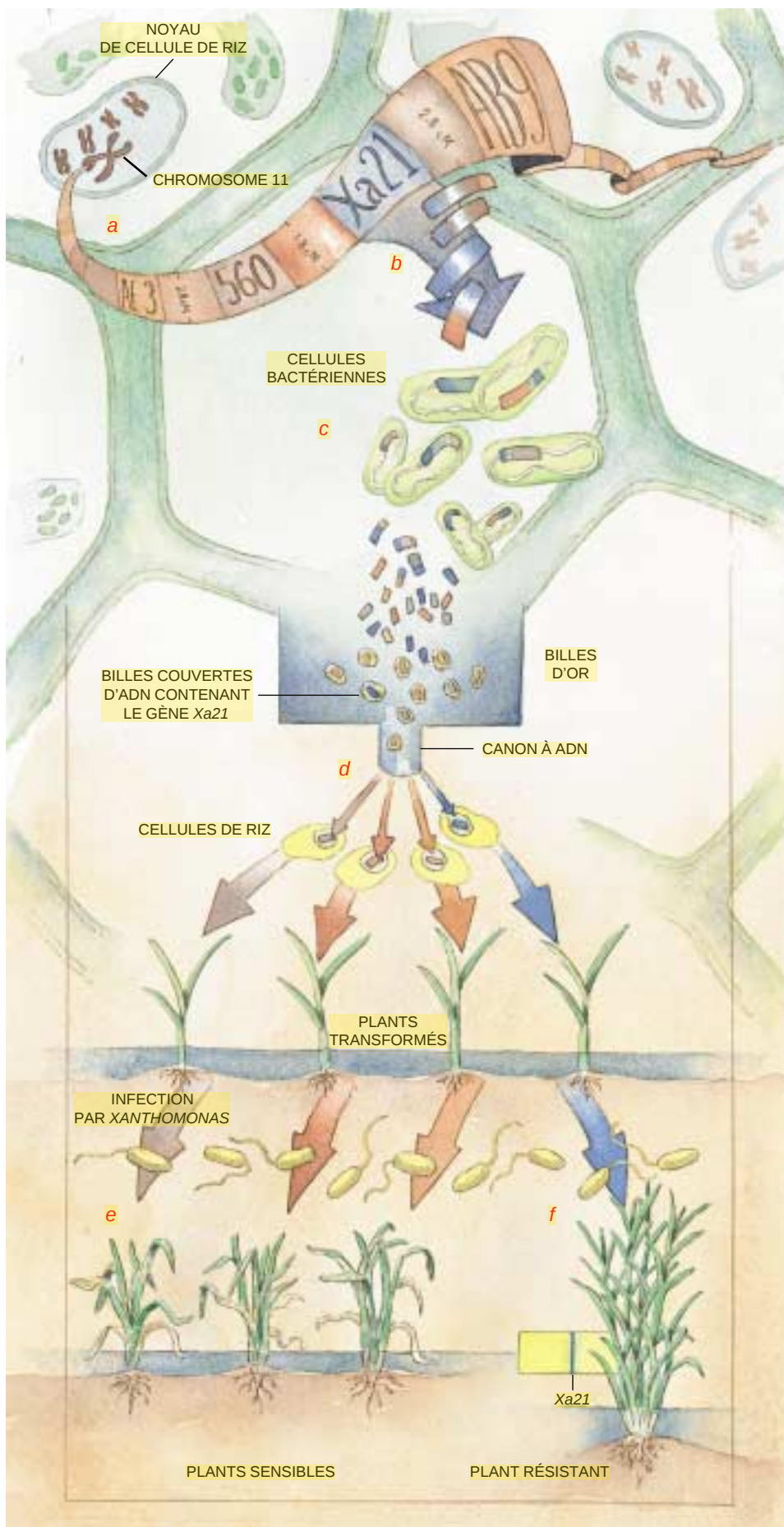
Nous avons infecté chaque plant transgénique en taillant ses feuilles à l'aide de ciseaux préalablement trempés dans une suspension bactérienne. Puis, dix jours plus tard, nous avons examiné les plants à la recherche de lésions dues aux bactéries. Cinquante des 1 500 plants transgéniques étaient résistants : leurs lésions étaient 75 à 90 pour cent plus réduites que celles des plants non transformés. Dans chacun des 50 plants résistants, le segment d'ADN transformé contenait un gène intact de résistance à la nielle.

La résistance distribuée

Ayant ainsi cloné la séquence *Xa21*, nous avons montré qu'elle se transmettait dans la descendance des plants transgéniques par autofécondisation. Nous avons soumis nos plants transgéniques à l'action de 31 souches différentes de *Xanthomonas oryzae* provenant de huit pays, d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine. Les plants résistèrent à l'infection par 29 de ces souches, exactement comme le riz sauvage africain.

Nous cherchons maintenant à introduire la séquence *Xa21* dans des variétés qui, contrairement à *Taipei 309*, sont importantes sur le plan agricole. En collaboration avec le Laboratoire international de biotechnologie agronomique tropicale, nous avons introduit la séquence *Xa21* dans deux variétés courantes – *IR64* et *IR72* – cultivées sur

3. LE GÉNIE GÉNÉTIQUE permet de transmettre une résistance à une maladie quand on connaît les gènes responsables de cette résistance. Pour isoler le gène *Xa21*, l'auteur a déterminé sa position approximative sur le chromosome 11 du riz (a), puis a fabriqué des segments d'ADN qui comprenaient cette région (b). L'ADN a ensuite été reproduit dans des bactéries (c), les copies ont été placées sur de petites billes en or, puis projetées dans les cellules de variétés de riz sensibles (d). Certaines cellules ont intégré l'ADN introduit, mais pas le gène de la résistance (e) ; quelques-unes seulement ont effectivement intégré dans leur génome le gène *Xa21* intact et ont formé ultérieurement des plants résistants (f).



environ neuf millions d'hectares en Asie et en Afrique. Nos nouveaux plants transgéniques résistent à la nielle. De même, nous avons communiqué la résistance à la variété *Ming Hui 63*, cultivée en Chine.

Simultanément, nous avons envoyé la séquence *Xa21* à de nombreux biologistes d'Europe, d'Afrique, d'Asie et des États-Unis, afin qu'ils fassent eux-mêmes l'insertion dans les variétés de riz locales, mieux adaptées aux conditions de culture des diverses régions du Globe. Ces variétés possèdent de précieuses qualités, telles que résistance à la sécheresse, tolérance au froid, petite taille (pour résister au vent), ou résistance à des maladies et à des fléaux locaux. Les versions génétiquement modifiées seront identiques aux plants d'origine, à l'exception du transgène cloné, qui confère la résistance à la nielle bactérienne.

Les agronomes devront ensuite tester l'intérêt des variétés transgéniques, afin de déterminer si les modifications n'ont pas réduit les rendements, le goût des grains ou la robustesse des plants ; si les variétés transformées se comportent aussi bien que les variétés initiales de chaque région, des programmes de reproduction pourront être mis en place. Le gène de résistance à la maladie étant transmissible, les fermiers des pays en développement recevront des semences qu'ils feront eux-mêmes pousser pour obtenir leurs propres semences pour la saison suivante.

Les récoltes du futur

Le génie génétique est bien plus rapide et flexible que la sélection classique : quelques mois de travail procurent des variétés améliorées, à condition que l'on ait initialement cloné les gènes utiles que l'on veut introduire. Aucune compatibilité n'est requise entre donneur et receveur : les gènes peuvent provenir de variétés, voire d'espèces différentes.

Aujourd'hui on peut protéger contre la nielle d'autres céréales que le riz. Une espèce de *Xanthomonas* infecte la plupart des cultures. En Floride, 99 pour cent des cultures d'arbres du genre *Citrus* y sont sensibles : les planteurs doivent surveiller de très près les infections bactériennes pour éviter les épidémies et, au milieu des années 1980, ils ont dû brûler plus de 20 millions d'orangers pour écarter tout risque d'épidémie. L'État américain a dépensé plus de 200 millions de francs pour éradiquer la maladie, et les pertes de production qui ont touché des centaines de producteurs ont été encore supérieures. Protégera-t-on les citronniers et les autres cultures en manipulant les gènes de résistance à la nielle bactérienne du riz ?

Le génie génétique peut également aider les agriculteurs à lutter contre

des maladies qui menacent les plants résistants en champ : après des mutations, certains agents pathogènes vainquent les défenses des plantes, de sorte que les producteurs doivent en permanence identifier les gènes utiles et les introduire, aussi bien par les techniques classiques que par génie génétique, afin de minimiser la sensibilité aux maladies. Comme on connaît aujourd'hui de nombreux gènes de résistance, on peut les cloner et, éventuellement, trouver des combinaisons de gènes qui conféreront une résistance renforcée ; de même, des combinaisons d'antibiotiques ou de médicaments antiviraux combattent plus efficacement que des médicaments isolés des micro-organismes tels que les bactéries de la tuberculose ou le virus de l'immunodéficience humaine.

Nous espérons également faire acquérir, en une seule transformation, une résistance à plusieurs agents pathogènes. Il arrive que des agriculteurs ne puissent pas utiliser des variétés de riz dotées de la résistance à la nielle bactérienne parce qu'elles ne résistent pas à d'autres agents pathogènes qui sévissent localement. L'un des plus graves fléaux est le criquet brun, un insecte qui cause des ravages considérables aux plants de riz dont il se nourrit, transmettant du même coup des agents pathogènes tels que les virus du rabougrissement. Nous collaborons avec des collègues chinois et anglais pour introduire une double résistance à la nielle bactérienne et au criquet brun dans plusieurs variétés importantes de riz, grâce à des gènes clonés, dont *Xa21*. Actuellement les biologistes clonent de plus en plus de gènes de résistance, et le nombre des combinaisons possibles s'accroît donc de façon exponentielle.

Les plantes transgéniques résistant aux maladies sont prometteuses. Bien que les agriculteurs n'en cultivent pas encore,



4. DES FEUILLES DE RIZ exposées à la bactérie *Xanthomonas oryzae* résistent à l'infection quand elles possèdent le gène *Xa21*, aussi bien dans notre variété transgénique *Taipei* (paire de gauche) que dans des plants sélectionnés de façon classique (paire de droite). D'importantes lésions jaunes (paires du centre) apparaissent sur les feuilles des plants sensibles qui sont infectées.