

FICHE D'INFORMATION DESTINEE AU PUBLIC

ELABOREE PAR LE CENTRE DE RECHERCHE D'ORLEANS DE L'INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE ¹ :

En application du Code de l'Environnement, Titre III du Livre V, le ministre chargé de l'agriculture, après avis du Haut conseil des biotechnologies, a donné l'autorisation à l'INRA d'effectuer un essai au champ pluriannuel d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) sur le territoire de la commune de Saint-Cyr en Val (45590).

TITRE DU PROJET :

Taillis à très courte rotation de peupliers génétiquement modifiés pour les propriétés du bois - Evaluations agronomique et environnementale - Evaluation du bois pour la production de bioénergie

N° d'enregistrement du dossier : B/FR/

N° d'autorisation :

Durée de l'essai : 5 ans du 1 Janvier 2013 au 31 décembre 2017.

Responsables à contacter pour tout renseignement concernant l'essai au champ :

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Centre de Recherche de : ORLEANS

Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières

2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 ARDON

45075 ORLEANS Cedex 2

Télécopie : 02 38 41 78 79

MINISTERE DE L'ALIMENTATION, DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE

251, Rue de Vaugirard - F-75732 PARIS Cedex 15

Télécopie : 01 49 55 59 49

¹ **Avertissement** : La présente fiche d'information du public est rédigée sous la seule responsabilité du demandeur sur la base du dossier de demande d'autorisation en tenant compte des conditions de l'autorisation en ce qui concerne les conditions d'expérimentation.

1. BUT ET UTILISATIONS PREVUES DE LA DISSEMINATION

Le but général de l'étude faisant l'objet de cette demande est d'étudier l'effet de la modification de la biosynthèse des lignines sur les propriétés du bois. Nous ne savons encore que peu de choses sur les mécanismes moléculaires, mis en œuvre au cours de la formation du bois, mécanismes qui déterminent pour partie les propriétés du bois. Globalement, le bois peut être comparé à un matériau composite formé de câbles (les microfibrilles de cellulose) cimentés ensemble (par les lignines). L'étude de peupliers GM à lignines modifiées est un moyen unique pour évaluer le rôle du ciment (les lignines) dans les propriétés du bois. Dans le cadre des précédents essais auxquels fait suite cette demande de prolongation, nous avons montré que le bois d'une des lignées de peuplier GM évaluées présentait des propriétés très intéressantes pour l'industrie papetière puisque permettant de produire un papier de meilleure qualité tout en réduisant la quantité de produits chimiques coûteux et polluants nécessaire à l'élimination des lignines.

Plus spécifiquement, cette demande s'intéresse à évaluer les propriétés du bois à lignines modifiées dans la perspective d'une production de bioénergie à partir de ligno-celluloses. En effet, le bois produit dans des taillis à courte rotation de peuplier est potentiellement une source importante de ligno-cellulose. Pour produire du bioéthanol à partir de bois, le ratio entre lignines et cellulose est déterminant, de même que l'accessibilité de la cellulose au mélange enzymatique capable de la digérer pour produire l'éthanol. Cette accessibilité dépend en partie de la qualité des lignines du bois. Ainsi, la réalisation de tests de production de bioéthanol à partir de bois de peupliers à lignines modifiées devrait permettre de mieux cerner l'importance des lignines pour cette future utilisation potentielle du bois.

Mais les lignines sont avant tout très importantes pour la croissance et le développement des arbres : elles permettent notamment l'imperméabilisation des vaisseaux du bois, nécessaire à la conduction de la sève brute des racines au houppier ; elles participent également à la rigidification des parois des fibres du bois et concourent donc aux propriétés mécaniques de ces fibres si importantes pour le soutien mécanique du tronc et des branches. Enfin, elles peuvent avoir également un rôle de barrière contre l'attaque des pathogènes. Ainsi chez un arbre, la modification des lignines qui constitue son bois est susceptible d'avoir des conséquences sur la croissance et le développement de l'arbre.

Les demandes d'essais au champ de peupliers à lignines modifiées ne sont déposées qu'à la suite de longues études moléculaires, biochimiques, physiologiques et biomécaniques, menées pendant plusieurs années sur des très jeunes arbres élevés en milieu confiné (en serre). Ce n'est qu'après avoir identifié et caractérisé les peupliers GM présentant les modifications potentiellement les plus intéressantes que ceux-ci font l'objet d'une demande d'expérimentation au champ.

Pourquoi une telle demande ? Plusieurs raisons nous incitent à passer par cette étape pourtant très lourde et très contraignante, mais qui est l'aboutissement de notre démarche de recherche :

1) *la nécessité d'obtenir une quantité importante de bois* : Le but ultime de notre étude est d'évaluer les impacts des modifications étudiées sur les propriétés technologiques du bois. Même si les laboratoires spécialisés dans ces techniques disposent d'outillages permettant de réaliser ces tests à relativement petite échelle par rapport à l'échelle industrielle, il faut disposer tout de même d'une quantité importante de bois difficile à obtenir dans des conditions de culture en milieu confiné, c'est à dire en serre (hauteur importante des arbres dès la 2ème année de croissance). De plus, le bois de jeunes arbres (1-2 ans) élevés en serre se révèle très différent de celui des arbres plantés en champ, notamment en ce qui concerne les lignines.

2) *la nécessité d'obtenir du bois formé dans des conditions environnementales représentatives des conditions naturelles* : Nous l'avons vu, les lignines sont très importantes pour l'arbre. Naturellement, des peupliers à lignines modifiées sont potentiellement altérés pour leur croissance et leur développement. Or, les conditions de serre ne sont pas adaptées pour une telle évaluation. Tout d'abord, l'arbre ne peut avoir un développement normal car le développement des racines est

forcément limité par la taille du pot, et celle du tronc et des branches par la taille de la serre. De plus, la serre est un milieu forcément très protégé, où les plants sont en général élevés dans des conditions optimales de croissance et de développement, en ce qui concerne notamment l'eau, la nutrition minérale, la lumière, l'état sanitaire. En serre, les plants ne manquent de rien et sont soumis le moins possible aux différents stress rencontrés en champ. Même si les essais en champ tels que menés sur la pépinière de l'INRA d'Orléans ne sont en rien comparables à l'habitat naturel des peupliers grisards, ils reflètent assez bien des conditions qui pourraient être celles de futures plantations en taillis à courte rotation de peuplier à vocation énergétique, réalisés sur des sols marginaux délaissés par l'agriculture.

Finalement, de telles études sur des peupliers GM en champ permettent d'augmenter notre savoir sur la formation du bois et l'importance des lignines pour une utilisation du peuplier pour la production de bois énergie : même dans un contexte où l'utilisation commerciale d'arbres GM (en France) n'est pas envisagée ni envisageable, ce savoir pourra être utile pour :

- i) raffiner les procédés pour la production de bioéthanol
- ii) orienter la sélection génétique (par des voies classiques) de clones plus performants pour la production de bois-énergie
- iii) acquérir un savoir sur les avantages mais aussi les problèmes potentiels (voir les risques) que poserait l'utilisation d'arbres GM – n'oublions pas que, si non envisagée en France, la commercialisation d'arbres GM est déjà un fait en Chine, et celle d'arbres GM à lignines modifiées est envisagée à court terme dans d'autres parties du monde (par exemple en Amérique du Sud).

Nous avons choisi de réaliser cette évaluation sur une plantation menée en taillis à très courte rotation (TTCR), cette sylviculture étant une option raisonnable pour mener des cultures énergétiques dans l'objectif de maximiser la production de biomasse avec une forte densité de plantation (10 000 tiges à l'hectare) et des récoltes tous les deux ou trois ans pouvant être encore réalisées avec du matériel agricole. De plus, l'essai est réalisé dans notre pépinière en Sologne sur un sol marginal peu fertile, impropre à toute culture agricole rentable.

Afin d'évaluer les performances agronomiques des lignées, différentes mesures seront réalisées de façon régulière, mesures portant sur des aspects quantitatifs (hauteur et diamètre des arbres, nombre de brins principaux) et qualitatifs (attaques de ravageurs, chute de cime...). A la fin de chaque rotation, l'essai sera recépé et le bois récolté et traité afin d'évaluer le rendement de saccharification, un critère clé pour la production de bioéthanol.

Un suivi agronomique des teneurs en élément minéraux (N, S, P, K, Ca, Mg et Mn) sera réalisé tout au long de la durée de l'essai. Enfin, toutes les expérimentations seront effectuées uniquement à des fins de recherches.

2. NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR

INRA - 147, Rue de l'Université – 75338 PARIS CEDEX 07
Etablissement public à caractère scientifique et technologique

Centre de Recherche Val de Loire
2163 Avenue de la pomme de pin, CS 40001 ARDON,
45075 ORLEANS Cedex 2

3. DESCRIPTION SYNTHETIQUE ET LOCALISATION DE LA DISSEMINATION

La plantation de peupliers GM faisant l'objet de cette demande est localisée dans une zone de la pépinière de l'unité de recherche AGPF, située sur la commune de Saint-Cyr en Val, dans le Centre de Recherche INRA d'Orléans. Puisque pour cet essai, nous réalisons une seconde rotation du matériel déjà installé pour l'essai #B/FR/07.06.01, la plantation sera localisée sur les parcelles déjà utilisées

lors de la précédente expérimentation, d'une surface totale de 1363,5 m². Chaque lignée de peuplier GM ou témoin a été plantée à 120 exemplaires répartis en 5 blocs de 24 plants (6 x 4 plants), répartis de façon semi aléatoire sur toute la surface de l'essai. Le nombre de plants GM s'élève ainsi à 1200 plants, auxquels se rajoutent 240 plants témoins, soit une densité de 10 000 plants / ha. L'espacement sur la longueur de l'essai est de 1 m tandis qu'il est alternativement de 0.6m et de 1.2m sur la largeur, ce qui permet le passage aisé d'une débroussailleuse pour l'entretien régulier de la parcelle.

La plantation menée en TTCR sera recépée tous les 2 à 3 ans, gardant l'arbre dans sa phase juvénile avant qu'il ne puisse produire des fleurs, permettant *de facto* un contrôle total de la dissémination par graines ou pollen.

Le site d'expérimentation est isolé par une zone de protection de 3 m maintenue constamment propre par un travail superficiel du sol. Dans un périmètre de 20 m autour de la parcelle expérimentale, toute apparition de drageons (aisément identifiables) sera régulièrement contrôlée par traitement herbicide. La zone réservée aux expérimentations impliquant des peupliers génétiquement modifiés est régulièrement entretenue selon les méthodes utilisées classiquement pour ce type de culture : hersage, désherbage chimique de la zone expérimentale et de la zone de protection, irrigation...

En fin d'expérimentation, après prélèvement de tous les échantillons nécessaires aux différentes analyses moléculaires, biochimiques et technologiques, les plants seront dévitalisés, arrachés mécaniquement et brûlés. Afin de contrôler toute formation ultérieure de drageons, le sol (zone expérimentale et zone de protection) sera traité selon un protocole mis au point et éprouvé par l'Unité Expérimentale GBFOR pour l'élimination des peupliers : à la fin de l'hiver suivant l'arrêt de l'expérimentation, tous les plants seront recépés à une hauteur de 20 cm en moyenne. Ensuite, on laissera les rejets de souche repousser jusqu'au mois de juin (la repousse a lieu essentiellement sur les réserves). A cette date, un traitement herbicide au glyphosate sera appliqué. Les plants seront ensuite arrachés au cours de l'automne et détruits par le feu. Ce protocole permet d'épuiser la souche et de détruire la totalité des racines, grandes et petites, Nous n'avons jamais observé de rémanents.

4. DESCRIPTION GENERALE DU OU DES ORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES

La plante d'origine est un peuplier grisard de la section *Populus*. Les peupliers grisards sont en fait des hybrides naturels entre deux espèces de peupliers, le tremble et le peuplier blanc. En botanique, cet hybride se nomme *Populus tremula x Populus alba* ou *Populus canescens*. Plus précisément, la plante transformée est le clone INRA #717-1B4, choisi comme modèle pour ce type d'étude car relativement aisé à modifier génétiquement.

Les peupliers GM (Génétiquement Modifiés) faisant l'objet de cette demande d'extension sont modifiés au niveau de la voie de biosynthèse des lignines, un des composants majeurs du bois : les lignines cimentent les microfibrilles de cellulose entre elles, et participent ainsi à la définition des propriétés uniques du bois.

Les modifications génétiques ont consisté à introduire des séquences de gènes de peuplier correspondant à des enzymes-clés pour la synthèse des lignines. L'expression des gènes introduits va agir, soit par un effet appelés antisens, soit par un effet de co-suppression, sur l'expression des gènes de lignification correspondants présents chez le peuplier non modifié. Quand l'effet antisens ou de co-suppression se révèle efficace, alors l'expression du gène cible est fortement réduite entraînant ainsi des modifications dans la voie de biosynthèse des lignines, qui se répercuteront éventuellement sur les propriétés du bois des peupliers GM.

Les quatre gènes dont l'expression a été altérée chez les peupliers GM faisant l'objet de cette demande sont la CAD, la COMT, la CCR et la CCoAOMT : les protéines correspondantes sont des enzymes de la biosynthèse des monolignols, les unités élémentaires du polymère de lignines. Les modifications

dans l'activité des ces enzymes peuvent entraîner une réduction de la quantité de lignines, une modification du ratio entre les différents monolignols dans le polymère et également des modifications au niveau de la structure même du polymère : toutes ces modifications sont bien sûr susceptibles de modifier les propriétés du bois formé avec ce type de lignines.

De plus, tous les peupliers à lignines modifiées faisant l'objet de cette demande sont également résistants soit à la kanamycine, soit à l'hygromycine B, la résistance à ces antibiotiques ayant uniquement servi à sélectionner les plantes génétiquement transformées au cours des étapes de culture *in vitro*.

5. METHODES ET PLANS DE SURVEILLANCE DES OPERATIONS ET D'INTERVENTION EN CAS D'URGENCE

Bien qu'à priori il n'y ait aucun avantage sélectif conféré par les gènes introduits, la dissémination de matériels issus des peupliers GM sera strictement contrôlée.

Comme déjà signalé au § 3, la plantation menée en TTCR sera recépée tous les 2 à 3 ans, gardant l'arbre dans sa phase juvénile avant qu'il ne puisse produire des fleurs, permettant *de facto* un contrôle total de la dissémination par graines. Les plants mis en dispositif étant de sexe femelle, il n'y a pas de production de pollen.

Le site d'expérimentation est isolé par une zone de protection de 3 m maintenue constamment propre par un travail superficiel du sol. Dans un périmètre de 20 m autour de la parcelle expérimentale, toute apparition de drageons (aisément identifiables) sera régulièrement contrôlée par traitement herbicide. La zone réservée aux expérimentations impliquant des peupliers génétiquement modifiés est régulièrement entretenue selon les méthodes utilisées classiquement pour ce type de culture : hersage, désherbage chimique de la zone expérimentale et de la zone de protection, éventuellement irrigation...

En fin d'expérimentation, après prélèvement de tous les échantillons nécessaires aux différentes analyses moléculaires, biochimiques et technologiques, les plants seront dévitalisés, arrachés mécaniquement et brûlés. Afin de contrôler toute formation ultérieure de drageons, le sol (zone expérimentale et zone de protection) sera traité selon un protocole mis au point et éprouvé par l'Unité Expérimentale GBFOR pour l'élimination des peupliers : à la fin de l'hiver suivant l'arrêt de l'expérimentation, tous les plants seront recépés à une hauteur de 20 cm en moyenne. Ensuite, on laissera les rejets de souche repousser jusqu'au mois de juin (la repousse a lieu essentiellement sur les réserves). A cette date, un traitement herbicide au glyphosate sera appliqué. Les plants seront ensuite arrachés au cours de l'automne et détruits par le feu. Ce protocole permet d'épuiser la souche et de détruire la totalité des racines, grandes et petites. Nous n'avons jamais observé de rémanents.

Pendant la culture, l'essai sera suivi très régulièrement par le personnel responsable de la dissémination, les techniciens et les chercheurs. Une attention particulière sera portée pour contrôler l'apparition des drageons. La conformité de l'expérimentation aux conditions décrites dans ce dossier et dans l'autorisation du Ministère de l'Agriculture sera contrôlée annuellement par les agents assermentés de la Protection des Végétaux. Après la destruction de l'essai, le site sera contrôlé régulièrement pendant les deux années suivantes de façon à détecter et éliminer les repousses (la première année), et vérifier (la deuxième année) l'absence de repousses.

6. RESUME DE L'EVALUATION DES EFFETS ET DES RISQUES POUR LA SANTE PUBLIQUE ET POUR L'ENVIRONNEMENT

Les peupliers qui font l'objet de cette demande de prolongation sont i) résistants à un antibiotique (la kanamycine ou l'hygromycine, selon les lignées de peupliers GM) et ii) possèdent moins de lignines ou des lignines modifiées.

La résistance à un antibiotique, qui n'est pas utilisé en extérieur (ni en agriculture, ni en sylviculture) n'a aucune raison de conférer au peuplier qui porte ce caractère ni une meilleure persistance dans les habitats agricoles, ni une meilleure propagation dans les habitats naturels.

Concernant les modifications des lignines, aucun avantage sélectif des peupliers génétiquement modifiés faisant l'objet de cette demande, comme aucune incidence écologique sur des organismes non cibles ne peuvent être actuellement identifiés. Au cours des 15 dernières années d'études sur le sujet, nous avons observé à maintes reprises que des modifications apportées aux lignines par génie génétique, tant du point de vue quantitatif que qualitatif, devait être très mesurées, sous peine d'atteindre rapidement les fonctions de conduction et de soutien, vitales pour l'arbre. D'ailleurs, il apparaît difficile de trouver un équilibre entre une modification des lignines assez importante pour être potentiellement intéressante au niveau technologique, qui ne soit pas délétère pour le développement de l'arbre. Tout cela suggère que les peupliers génétiquement modifiés faisant l'objet de cette demande ont tout au plus une persistance égale aux individus non génétiquement modifiés, tandis que nous n'avons aucune raison de penser que les modifications apportées influent sur la rapidité de propagation des peupliers à lignines modifiées dans leur habitat naturel.

La reproduction est essentiellement sexuée, mais il existe aussi des possibilités de drageonnage (formation de pousses sur les racines superficielles). Le clone utilisé est un clone femelle. Dans les meilleures conditions de croissance le temps de génération minimal est de 4-5 ans (début de floraison). La plantation menée en TTCR sera recépée tous les 2 à 3 ans, gardant l'arbre dans sa phase juvénile qui ne permet pas la production de fleurs et permettant *de facto* un contrôle total de la dissémination par graines ou pollen.

Le peuplier grisard est capable de se propager végétativement par drageonnage : ce drageonnage est facilement contrôlé autour de l'essai dans une zone nue régulièrement entretenue. Une fois l'an, souvent en été, quand l'arbre a produit son plus grand effort de croissance, les drageons sont détruits par traitement avec un herbicide systémique.

Aucun effet nuisible vis à vis de la santé publique n'est identifiable actuellement.