

RÉSUMÉ

de la thèse de doctorat intitulée:

RECHERCHE SUR LA DÉTECTION DE CERTAINS ORGANISMES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS EN ROUMANIE

Doctorant: **SIMIONESCU (MIHĂLĂCHIOIU) Luminița Raluca**

Coordinateur scientifique: **Prof. univ. Dr. CORNEA Călina Petruța**

MOTS-CLÉS: plantes génétiquement modifiées, législation, détection, tests, Roumanie

Les plantes génétiquement modifiées contribuent au progrès général dans le monde entier et devraient constituer la base de la lutte contre la faim. Les aliments obtenus à partir de plantes génétiquement modifiées garantissent un haut niveau de santé pour les personnes, les animaux, l'environnement et contribuent à l'innovation dans le système agroalimentaire. Au cours des dernières décennies, les progrès de la biotechnologie ont conduit au développement de nouvelles techniques génomiques (NGT), qui permettent le développement de plantes présentant de nouveaux caractères souhaités, en modifiant l'ADN des cellules. Les plantes agricoles représentent les avantages du génie génétique, tels que l'augmentation du rendement, la résistance au changement climatique (sécheresse, sols salins), la réduction des besoins en pesticides, l'augmentation de la composition nutritionnelle et de la qualité des aliments, la résistance aux ravageurs et aux maladies, la sécurité alimentaire, dans le contexte de une population mondiale de plus en plus grande. Les NGT se sont développés rapidement, certains produits NGT sont déjà sur le marché en dehors de l'UE, et cette tendance devrait se poursuivre. Dans le même temps, des préoccupations existent quant à l'utilisation de ces technologies et à leur impact sur l'agriculture biologique, en ce qui concerne le droit des consommateurs à l'information et au libre choix. L'acceptation du consommateur est essentielle.

Les plantes obtenues à partir de NGT contribuer aux objectifs du Green Deal européen, des stratégies de la ferme à la table et de la biodiversité et des objectifs de développement durable (ODD) des Nations Unies pour un système agroalimentaire durable. La Cour de justice de l'UE a précisé en 2018 que les organismes produits par mutagenèse ciblée sont des OGM et sont soumis aux exigences de la législation de l'UE sur les OGM.

Ont été enregistrées pour la culture 14 variétés de soja génétiquement modifiées (GTS - 40-3-2 entre 2004 et 2006). La Roumanie a interdit la culture du soja génétiquement modifié, depuis le 1er janvier 2007. Au cours de la période 2007-2010, du maïs génétiquement modifié MON810 a été cultivé, sur des superficies de 332,4 ha

en 2007, 6130,44 ha en 2008, 822,6 ha en 2010, selon le ministère de l'Agriculture, des Forêts et du Rural Développement.

La législation actuelle n'est plus adaptée et doit être adaptée aux progrès scientifiques et technologiques pour certains NGT et leurs produits. Le cadre actuel est basé sur des techniques et des méthodes définies par la biotechnologie telle qu'elle était comprise à la fin des années 1990. De plus, la procédure actuelle d'autorisation et de contrôle de la traçabilité des aliments n'a pas été conçue pour promouvoir la durabilité dans le secteur agroalimentaire. La non-réglementation des produits NGT affecterait négativement l'innovation et la recherche en biotechnologie agricole et alimentaire, les opérateurs du système agroalimentaire et alimentaire, les opérateurs de l'agriculture biologique, les partenaires commerciaux, les autorités nationales de contrôle des aliments sur le marché, les organismes d'évaluation, les organisations de consommateurs.

La thèse de doctorat intitulée: «**Recherche sur la détection de certains organismes génétiquement modifiés en Roumanie**» propose, d'une part, une analyse de l'incidence des organismes génétiquement modifiés identifiés lors du contrôle des denrées alimentaires et des aliments pour animaux en Roumanie entre 2017 et 2020 et d'évaluer la législation dans le domaine des nouvelles techniques de modification du génome. et, d'autre part, analyser l'opinion des consommateurs en réalisant un questionnaire de perception du public et une étude de cas concernant l'édition génomique des plantes cultivées (techniques d'édition génomique) et a les objectifs suivants:

- évaluation pour la période 2017 – 2020 de la présence de matériel génétiquement modifié dans le soja et le maïs en Roumanie ;
- tester la présence de transgènes dans le matériel végétal ou les produits dérivés de la betterave sucrière et de la papaye ;
- analyse critique des nouvelles techniques de modification génétique des plantes et des méthodes de détection des modifications ;
- analyse comparative des réglementations en matière de mise sur le marché des NGT - OGM et des débats afin de les identifier ;
- analyse du degré d'information, de perception et d'acceptation des consommateurs en Roumanie pour les produits agroalimentaires, les plantes et les produits obtenus grâce aux nouvelles techniques génomiques.

La thèse est structurée en deux parties:

Partie I: Étude bibliographique;

Partie II: Propres recherches.

La première partie a suivi dans le premier chapitre la « revue » des cultures transgéniques dans le monde, dans les années 2017, 2019 et 2020, montrant les superficies cultivées et les pays qui adoptent leur implantation, en croissance continue et rapide. Les bénéfices apportés par l'utilisation des plantes génétiquement modifiées dans le secteur agroalimentaire sont présentés dans le premier chapitre. Les scientifiques ont eu des opinions pour et contre leur utilisation et leur culture, depuis des premières cultures génétiquement modifiées. Après une période d'étude, d'examen et de réflexion, les académies du monde entier ont convenu qu'il n'y avait aucun

danger concernant la sécurité des aliments produits à partir de cultures génétiquement modifiées. Ce chapitre présente également brièvement le niveau d'acceptation des biotechnologies dans le monde et les méthodes de détection qualitative et quantitative de l'ADN. Grâce à la méthode PCR en temps réel, l'amplification et la quantification d'une séquence d'ADN sont réalisées efficacement en une seule opération réalisée par un équipement automatisé tel que Themocycler.

Le chapitre II comprend les types et les mécanismes des nouvelles techniques génomiques et met en évidence les avantages sociaux et économiques apportés par les progrès de la biotechnologie appliquée aux plantes. Ils permettent d'introduire de nouveaux caractères ou de modifier efficacement des caractères existants. Les NGT permettent aux chercheurs d'insérer ou de supprimer des gènes entiers, d'apporter de petites modifications à l'ADN ou de modifier l'activité des gènes. Ils donnent aux chercheurs des outils plus précis pour sélectionner des variations végétales. Ce chapitre présente quelques applications de NGT.

Les techniques d'édition du génome en appliquant des nucléases spécifiques à un site comprennent la coupure et la modification du génome pendant le processus de réparation (ZFN, TALEN et CRISPR-Cas9) et la modification de seulement quelques paires de bases (ODM). La cisgénèse implique le transfert d'un gène provenant d'une espèce identique ou étroitement apparentée. L'intragenèse représente l'altération du matériel génétique d'une même espèce, par l'ajout de nouveaux traits. Les méthodes épigénétiques modifient l'activité d'un gène sans modifier l'ADN. Le application du NGT sur différentes matrices de matériel biologique sont développés pour l'industrie agroalimentaire. Est obligatoire que ces produits ou ingrédients puissent être surveillés (Règlement (UE) n° 625/2017 relatif aux contrôles officiels) tout au long de la chaîne de production, de transformation et de commercialisation, à travers les procédures spécifiques de traçabilité (Règlement (CE) n° 1830/2003 relatif à la traçabilité et à l'étiquetage des OGM) et à travers les informations portées sur les étiquettes (complètes et exactes).

Le défi apporté par les nouvelles techniques génomiques est représenté par la détection des produits développés par ces techniques. On ne sait pas actuellement comment démontrer spécificité de la méthode si la mutation pourrait également se produire spontanément ou pourrait être introduite par des techniques d'édition du génome ou une mutagenèse aléatoire. Pour le contrôle du marché agroalimentaire de l'UE, il est très peu probable que les laboratoires soient en mesure de détecter la présence de produits végétaux non autorisés dans les denrées alimentaires ou les aliments pour animaux entrant sur le marché de l'UE, sans avoir des informations préalables sur les séquences d'ADN modifiées. Grâce à l'état des nouvelles techniques génomiques, évaluées par la Commission européenne en 2021, il a été conclu qu'il existe des plantes et des produits NGT en vente sur le marché mondial, présentés au chapitre II, ainsi que leurs nouveaux caractères induits.

L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a conclu que des produits végétaux présentant des profils de risque similaires à ceux développés par certaines méthodes NGT (mutagenèse ciblée et cisgénèse) peuvent être obtenus avec des techniques de sélection conventionnelles ou des mutations naturelles et qu'ils ne

présentent pas de nouveaux risques. Des exemples de réglementation NGT dans des pays hors UE sont présentés au chapitre II.

Dans la **partie II**, les objectifs de la recherche, les études, la méthodologie utilisée, les résultats obtenus pour la propre recherche sont présentés.

Les chapitres III, IV, V et VI comprennent des études de données comparatives pour la période 2017-2020, en Roumanie, concernant la détection de séquences spécifiques de modification génétique des matrices de soja, de maïs, de papaye et de betterave sucrière à partir de matières premières et de produits, avec une proposition d'adaptation de la méthode d'examen de ces matrices et des études sur les analyses effectuées dans les laboratoires nationaux de biologie moléculaire pour la détection des OGM dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux vendus sur le marché. Des données sur la production et la quantité importée de soja, de maïs, de betterave sucrière et de papaye sont également présentées.

L'étude conclut que pour le soja, la production est en diminution (superficies cultivées plus petites), les importations avec des quantités en constante augmentation, contrairement aux exportations. Pour le maïs, on connaît une production en augmentation significative et une activité d'exportation importante (l'importation est insignifiante). Pour la betterave sucrière, on constate une baisse continue et significative de la production nationale, accompagnée d'importations de grandes quantités, suite à la demande du secteur de l'élevage en fourrages riches en protéines. Pour la papaye, on peut conclure à l'existence d'importations (les exportations sont insignifiantes), en petites quantités, mais avec une tendance à la hausse, ce qui peut signifier le développement du goût des consommateurs pour ce fruit.

En Roumanie, il existe 8 laboratoires accrédités impliqués dans le contrôle officiel pour l'examen des denrées alimentaires et des aliments pour animaux génétiquement modifiés et le laboratoire national de référence pour les OGM, qui a effectué des analyses sur plusieurs types de produits. Pour le soja génétiquement modifié: céréales, farine, farine, isolat de protéines, texturé, lait, fibres, granulés, cubes, tranches, pain, chocolat, pâtes à tartiner, sauces, salami, saucisses, biscuits, gâteaux, conserves de viande, mélange à pâtisserie et crème. Pour le maïs génétiquement modifié: grains, malt, popcorn, choux, chips, huile, flocons, maïs sucré, sorgho, amidon, levure fourragère, fourrage combiné. Les méthodes d'identification et de quantification utilisées sont accréditées par RENAR: ISO 21569 (méthodes qualitatives), ISO 21570 (méthodes quantitatives) et ISO 21571 (méthodes d'extraction d'ADN). Tous les échantillons avec résultat positif étaient inférieurs à la limite de 0,9%, ce qui prouve que les produits destinés à l'alimentation humaine et animale présents sur le marché national sont conformes à la législation en vigueur en matière d'OGM. 2,25 % des échantillons analysés se sont révélés positifs au soja génétiquement modifié, avec la conclusion qu'une petite quantité d'aliments génétiquement modifiés a été importée.

Pour la betterave sucrière et la papaye, les matières premières, la préparation et l'échantillonnage des échantillons, l'extraction de l'ADN, les tests qualitatifs et quantitatifs par la méthode PCR en temps réel avec l'équipement real-time PCR sont détaillés. Les matières premières analysées étaient des produits d'origine végétale, qui représentaient 23 échantillons (6 échantillons de papayes, graines, cubes confits

séchés et congelés et 17 échantillons de betteraves sucrières provenant de différentes zones géographiques du pays (Mureş - Terre de Céréales, Mureş – Luduş, Sibiu – Aflat, Bistrița Nășăud – Lechința, Cluj – Baba Ioana, Alba – Ariesul, Alba – Săliște, Covasna – Târgul Secuiesc – Cultiliș, Covasna – Angheluș, Botoșani – Unteni, Brașov – Tarlungeni, Brașov – Feldioara Suceava, Iași, Neamt, Brăila)). Tous les échantillons ont été utilisés pour l'extraction de l'ADN génomique et les procédures de PCR en temps réel ont été appliquées conformément aux procédures des fabricants. Kit d'extraction d'acide nucléique: GeneSpin pour 50 extractions d'ADN (PCR GRADE). Kit d'amplification: DIATHEVA-MBK0013, amorces et sondes EUROGENTEC. Tous les échantillons examinés ont donné un résultat négatif aux tests OGM, ce qui conduit à la conclusion que des variétés non génétiquement modifiées sont présentes sur le marché national. L'adaptation de la méthode de travail nécessite, pour les échantillons de graines de betterave sucrière et de papaye, lors de la phase de préparation des échantillons, plus de temps pour être humidifiés afin de réduire les risques d'échauffement, empêcher l'activation des DNases et faciliter le processus d'extraction. La méthode d'extraction utilisée est efficace pour les matrices de betterave sucrière et de papaye, après quantification spectrophotométrique, confirmation de l'absence de substances inhibitrices et évaluation de l'état de fragmentation des molécules d'ADN.

Le chapitre VII comprend une étude sur la perception et l'évaluation du degré d'acceptation des consommateurs roumains sur les produits agroalimentaires dérivés de plantes obtenues à partir de nouvelles techniques génomiques, par rapport aux aliments dérivés de plantes conventionnelles et la disponibilité pour les acheter et les consommer. Entre juin 2023 et octobre 2023, un questionnaire a été diffusé en ligne.

Le chapitre VIII mentionne le cadre législatif actuel concernant les organismes génétiquement modifiés, aux niveaux national et européen. Des débats ont lieu au niveau européen pour la finalisation du projet de règlement concernant les plantes obtenues par mutagenèse et cisgenèse ciblées et leurs produits. Le Réseau européen des laboratoires OGM (ENGL) a identifié en 2023 des limites au développement et à la validation de méthodes de détection spécifiques à un événement pour les plantes issues d'une mutagenèse ciblée ou d'une cisgenèse. Les produits présentant des séquences d'ADN identiques ne peuvent pas être distingués ni précisés s'ils sont produits naturellement, par sélection conventionnelle ou par l'utilisation de NGT.

A la fin de la thèse de doctorat, les conclusions des études réalisées pour atteindre les objectifs proposés et les perspectives d'études futures sont présentées, dans le contexte du besoin de nouveaux aliments pour animaux et aliments pour animaux, qui contribuent aux objectifs de l'Europe durable. système agroalimentaire selon le Green Deal européen et les stratégies associées. L'innovation et la recherche dans les secteurs du système agroalimentaire et des biotechnologies seraient encouragées si elles bénéficiaient d'un cadre juridique clair pour les usines de NGT.

Recommandations et actualités

Pour la première fois, une étude de perception et d'acceptation par les consommateurs des nouvelles techniques génomiques et des produits obtenus à partir de celles-ci a été réalisée en Roumanie.

Dans les études qui ont fait l'objet de cette thèse, pour la première fois la détection de différents types de produits ou de matières premières, comme la papaye et la betterave sucrière, considérées comme de nouvelles matrices pour les méthodes de travail actuellement utilisées dans les laboratoires de biologie moléculaire et d'OGM en notre pays, qui assure la surveillance et le contrôle des denrées alimentaires et des aliments pour animaux sur le marché, accompagnés de l'adaptation de la méthode de détection de ces matrices.

L'étude a été élaborée à partir des données sur les productions obtenues et sur le bilan commercial des espèces de soja, de maïs, de betterave sucrière et de papaye, ainsi que de l'étude sur la détection d'OGM dans l'alimentation humaine et animale, toutes deux réalisées pour la période 2017-2020 sur le territoire de la Roumanie, donne pour la première fois une image complète de ce domaine et peut être le point de départ d'études ultérieures. L'année pandémique 2020 n'a pas donné de résultats positifs, en raison de la responsabilité croissante des opérateurs de l'industrie alimentaire et de la confiance des consommateurs dans les produits commercialisés.

L'analyse critique des critères proposés par l'EFSA pour l'évaluation des NGT sont pour la première fois en débat aux niveaux national et européen, ainsi qu'un éventuel acte réglementaire de mutagenèse ciblée et de cisgénèse.