

PROJET IdEvol

L'IDENTIFICATION VARIÉTALE ACCÉLÉRÉE

Le travail de laboratoire d'identification des variétés par marqueurs moléculaires va être facilité. Le projet IdEvol se terminant en ce début d'année a permis de l'automatiser en partie. Restent quelques ajustements à prévoir pour autoriser une utilisation en routine.

Le processus d'identification des variétés de pommes de terre par analyse de leur ADN concerne déjà près de 3000 échantillons par an. Mis en œuvre depuis le début des années 2000 par un réseau de cinq laboratoires coordonnés par la FN3PT, il représente une étape indispensable à la certification des plants. L'ADN de chaque variété contient, en effet, de petites séquences appelées "marqueurs microsatellites" générant une empreinte analogue à un code-barres spécifique à chaque variété. Elles permettent, entre autres, de vérifier la conformité variétale des



En travaillant collectivement, le pari était de développer une méthode robuste"



Le projet IdEvol a permis d'éprouver la station de travail Qiaxcel Advanced de Qiagen.

plants dans les étapes de multiplication végétative, de caractériser les nouvelles variétés ou de tester des lots de consommation. Cependant, en plus de se révéler gourmandes en temps, ces analyses exposent le personnel des laboratoires à des produits nocifs et génèrent des coûts de traitements des déchets.

Le projet IdEvol (identification moléculaire des variétés) lancé début 2019 et achevé en ce début d'année 2023 avait pour objectif d'éprouver les possibilités offertes par un nouvel appareil d'analyse semi-automatique capable de réduire les temps d'analyse (cf. LPTF n° 635). Il devait, notamment, permettre de vérifier si les marqueurs habituels, répertoriés dans la base de données IdEvol, étaient utilisables sur l'appareil sélectionné, le Qiaxcel Advanced fabriqué par le spécialiste Qiagen.

L'ÉLABORATION D'UNE MÉTHODE ROBUSTE

La pandémie de Covid-19 a pu perturber le calendrier d'avancement du projet, qui a bénéficié d'une extension de durée sans modification du budget. La réunion de clôture s'est tenue le 22 novembre dernier.



Après trois ans de travaux, la réunion de clôture du projet IdEvol a eu lieu à Paris le 22 novembre 2022.

→ CARTE D'IDENTITÉ

PROJET IdEvol

En valorisant d'emblée la dimension du réseau et en travaillant collectivement autour d'outils communs, le pari était de développer une méthode robuste. Le travail collaboratif réalisé par les partenaires a permis de mener les différentes phases opérationnelles prévues. Durant les deux premières années du projet, ils ont acquis les équipements sur leurs fonds propres ainsi que les compétences nécessaires à l'utilisation de la nouvelle technique. Ils ont notamment dû apprendre à optimiser les conditions d'amplification par polymérase (PCR) multipliant les segments d'ADN. La nouvelle méthode nécessite en effet une vigilance accrue par rapport à la précédente. La phase suivante a consisté à produire une grande quantité de profils sur le nouvel instrument pour pouvoir les comparer aux références disponibles dans la base de données IdeAle. Pour cela, des échantillons de la CNVS (Collection nationale variétale et sanitaire) ont été répartis dans les laboratoires du réseau. Celui de l'Inrae, pour sa part, s'est servi de matériels issus des collections de son centre de ressources biologiques BrACySol. Cette étape a également été mise à profit pour modifier la méthode d'extraction d'ADN afin de l'automatiser.

UN CHOIX DE MARQUEURS EFFICACES

Dès sa conception, le projet a envisagé l'éventualité que certains des huit marqueurs utilisés par la procédure actuelle ne puissent pas être transférés à la nouvelle. Pour le vérifier, 400 variétés ont été décrites avec ces marqueurs et des variétés témoins ont été répétées dans tous les laboratoires. Cette phase de travail a permis d'échanger entre les laboratoires sur les pratiques et d'organiser des exercices de lecture en commun de profils. Leur comparaison point par point avec les références a permis de calculer des taux de concordance et de déterminer quels marqueurs

étaient transférables. Les résultats montrent que six sur les huit le sont. Le pouvoir résolutif du nouvel instrument étant en effet inférieur à celui de la méthode habituelle, il représente un frein au transfert des deux marqueurs restants.

Pour apporter des solutions à ce problème, le projet a cherché à identifier de nouveaux marqueurs. À cette fin, FN3PT/Inov3PT en a testé quinze sur le nouvel instrument, couramment décrits dans la littérature scientifique en utilisant un ensemble de douze variétés. Très vite, les tests effectués dans trois laboratoires supplémentaires, sur les plus prometteurs et sur un panel variétal élargi, ont permis d'identifier trois nouveaux marqueurs susceptibles d'être utilisés à plus grande échelle. Ces derniers, employés pour décrire le même lot de 400 variétés utilisé dans les premières phases du projet, ont permis d'obtenir 1 200 nouveaux profils caractérisant précisément la diversité observable. Cela a donc permis de valider que les nouveaux appareils automatisés pourraient être utilisés dans le processus d'identification des variétés de pommes de terre. Néanmoins, avant d'envisager le remplacement de la méthode officielle, plusieurs

- **Nom:** IdEvol, Identification des variétés de pomme de terre par marqueurs microsatellites en appui à la certification des plants

- **Financement:** ministère de l'Agriculture et de l'alimentation dans le cadre de l'Appui méthodologique à la section pommes de terre du CTPS

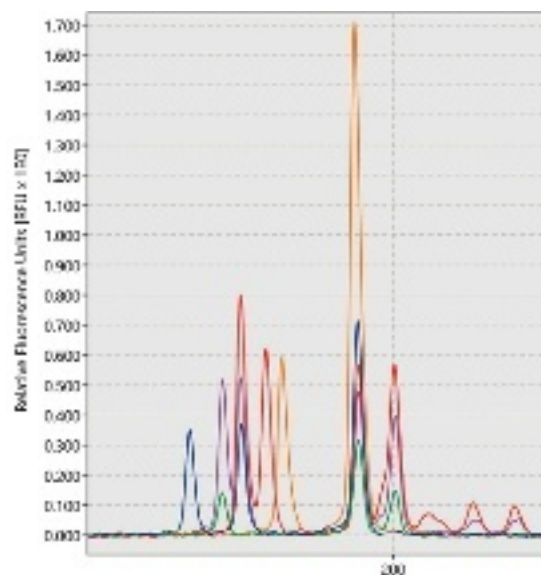
- **Coordination:** FN3PT/Inov3PT, en partenariat avec

le Comité Nord, Bretagne Plants, le Comité Centre et Sud, le Service commun des laboratoires et l'Inrae, avec la participation d'experts du Geves et de SEMAE aux comités de pilotage

- **Coût total (hors salaires publics):** 289 582 €, pour une subvention demandée de 58 885 €

- **Objectifs:** réduire les temps d'analyse, l'exposition du personnel de laboratoire aux produits nocifs et le coût des traitements des déchets grâce à l'utilisation d'une nouvelle technologie d'analyse semi-automatique

- **Déroulement:** trente-six mois à partir du 01/01/2019; le projet a bénéficié d'un report de six mois accordé par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation en raison de la pandémie de Covid-19



Les cinq courbes de couleurs différentes représentent chacune le profil moléculaire d'une variété de pomme de terre. Ils ont été obtenus à partir de l'un des nouveaux marqueurs identifiés durant le projet IdEvol.

points supplémentaires doivent être précisés. Le multiplexage des marqueurs, c'est-à-dire leur amplification au minimum deux par deux, pourrait optimiser le temps d'analyse et réduire les coûts. Avant de monter le dossier de validation nécessaire à l'officialisation de la procédure, un essai inter-laboratoire interne contrôlera la détermination de l'identité de huit à douze variétés à partir d'ADN anonymisés. /

SYLVIE MARHADOUR, Inov3PT

POUR EN SAVOIR +

<http://plantdepomme.de.terre.org/index/identification-varietale-ideale-et-projet-idevol>

