



Disclaimer: unless otherwise agreed by the Council of UPOV, only documents that have been adopted by the Council of UPOV and that have not been superseded can represent UPOV policies or guidance.

This document has been scanned from a paper copy and may have some discrepancies from the original document.

Avertissement: sauf si le Conseil de l'UPOV en décide autrement, seuls les documents adoptés par le Conseil de l'UPOV n'ayant pas été remplacés peuvent représenter les principes ou les orientations de l'UPOV.

Ce document a été numérisé à partir d'une copie papier et peut contenir des différences avec le document original.

Allgemeiner Haftungsausschluß: Sofern nicht anders vom Rat der UPOV vereinbart, geben nur Dokumente, die vom Rat der UPOV angenommen und nicht ersetzt wurden, Grundsätze oder eine Anleitung der UPOV wieder.

Dieses Dokument wurde von einer Papierkopie gescannt und könnte Abweichungen vom Originaldokument aufweisen.

Descargo de responsabilidad: salvo que el Consejo de la UPOV decida de otro modo, solo se considerarán documentos de políticas u orientaciones de la UPOV los que hayan sido aprobados por el Consejo de la UPOV y no hayan sido reemplazados.

Este documento ha sido escaneado a partir de una copia en papel y puede que existan divergencias en relación con el documento original.



TC/28/4

ORIGINAL: anglais

0135

DATE: 26 septembre 1992

UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES

GENÈVE

COMITE TECHNIQUE

**Vingt-huitième session
Genève, 21 - 23 octobre 1992**

DETERMINATION DE LA DISTINCTION, DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE
DES VARIETES PAR DES TECHNIQUES D'ETABLISSEMENT DE PROFILS D'ADN

Document établi par des experts de l'Australie

0136

DETERMINATION DE LA DISTINCTION, DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE
DES VARIETES PAR DES TECHNIQUES D'ETABLISSEMENT DE PROFILS D'ADN

Document établi par l'Australie

Lloyd, H.L., Plant Variety Rights Office, Canberra
Appels, R; Preston, L.R; Morell, M.K. & Buller, C.D.S., Cooperative Research
Centre for Plant Science, Australian National University, Canberra
Armitage, P.J., Intellectual Property Group, Blake Dawson Waldron, Sydney

I. Introduction

1. En élaborant et en adoptant à un moment opportun l'Acte de 1991 de la Convention UPOV, les Etats membres et le Bureau de l'Union internationale pour la protection des obtentions végétales (ci-après dénommée "union") ont fait preuve à la fois de clairvoyance et d'adaptabilité face aux progrès de la biotechnologie.

2. S'il est vrai que les perfectionnements techniques et juridiques de la protection variétale qui ont été incorporés dans l'Acte de 1991 sont le fruit du travail des comités de l'UPOV à tous les niveaux, le Comité technique s'est révélé particulièrement efficace pour ce qui est de coordonner l'adoption de techniques nouvelles dans les Etats membres.

3. Ce rôle efficace de coordonnateur joué par le Comité technique s'est manifesté nettement, par exemple, en ce qui concerne la mesure électronique de la couleur et l'électrophorèse des protéines pour la détermination de la distinction.

4. Le Comité technique s'est aussi intéressé, dans un cadre préliminaire, aux caractéristiques de l'ADN en tant que facteurs déterminants dans la distinction des variétés (TC/27/9).

5. Le présent document a pour objet :

- a) d'examiner brièvement la nature de l'analyse fondée sur l'ADN, les progrès accomplis dans ce domaine et l'application de ce type d'analyse à la caractérisation des variétés,
- b) d'étudier le rôle complémentaire de l'analyse fondée sur l'ADN dans l'examen de la distinction;
- c) de déterminer la validité d'un recours aux caractéristiques des profils d'ADN pour l'établissement de la distinction d'une variété selon l'Acte de 1991 de la Convention, et
- d) de soumettre au Comité technique des recommandations visant à accélérer l'adoption de l'analyse fondée sur l'ADN pour la caractérisation des variétés dans le cadre de l'union.

II. Analyse fondée sur l'ADN et caractérisation des variétés

6. La caractérisation moléculaire a donné naissance à toute une gamme d'outils potentiellement utilisables dans l'identification des variétés végétales. Au nombre de ces techniques, celles des images visuelles fondées sur les caractéristiques de l'ADN, souvent désignées sous l'expression "profils d'ADN", semblent présenter un intérêt particulier pour ce qui est de déterminer la distinction des variétés.

Etablissement des profils d'ADN

7. On entend par profil d'ADN (ou "empreinte" d'ADN) un produit visuel issu d'une analyse de certaines parties de la molécule d'ADN. Ce profil d'ADN se présente un peu comme un "code à barres" ou une empreinte digitale humaine dans la mesure où il constitue une combinaison unique de caractéristiques permettant d'identifier le produit ou l'individu soumis à l'analyse; il est cependant sans relation avec l'apparence (la description) ou les qualités de ce produit ou de cet individu.

8. On recense actuellement deux grandes techniques d'établissement du profil de l'ADN qui présentent de l'intérêt sur le plan de la caractérisation variétale : le polymorphisme de la longueur des fragments de restriction (RFLP) et l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) (voir l'annexe 1). L'analyse RFLP donne des renseignements limités sur le génotype. L'analyse RAPD repose, quant à elle, sur l'expression in vitro de certaines régions polymorphes de la molécule d'ADN. Elle ne donne pas de renseignements sur le génotype, ni ne constitue une analyse du génotype proprement dit. Les techniques fondées sur l'ADN permettent l'analyse de toute région du génome qui présente un polymorphisme (c'est-à-dire, le plus souvent, une région non codante de la molécule d'ADN). On trouvera, dans les paragraphes 15 à 20 ci-après, des détails sur les procédures analytiques concernant la RAPD et la RFLP.

Avantages de l'établissement des profils d'ADN par rapport à d'autres techniques moléculaires

9. Contrairement à toutes les autres molécules, dont la nature et la présence quantitative sont plus ou moins influencées par l'environnement, la latitude ou le stade de développement de la plante, la structure de l'ADN (sur laquelle reposent les techniques d'établissement des profils d'ADN) n'est pas susceptible de subir les effets du climat ou des autres facteurs précités.

10. Les techniques fondées sur les protéines, dans lesquelles intervient l'analyse isoenzymatique, ne permettent d'examiner qu'une faible partie du génome qui code une série bien déterminée de protéines solubles et, dans l'ensemble, non hétérogènes. Au contraire, les techniques d'établissement des profils d'ADN analysent toute région de la molécule d'ADN qui présente un polymorphisme (c'est-à-dire, le plus souvent, une région non codante de la molécule d'ADN).

11. Les configurations obtenues par l'électrophorèse des protéines de réserve sont très détaillées et donnent lieu à un grand nombre de bandes qui se recoupent, ce qui rend l'interprétation de l'image sur gel à la fois complexe et difficile à exploiter aux fins d'une analyse automatisée.

0138

12. En principe, l'analyse isoenzymatique nécessite la mise en oeuvre de plusieurs procédures enzymatiques différentes pour aboutir à l'établissement d'une "empreinte". Ces procédures diffèrent aussi fréquemment en fonction des tissus et des espèces. Avec la RAPD, en revanche, il n'existe qu'une seule procédure analytique standard quels que soient les tissus et les espèces. Cette technique standard est utilisée à l'échelle universelle et seul le "fragment d'amorce" subit une modification pour accroître le pouvoir résolvant de l'analyse. La quantité de produits chimiques nécessaire, de même que les conditions à normaliser et le risque d'erreur de manipulation s'en trouvent diminués, sans compter que l'automatisation est elle-même simplifiée.

13. Dans le passé, les techniques d'analyse de l'ADN étaient plus coûteuses que celles des protéines, mais avec l'arrivée de la RAPD, en 1990, le coût unitaire est devenu comparable. L'automatisation de l'établissement des profils d'ADN réduira encore ce coût, et il est probable que le nombre d'exams d'ADN requis aux fins de la caractérisation des variétés sera moins élevé.

14. Contrairement à ce qui se produit avec les caractéristiques fondées sur l'ADN, les métabolites secondaires (composants phénoliques, pigments, lipides, etc.), qui sont des produits issus d'une série complexe de réactions biochimiques, sont en général fortement influencés par l'environnement, l'état nutritionnel, la latitude et le stade de développement des plantes. Ils n'offrent donc aucun avantage particulier aux fins de la caractérisation des variétés.

Comparaison des analyses RAPD et RFLP

15. Le tableau ci-après contient une comparaison des caractéristiques de la RAPD et de la RFLP pour ce qui a trait à l'utilisation éventuelle de ces deux techniques aux fins de la caractérisation des variétés.

| PROPRIETE | RFLP | RAPD |
|--------------------------------|---|--|
| Application | toutes espèces | toutes espèces |
| Détection de variant allèlique | oui | non |
| Nbre de locus détectés | 1 à 3 | 1 à 10 |
| Génome examiné | régions à faible nombre de copies | génome intégral |
| Qualité d'ADN | pure | brute |
| Quantité d'ADN | 2 à 10 microgrammes | 10 à 50 nanogrammes |
| Utilisation de radioisotopes | oui | non |
| Type de sonde (amorce) | ADN ou ADNc à faible nombre de copies propre à l'espèce | 9 à 10 amorces oligonucléotidiques à séquence arbitraire |
| Difficulté de la technique | moyenne | faible |
| Temps d'analyse | 3 à 6 jours | 1 jour (automatique) 2 jours (manuelle) |
| Information préalable | séquençage de l'ADN de l'espèce | aucune |

On trouvera à l'annexe 1 une description schématisée des techniques de RAPD et de RFLP.

Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD)

16. La RAPD a vu le jour en 1990. Techniquement simple à réaliser et facile à automatiser, elle ne nécessite que de faibles quantités d'ADN (de l'ordre du nanogramme). Contrairement à la RFLP, elle n'exige pas l'utilisation d'amorces propres à l'espèce, de sondes radioactives, de banques d'ADNc ou d'hybridations de Southern sur ce type d'ADN, de même qu'elle n'est pas tributaire d'un clonage ou d'un séquençage préalable de l'ADN de l'espèce.

17. **Méthode :** La RAPD repose sur le fait que de courtes amorces oligonucléotidiques à séquence arbitraire sont incubées avec de l'ADN génomique végétal et peuvent ainsi se combiner (s'hybrider). Les amorces établissent des liaisons avec de nombreux sites différents (locus) sur le génome et peuvent ainsi se répliquer depuis ces points d'hybridation, dans une réaction cyclique thermique dénommée "réaction en chaîne de la polymérase" ou PCR, produisant ainsi des longueurs variables d'ADN selon le degré de proximité de deux amorces sur des brins d'ADN opposés.

18. Le processus peut se poursuivre pendant un certain nombre de réplifications afin que les fragments créés soient en quantité suffisante pour être visualisés sur du gel d'agarose ou de polyacrylamide. Pour la plupart des plantes, les amorces ayant une longueur de 9 à 10 nucléotides généreront chacune de 2 à 10 produits d'amplification (bandes). La création de ces fragments d'ADN est entièrement renouvelable.

19. Les produits sont facilement séparés selon les techniques d'électrophorèse habituelles, puis visualisés sous éclairage ultra-violet à la suite d'une coloration au bromure d'éthidium. Les gels de polyacrylamide peuvent aussi être utilisés en association avec la coloration à l'argent de l'ADN, pour accroître la résolution et la détection de fragments moins amplifiés.

20. En règle générale, les différents produits d'amplification représentent un allèle par locus et sont transmis en tant que marqueurs dominants. Une faible partie de la variation du profil de RAPD peut être due à la variation de la séquence d'ADN, soit par insertion soit par suppression, mais cela ne constitue pas un problème majeur dans l'analyse du profil d'ADN.

21. **Echantillonnage : quels tissus? Combien d'échantillons?** Le tissu le plus fréquemment utilisé est celui de la jeune feuille ou du jeune tubercule en plein développement, mais des recherches sont en cours en ce qui concerne d'autres tissus. L'analyse peut s'effectuer sur moins d'un gramme de matériel végétal.

22. Il est nécessaire d'établir et de normaliser le nombre d'échantillons, le mode de prélèvement de ces derniers ainsi que le nombre de locus par échantillon pour les différentes espèces à examiner aux fins d'une caractérisation variétale.

23. **Automatisation et instrumentation :** La RAPD se prête à l'automatisation, d'où une réduction des erreurs de manipulation et du temps d'analyse en laboratoire ainsi qu'un accroissement du rendement, avec les réductions de coûts que cela suppose. L'automatisation réduit aussi la variation des résultats entre laboratoires. L'automatisation de la RAPD peut conduire à l'établissement de fichiers informatiques d'empreintes d'ADN variétal et au stockage centralisé des données dans ce domaine.

0140

Deux producteurs d'instruments scientifiques proposent aujourd'hui des progiciels pour l'analyse automatisée des profils de RAPD. Il s'agit de :

Applied Biosystems International, qui propose le 373 DNA Sequencer utilisant un logiciel 'Genescan 672', et

Pharmacia LKB Biotechnology, qui propose l'ALF DNA Sequencer utilisant un logiciel 'Fragment Manager'.

24. Ces programmes et instruments ne sont pas interchangeables, aussi les résultats obtenus avec ces deux systèmes ne sont-ils pas directement comparables. Si l'UPOV accepte la RAPD et l'analyse automatisée des profils en tant que méthode d'établissement de la distinction entre les variétés végétales, il est impératif que l'instrumentation soit normalisée dès que possible aux fins de compatibilité, à l'échelon national et international, des bases de données sur les profils d'ADN.

25. Le tableau ci-après indique le coût estimatif* (en dollars australiens, investissement non compris) de l'analyse RAPD automatisée et manuelle :

| ELEMENT DE COUT | RAPD AUTOMATISEE | RAPD MANUELLE |
|---|------------------|---------------|
| Amorces | 0,57 | 0,32 |
| Polymérase Taq | 0,57 | 0,57 |
| Tampons/dNTP | 0,26 | 0,26 |
| Etalons dimensionnels | 0,37 | 0,32 |
| Gel | 0,11** | 0,27*** |
| Coût du réactif par locus | 1,87 | 1,74 |
| Coût de main d'oeuvre par locus (15 dollars/h) | 0,11 | > 0,33 |
| Durée | 1 jour | 1 à 2 jours |
| Stockage des données | automatique | manuel |

* calculé sur la base de 10 à 15 locus nécessaires à l'identification

** calculé sur la base d'un chargement de 72 échantillons par gel

*** calculé sur la base d'une utilisation de gels d'agarose, avec chargement de 14 échantillons par gel et d'un étalon dimensionnel.

Application de la RAPD à la caractérisation variétale

26. **Stockage, transmission et évaluation des profils issus de la RAPD :** Les données issues d'une évaluation automatisée des profils de RAPD peuvent être stockées automatiquement, sous forme de chromatogrammes (position du pic et zone) ou sous forme de tableaux de tailles de fragments ou de diagrammes de fragments (images sur gel).

27. Les profils de RAPD stockés par des moyens électroniques peuvent être transmis sur des supports courants tels que modem, disquette ou disque compact, et des progiciels peuvent être mis au point aux fins de comparaison électronique, dans une même base de données, de profils variétaux et de profils de RAPD.

28. L'"ADN de référence" d'une variété peut être stocké de manière permanente ou transporté en vue d'une RAPD ultérieure, ou encore être utilisé dans d'autres techniques de caractérisation variétale fondées sur l'ADN qui pourront être mises au point à l'avenir.

*N.B. 1 dollar australien = Frs.s 0,96 = US\$ 0,74
(taux d'échange du 92.09.29)

29. **Quantification et analyse par groupe** : L'incidence analytique de la présence ou de l'absence d'une bande sur une image de gel a toujours constitué un problème lorsqu'il s'est agi de recourir à des techniques moléculaires pour la caractérisation variétale. L'application de l'analyse par groupe ("cluster analysis") des bandes à des emplacements déterminés, associée à un écart minimum empirique défini (pourcentage de similitude), permet de traiter la question de savoir ce qui compose une variété. La méthode envisagée de notation des données de RAPD, ainsi que la construction de matrices de similitude et de cladogrammes de similitude sont brièvement abordées à l'annexe 2.

30. Il est possible d'améliorer les preuves statistiques en augmentant le nombre d'amorces analysées. On peut s'attendre que 40 à 80% d'amorces aléatoires donneront des marqueurs polymorphes.

31. Les techniques d'établissement de profils d'ADN s'appliquent le mieux à des plantes hautement hétérozygotes, non endogames et à multiplication asexuée, dans lesquelles le nombre d'amorces requis pour démontrer l'unicité est minime. Les variétés de ce groupe d'espèces sont précisément celles pour lesquelles les demandes de droit d'obtenteur sont courantes.

Application de la RAPD à l'examen DHS

43. **Distinction** : Le profil ou "empreinte" de RAPD d'une variété est analogue à l'empreinte digitale humaine dans la mesure où il constitue une caractéristique distinctive unique de l'individu (ou de la variété). Plus le nombre d'amorces augmente, plus la résolution de la RAPD est grande. Les résultats de cette RAPD sont quantifiables, à condition que l'analyse statistique et le calcul des "écarts minimums" puissent reposer sur des pourcentages établis à partir de matrices de similitude (annexe 2).

33. La RAPD peut être normalisée et automatisée, et les profils peuvent être stockés et évalués par des moyens électroniques. De plus, les matrices d'ADN ne sont pas influencées par le climat, l'environnement, la latitude ou le stade de développement de la plante, de sorte que pour établir la distinction il suffit de comparer un profil RAPD de la variété à l'examen avec des profils stockés des variétés les plus proches.

34. Les profils RAPD de variétés notoirement connues peuvent être stockés dans des bases de données centrales, mis à jour périodiquement et transmis sur disque compact ROM, de même que les profils de variétés proposées peuvent être comparés avec ceux de variétés notoirement connues enregistrés dans une base de données internationale sur les profils.

35. Si nécessaire, une "séquence d'ADN de référence" extraite peut être stockée indéfiniment et transportée en toute facilité entre des Etats membres.

36. L'homogénéité et la stabilité d'une variété peuvent être facilement établies en déterminant par la RAPD le profil d'un certain nombre de plantes et de générations. Il sera nécessaire de fixer les tolérances en matière de variation (individus "hors types") pour les profils dépendants des modes de multiplication et de pollinisation.

0142

III. Rôle complémentaire de la RAPD et des critères morphologiques et physiques dans l'identification variétale

37. Bien que la RAPD puisse constituer un moyen objectif d'établir la distinction des variétés, le profil de RAPD n'apporte, en soi, aucune information descriptive. Or, la description fondée sur les caractères visuels (morphologiques et physiques) présente une importance concrète sur le plan de la commercialisation, de même qu'elle ramène à un minimum les possibilités d'atteinte non intentionnelle à des droits d'obtenteur.

38. Il n'est donc pas envisagé que la délivrance de droits d'obtenteur repose uniquement sur des profils de RAPD comparatifs, mais que les caractères descriptifs (et éventuellement les données comportementales) issus des principes directeurs d'examen de l'UPOV complètent ces profils aux fins de classement.

39. Il peut aussi s'avérer approprié que les profils de RAPD complètent les données comportementales concernant les cultivars, aux fins d'enregistrement de ces derniers.

IV. Validité des caractéristiques de l'ADN en tant que critères de distinction selon l'Acte de 1991 de la Convention

40. L'article 1.vi), l'article 7 et l'article 14.5)b) de l'Acte de 1991 de la Convention UPOV sont pertinents pour une étude de la validité du recours aux procédures d'examen moléculaire pour les offices d'Etats membres qui délivrent des droits d'obtenteur.

41. L'article 1.vi) contient la définition du mot "variété", laquelle doit être un ensemble végétal

"- défini par l'expression des caractères résultant d'un certain génotype ou d'une certaine combinaison de génotypes,

- distingué de tout autre ensemble végétal par l'expression d'au moins un desdits caractères..."

42. Quelques doutes ont été exprimés (voir le document TC/27/9) au sujet de la validité des profils d'ADN en tant que déterminants variétaux selon la définition du mot "variété" prévue à l'article 1.vi) précité.

43. La RAPD aboutit à une combinaison unique de caractéristiques permettant d'identifier une variété, mais un profil de RAPD reste sans relation avec l'apparence (description) ou le comportement de cette variété. Un profil de RAPD est une expression de la structure physique de régions polymorphes de la molécule d'ADN et il ne constitue pas une représentation du génotype sous forme d'image.

44. Un profil de RAPD est une combinaison de caractéristiques dérivée des produits de réplication de régions amorcées de l'ADN polymorphe. Il est donc possible d'établir la distinction en comparant les profils de RAPD de deux variétés ou plus.

45. L'expression de régions d'ADN sélectives ou amorcées qui résulte des profils d'ADN constitue une analogie directe des caractères morphologiques exprimés par une plante.

46. L'article 7 énonce les exigences pour qu'une variété soit distincte. Il est possible de satisfaire à l'exigence selon laquelle la variété doit "se distinguer nettement" de toute autre variété en appliquant des méthodes moléculaires telles que l'analyse RFLP ou l'analyse RAPD, qui mettent en évidence des expressions uniques de génotypes variétaux.

47. Lorsque les techniques moléculaires ne permettent pas de satisfaire entièrement à l'exigence de distinction, un office national délivrant des droits d'obtenteur peut compléter les critères moléculaires par des examens morphologiques comparatifs fondés sur les principes directeurs d'examen DHS approuvés par l'UPOV.

48. Si les Etats membres de l'UPOV acceptent qu'une forme normalisée d'analyse et d'évaluation RAPD puisse être utilisée aux fins de vérification de la distinction, les offices nationaux pourront toujours user de leur pouvoir discrétionnaire en appliquant cette nouvelle technique en fonction de leurs priorités nationales individuelles.

49. L'article 14.5)b) définit une variété essentiellement dérivée comme une variété conservant les caractères essentiels de la variété initiale, qui sont une expression du génotype. La possibilité, offerte par les techniques fondées sur l'ADN, de déterminer de manière très détaillée la similitude des variétés sur la base de la molécule d'ADN, rend ces dernières adéquates pour ce qui est d'établir s'il est satisfait à l'exigence de "variété essentiellement dérivée".

50. En cas de différend relatif à la notion de variété essentiellement dérivée, la tâche des tribunaux se trouverait simplifiée dès lors que le recours aux techniques relatives à l'ADN éviterait d'avoir à fournir des preuves concernant l'origine des variétés en cause et la genèse de leur obtention.

51. En conclusion, l'Acte de 1991 de la Convention internationale pour la protection des obtentions végétales ne constitue nullement un obstacle à l'acceptation, par les autorités compétentes des Etats membres, du recours à la technique d'établissement de profils de RAPD pour la détermination de la distinction entre les variétés.

V. Recommandations

52. Il est recommandé au Comité technique

- a) d'accepter l'établissement des profils de RAPD comme méthode de détermination de la distinction entre les variétés;
- b) de recommander au Conseil la création d'un sous-groupe chargé de coordonner la mise au point et l'adoption, par les Etats membres de l'Union, de l'analyse RAPD aux fins de la caractérisation des variétés;
- c) de coordonner la caractérisation des profils de RAPD avec les organismes des Etats membres chargés de l'enregistrement des cultivars et de la protection des variétés.

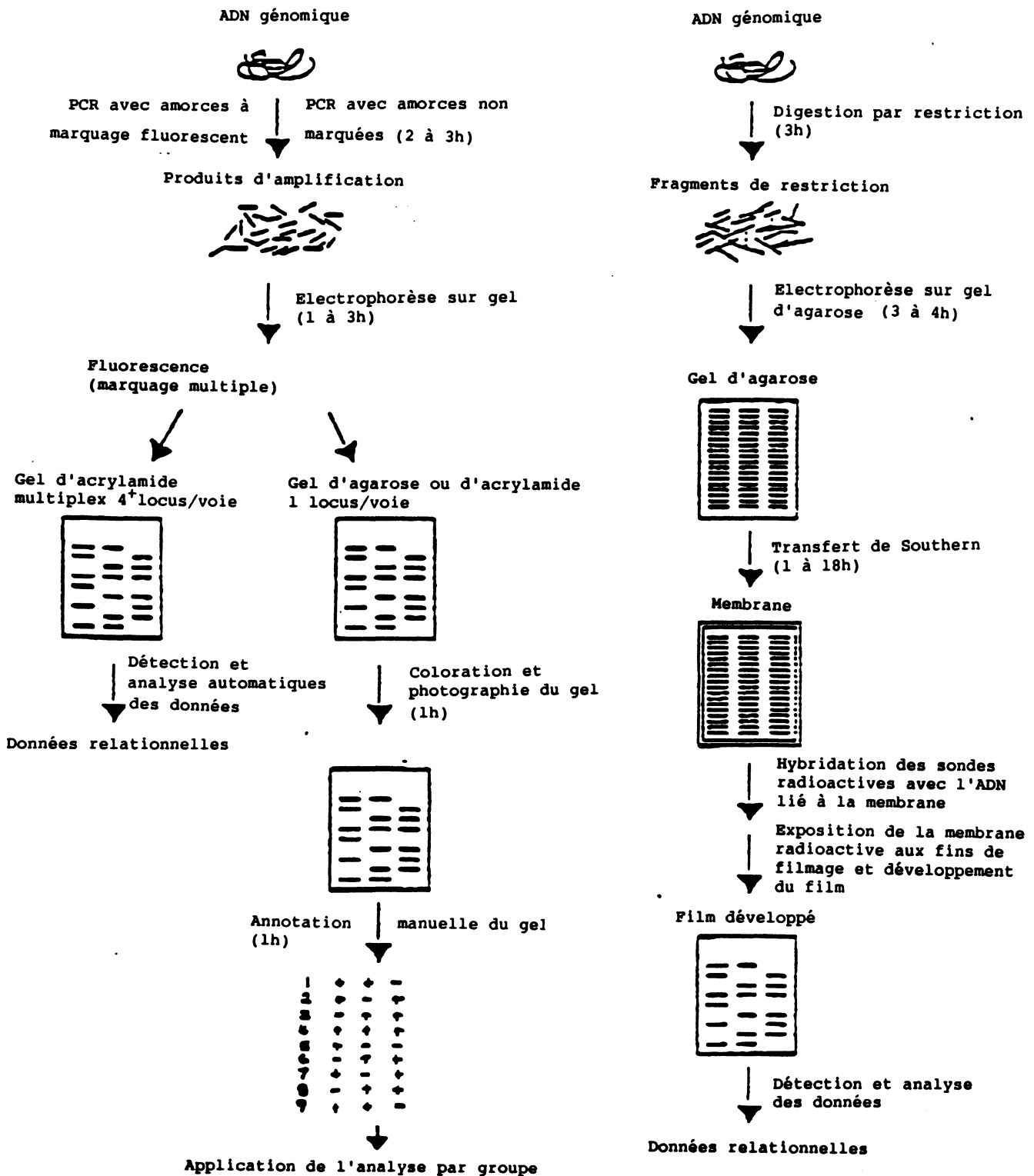
Le présent document comporte trois annexes.

Schémas descriptifs des techniques d'établissement des profils d'ADN

RAPD contre RFLP

Amplification aléatoire d'ADN polymorphe

Polymorphisme de la longueur des fragments de restriction



Temps total : 1 jour

Temps total : 1 à 2 jours

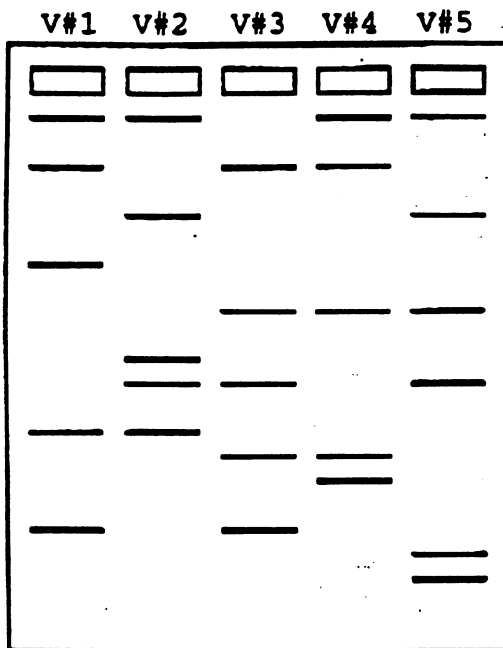
Temps total : 3 à 6 jours

Exemples de profils de RAPD

L'analyse statistique par groupe la plus appropriée est l'analyse cladistique, qui vise uniquement à déterminer la similitude ou la parenté, et non à définir l'ascendance. Cette analyse comporte trois étapes : la notation des données brutes, la formation d'une matrice de similitude et l'établissement d'un cladogramme.

Les données brutes concernent la présence ou l'absence de bandes d'ADN (locus) sur un gel d'électrophorèse. La présence d'une bande est notée à l'aide d'un signe + et l'absence à l'aide d'un signe -. Les résultats de toutes les amorces utilisées sont combinés puis intégrés dans une matrice de similitude où la parenté est exprimée sous forme de pourcentage. Cette parenté peut ensuite être exprimée sous forme graphique.

Profil sur gel des fragments de RAPD pour l'amorce # 1



Notation des données brutes résultant de l'amorce #1

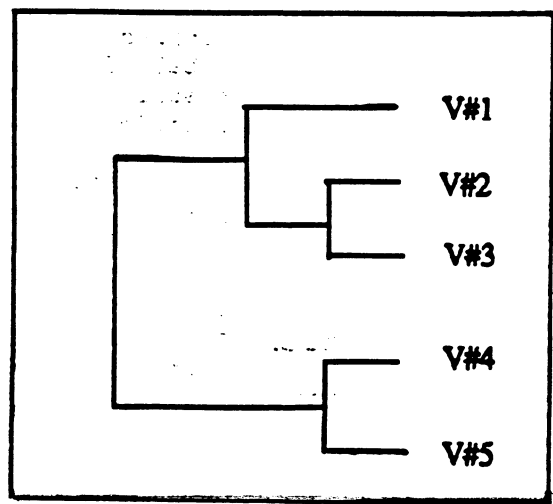
| Amorce #1 | V#1 | V#2 | V#3 | V#4 | V#5 |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Position#1 | + | + | - | + | + |
| Position#2 | + | - | + | + | - |
| Position#3 | - | + | - | - | + |
| Position#4 | + | - | - | - | - |
| Position#5 | - | - | + | + | + |
| Position#6 | - | + | - | - | - |
| Position#7 | - | + | + | - | + |
| Position#8 | + | + | - | - | - |
| Position#9 | - | - | + | + | - |
| Position#10 | - | - | - | + | - |
| Position#11 | + | - | + | - | - |
| Position#12 | - | - | - | - | + |
| Position#13 | - | - | - | - | + |

0146

Matrice de similitude des données brutes combinées issues des amorces

| | Variété#1 | Variété#2 | Variété#3 | Variété#4 | Variété#5 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Variété#1 | 100% | | | | |
| Variété#2 | 82% | 100% | | | |
| Variété#3 | 46% | 55% | 100% | | |
| Variété#4 | 12% | 26% | 83% | 100% | |
| Variété#5 | 75% | 12% | 30% | 27% | 100% |

Cladogramme de la matrice de similitude



Glossaire

| | |
|-------------------------|---|
| ADN | Acide désoxyribonucléique. Vecteur de l'information génétique dans les cellules, composé de deux chaînes complémentaires de nucléotides enroulées sous une forme hélicoidale; capable d'autoréplication et de codage aux fins de synthèse de l'ARN. |
| ADN mini-satellite | Petites séquences répétées d'ADN dans les régions non codantes des génomes. |
| Alleles | Formes différentes d'un gène. |
| Amorces | Courts fragments d'acides nucléiques qui établissent des liaisons avec le génome à des locus déterminés par leur séquence et qui servent de point de départ pour la réplication de l'acide nucléique. |
| Autoradiographie | Visualisation de la radioactivité par exposition à un film à rayons X. |
| Clonage | Insertion d'une longueur d'ADN dans un plasmide bactérien porteur de sites à enzymes de restriction compatibles. |
| Codage | Régions du génome qui sont transcrites en ARN (formation d'un produit protéique). |
| Electrophorèse | Séparation par chargement d'acide nucléique ou de protéine dans une structure gélique. |
| Enzymes de restriction | Enzymes qui clivent la double hélice d'ADN à des séquences nucléotidiques déterminées. |
| Génome | Jeu complet de chromosomes (ADN) et de gènes qui leur sont associés. |
| Hybridation | Liaison de fragments d'acides nucléiques à des régions compatibles du génome. |
| Hybridation de Southern | Processus d'hybridation de sondes d'ADN avec de l'ADN lié à un support membraneux. |
| Locus | Emplacement(s) déterminé(s) de l'ADN génomique. |
| Marqueurs | Courts fragments d'ADN liés au génome à des emplacements déterminés par leur séquence. |
| Non codantes | Parties du génome qui ne codent pas aux fins d'ARN ou de produits protéiques. |

| | |
|-----------------------------|---|
| Nucléotides | Unité fondamentale des acides nucléiques. Il en existe 5 types : la Guanine, l'Adénosine, la Cytosine, la Thymines et l'Uracile. La Thymines se trouve uniquement dans l'ADN et elle est remplacée par l'Uracile dans l'ARN. |
| Oligonucléotides | Longueurs d'acides nucléiques. |
| PCR | Abréviation de Polymerase Chain Reaction, qui signifie "réaction en chaîne de la polymérase". Les amorces oligonucléotidiques sont incubées avec de l'ADN génomique et peuvent ainsi s'hybrider. Elles établissent des liaisons en de nombreux locus différents et se répliquent ensuite à partir de ces points d'hybridation en produisant des longueurs variables d'ADN selon le degré de proximité de deux de ces amorces sur des brins d'ADN opposés. Les fragments produits sont ensuite détachés par élévation de la température, et l'hybridation est renouvelée. Ce processus se poursuit pendant un certain nombre de cycles, afin que les fragments créés soient en quantité suffisante pour être visualisés sur du gel d'agarose ou de polyacrylamide. |
| Polymorphisme | Présence, dans une population, d'au moins deux formes phénotypiquement distinctes d'un trait de caractère. |
| RAPD | Abréviation de Random Amplified Polymorphic DNA, qui signifie "amplification aléatoire d'ADN polymorphe". |
| Réaction cyclique thermique | Voir "PCR" |
| RFLP | Abréviation de Restriction Fragment Length Polymorphism, qui signifie "polymorphisme de la longueur des fragments de restriction". |
| Séquence | Configuration d'acides nucléiques dans les molécules d'ADN. |
| Sondes | Fragments d'acides nucléiques contenant des nucléotides porteurs d'un marquage radioactif, enzymatique ou fluorescent, qui établissent des liaisons avec le génome à des locus déterminés par leur séquence, ce qui permet la visualisation des points d'hybridation. |