

Comité technique

Soixante et unième session
Genève, 20 et 21 octobre 2025

SESSIONS/2025/6

Original : anglais
Date : 30 septembre 2025

Comité administratif et juridique

Quatre-vingt-deuxième session
Genève, 22 octobre 2025

TECHNIQUES MOLÉCULAIRES

Document préparé par le Bureau de l'Union

Avertissement : le présent document ne représente pas les principes ou les orientations de l'UPOV.

Ce document a été généré à l'aide d'une traduction automatique dont l'exactitude ne peut être garantie. Par conséquent, le texte dans la langue originale est la seule version authentique.

RÉSUMÉ

1. Le présent document contient des propositions visant à élaborer des orientations sur les marqueurs moléculaires dans l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité (DHS) et la coopération avec les organisations internationales, comme suit :

- (i) examiner le projet d'orientations sur la manière de valider les marqueurs moléculaires "spécifiques à un caractère" pour l'examen DHS et le modèle standard décrivant leur utilisation pour évaluer les caractères dans les principes directeurs d'examen (voir l'annexe du présent document)
- (ii) inviter la France à coordonner les travaux de l'UPOV visant à harmoniser la terminologie relative aux marqueurs moléculaires avec l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) et l'Association internationale d'essais de semences (ISTA)
- (iii) réaliser une enquête auprès des membres de l'UPOV afin de mettre à jour la liste des marqueurs moléculaires utilisés pour chaque culture
- (iv) coopérer avec l'OCDE et l'ISTA afin d'élaborer des ensembles communs de marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés

2. En ce qui concerne la " confidentialité et la propriété des informations moléculaires », le Comité technique (TC) est invité à prendre note des discussions menées au sein des groupes de travail techniques (TWP) en 2025 et à envisager d'organiser de futures discussions sur la base de cas concrets et de situations spécifiques. Le TC est invité à noter qu'une " Politique relative au statut du matériel végétal soumis à des essais DHS » a été communiquée par l'Union européenne et est disponible [en ligne](#).

3. Les discussions sur les marqueurs moléculaires qui ont eu lieu au sein des groupes de travail techniques depuis les sessions de l'UPOV de 2024 sont rapportées à titre d'information.

4. Les abréviations suivantes sont utilisées dans le présent document :

CAJ :	Comité administratif et juridique
ISTA :	Association internationale d'essais de semences
OCDE :	Organisation de coopération et de développement économiques
TC :	Comité technique
TWA :	Groupe de travail technique pour les cultures agricoles
TWF :	Groupe de travail technique sur les cultures fruitières
TWM :	Groupe de travail technique sur les méthodes et techniques d'essai
TWO :	Groupe de travail technique sur les plantes ornementales et les arbres forestiers
TWPs :	Groupes de travail techniques
TWV :	Groupe de travail technique sur les légumes

5. La structure du présent document est la suivante :

LIGNES DIRECTRICES POUR LA VALIDATION D'UN NOUVEAU PROTOCOLE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES SPÉCIFIQUES À UN CARACTÈRE COMME MÉTHODE ALTERNATIVE D'OBSERVATION.....	3
Contexte.....	3
Évolution au sein des groupes de travail techniques lors de leurs sessions de 2025.....	3
<i>Validation des marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère pour les principes directeurs d'examen.....</i>	3
<i>Marqueurs moléculaires constituant des secrets commerciaux.....</i>	4
<i>Protocole standard pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère dans les principes directeurs d'examen.....</i>	4
<i>Caractères obtenus à l'aide de nouvelles techniques de sélection.....</i>	4
Proposition.....	4
CONFIDENTIALITÉ ET PROPRIÉTÉ DES INFORMATIONS MOLÉCULAIRES.....	4
Contexte.....	4
<i>Orientations existantes.....</i>	5
Évolution des travaux des groupes de travail techniques lors de leurs sessions de 2025.....	5
COOPÉRATION ENTRE ORGANISATIONS INTERNATIONALES.....	7
Contexte.....	7
Harmonisation des termes, définitions et méthodes entre l'UPOV, l'OCDE et l'ISTA.....	7
Mise à jour de la liste des marqueurs moléculaires utilisés par culture.....	7
Ensembles communs de marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés.....	8
<i>Analyse prospective.....</i>	8
<i>Faits nouveaux au sein du Groupe de travail technique sur les méthodes et techniques d'examen.....</i>	8
Informations sur l'utilisation des techniques moléculaires dans chaque organisation : possibilité d'une réunion conjointe.....	8
QUESTIONS POUR INFORMATION.....	9
Derniers développements en matière de techniques moléculaires et de bio-informatique.....	9
<i>Activités de science des données au Naktuinbouw en vue du génotypage et du phénotypage : mise à jour.....</i>	9
Coopération entre organisations internationales.....	9
ISTA.....	9
OCDE.....	9
Compte rendu sur les travaux relatifs aux techniques moléculaires dans le cadre de l'examen DHS.....	9
<i>Derniers développements en matière de marqueurs moléculaires spécifiques à certains caractères au Naktuinbouw : appel à l'échange de connaissances.....</i>	9
<i>Utilisation de la technologie biomoléculaire dans l'examen DHS - étude de cas sur l'orge.....</i>	10
<i>Intelligence artificielle et marqueurs moléculaires dans les fruits rouges : une validation de principe.....</i>	10
<i>Une meilleure compréhension de l'architecture génétique des caractères DHS du blé peut-elle contribuer à rationaliser les processus DHS ?.....</i>	10
<i>Prédiction génomique pour la gestion des collections variétales de blé.....</i>	10
<i>Critère de distinction amélioré COYD-GP pour les plantes agricoles à pollinisation croisée.....</i>	10
<i>Activités de recherche-développement de l'Office communautaire des variétés végétales (OCVV).....</i>	11
Méthodes d'analyse des données moléculaires, gestion des bases de données et échange de données et de matériel.....	11
<i>Exploitation des marqueurs de polymorphismes haplotypes des cultures pour l'identification généalogique.....</i>	11
<i>PAD – un algorithme de détection des descendants et des ancêtres basé sur les profils génétiques.....</i>	11
<i>DurdusTools : état actuel et utilisation dans l'examen DHS.....</i>	11
<i>Mise au point d'outils de phénotypage DHS pour et avec les services d'examen : expérience acquise.....</i>	11
<i>Concept de phénotypage pour renforcer la chaîne de protection des obtentions végétales grâce à l'utilisation combinée de l'IA&AI.....</i>	12
<i>Utilisation des bases de données ADN à Naktuinbouw pour améliorer les travaux DHS.....</i>	12
<i>Base de données moléculaires partagée.....</i>	12
Utilisation des techniques moléculaires dans l'évaluation de la dérivation essentielle.....	12
<i>Exploration des techniques d'identification fondées sur les marqueurs SNP pour les variétés de blé essentiellement dérivées.....</i>	12
<i>Élaboration d'un seuil pour les variétés essentiellement dérivées (VED) dans le soja.....</i>	12
Utilisation des techniques moléculaires pour l'application de la loi.....	13
<i>Utilisation des techniques ADN pour l'application des droits de variété végétale au Pérou.....</i>	13
<i>Utilisation des marqueurs moléculaires comme outil pour faire respecter les droits de variété végétale (PBR) sur le soja en Uruguay.....</i>	13
ANNEXE : Lignes directrices pour la validation d'un nouveau protocole de marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère pour l'examen DHS en tant que méthode alternative d'observation	

LIGNES DIRECTRICES POUR LA VALIDATION D'UN NOUVEAU PROTOCOLE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES SPÉCIFIQUES À UN CARACTÈRE COMME MÉTHODE ALTERNATIVE D'OBSERVATION

Contexte

6. Le TC¹, à sa soixantième session, est convenu de demander aux TWP, lors de leurs sessions de 2025, d'examiner la proposition de directives pour la validation d'un nouveau protocole de marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère pour l'examen DHS.

Évolution au sein des groupes de travail techniques lors de leurs sessions de 2025

7. À leurs sessions de 2025, le TWO², le TWM³, le TWV⁴, le TWA⁵ et le TWF⁶ ont examiné le document TWP/9/4 et les directives proposées pour la validation des méthodes d'évaluation des marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère pour l'examen DHS, présentées par des experts des Pays-Bas (Royaume des).

Validation des marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère pour les principes directeurs d'examen.

8. Le TWO a noté que les principes directeurs proposés seraient appliqués pour valider les marqueurs moléculaires proposés comme méthodes alternatives pour l'évaluation des caractères individuels dans les principes directeurs d'examen.

9. Le TWM a noté que la procédure proposée concernait une procédure possible pour la validation des marqueurs moléculaires et est convenu que les marqueurs moléculaires pouvaient être validés par leur publication dans des revues à comité de lecture.

10. Le TWA a noté que les orientations proposées rendaient compte des expériences de la France, de l'Italie et des Pays-Bas (Royaume des) dans la validation de marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère comme méthodes alternatives pour l'évaluation des caractères dans les principes directeurs d'examen. Le TWA est convenu qu'il fallait faire preuve de souplesse quant aux différents types ou procédures de validation à utiliser comme base pour l'inclusion de marqueurs moléculaires dans les principes directeurs d'examen.

11. Le TWF a approuvé la procédure proposée pour valider les marqueurs moléculaires développés par les services d'examen pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère, qui seraient utilisés comme méthodes alternatives pour l'évaluation des caractères dans les principes directeurs d'essai.

12. Le TWM est convenu que les informations figurant aux paragraphes 21 et 28 du document TWP/9/4 devraient être révisées afin de clarifier les méthodes de validation. Le TWM est convenu que l'encadré du point 8 du tableau devrait être modifié comme suit :

“Si le résultat du test par marqueur ADN ne confirme pas la déclaration figurant dans le questionnaire technique, il convient de procéder à un essai en plein champ ou à un essai biologique ~~afin d'évaluer l'exactitude de la déclaration figurant dans le questionnaire technique.~~”

13. Le TWV a approuvé les modifications suivantes au texte du “ Tableau 1 » :

- Points 1 et 2 : mettre à jour la référence à la version actuelle des principes directeurs d'examen pour la tomate (TG/44/12)

¹ TC, soixantième session, tenue à Genève, du 21 au 22 octobre 2024. Voir le document TC/60/8 “ Compte rendu », paragraphes 51

² TWO, cinquante-septième session, tenue à Roelofarendsveen, Royaume des Pays-Bas, du 31 mars au 3 avril 2025. Voir le document TWO/57/10 “ Compte rendu », paragraphes 22 à 23.

³ TWM, troisième session, tenue à Beijing (Chine) du 28 avril au 1er mai 2025. Voir le document TWM/3/29 “ Compte rendu », paragraphes 29 à 31.

⁴ TWV, cinquante-neuvième session, tenue par voie électronique, du 5 au 8 mai 2025. Voir le document TWV/59/19 “ Compte rendu », paragraphes 25 à 26.

⁵ TWA, cinquante-quatrième session, tenue à Arusha (République-Unie de Tanzanie) du 19 au 22 mai 2025. Voir le document TWA/54/7 “ Compte rendu », paragraphes 13 à 16.

⁶ TWF, cinquante-sixième session, tenue à Bursa (Türkiye) du 23 au 26 juin 2025. Voir le document TWF/56/7 “ Compte rendu », paragraphes 32 à 36.

- Point 8 : remplacer par « [...] Si le résultat du test de marqueurs ADN ne confirme pas la déclaration figurant dans le questionnaire technique, un essai en plein champ ou un test biologique devrait être effectué afin d'évaluer l'exactitude de la déclaration figurant dans le questionnaire technique. »

Marqueurs moléculaires constituant des secrets commerciaux

14. Le TWO a examiné, dans le cadre de l'élaboration des principes directeurs d'examen de l'UPOV, les questions à prendre en considération concernant l'utilisation de marqueurs moléculaires susceptibles de constituer des secrets d'affaires (voir l'annexe du présent document, paragraphe 31). Le TWO a noté que, dans de tels cas, le marqueur ne serait pas décrit dans les principes directeurs d'examen et que l'autorisation du propriétaire du marqueur serait requise pour que les membres de l'UPOV puissent l'utiliser. Le TWO a noté que les marqueurs moléculaires étaient le plus souvent fournis par les obtenteurs et a estimé que l'accès des membres de l'UPOV aux marqueurs susceptibles de constituer un secret commercial serait important pour la coopération internationale et l'échange de rapports d'examen DHS.

15. Le TWA et le TWF ont examiné la question de l'accès aux méthodes utilisées dans les principes directeurs d'examen en relation avec la situation décrite au paragraphe 31 de l'annexe du projet de principes directeurs ("protocole relatif aux secrets commerciaux"). Le TWA est convenu qu'un examen plus approfondi serait nécessaire dans le cas où un marqueur moléculaire à accès restreint serait proposé pour inclusion dans les principes directeurs d'examen.

Protocole standard pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère dans les principes directeurs d'examen

16. Le TWA et le TWF sont convenus que le protocole standard proposé pour l'évaluation des caractères à l'aide de marqueurs moléculaires constituait une base appropriée pour harmoniser la manière dont les informations devraient être fournies dans les principes directeurs d'examen (voir l'annexe, section V "Protocole standard pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère »).

Caractères obtenus à l'aide de nouvelles techniques de sélection

17. Le TWF a examiné l'utilisation de marqueurs moléculaires pour évaluer les caractères obtenus par de nouvelles techniques de sélection. Le TWF a noté qu'aucune expérience n'avait été signalée à ce sujet et est convenu de recevoir à l'avenir des informations actualisées sur les expériences menées dans ce domaine.

Proposition

18. Sur la base des observations formulées par les groupes de travail techniques lors de leurs sessions de 2025, le TC pourrait souhaiter examiner les principes directeurs proposés pour la validation des marqueurs moléculaires en vue de leur inclusion dans les principes directeurs d'examen en tant que méthodes d'examen alternatives. Le TC pourrait souhaiter envisager l'inclusion des principes directeurs proposés dans la série de documents de l'UPOV précisant les procédures des principes directeurs d'examen (documents TGP).

19. Le TC est invité à examiner les orientations proposées pour la validation des marqueurs moléculaires dans les principes directeurs d'examen, telles qu'elles figurent dans l'annexe du présent document.

CONFIDENTIALITÉ ET PROPRIÉTÉ DES INFORMATIONS MOLÉCULAIRES

Contexte

20. Depuis 2019, les discussions sur la coopération en matière d'utilisation des techniques moléculaires incluent la demande d'examiner les directives relatives à la propriété et à la confidentialité des informations moléculaires (voir le document [TC/55/7](#) "Techniques moléculaires"). À sa cinquante-huitième session⁷, le TC a pris note des préoccupations exprimées par les organisations d'obteneurs selon lesquelles les informations moléculaires utilisées lors de l'examen d'une variété ne devraient pas être communiquées par

⁷ TC, cinquante-huitième session, tenue à Genève, les 24 et 25 octobre 2022. Voir le document TC/58/31 "Compte rendu", paragraphes 48 à 50.

l'autorité qui a reçu la demande sans l'autorisation de l'obteneur. Le TC a invité les membres et les observateurs à rendre compte des politiques existantes en matière de confidentialité des informations moléculaires lors des sessions des TWP en 2023⁷, 2024⁸ et 2025⁹.

Orientations existantes

21. Les orientations suivantes sont actuellement fournies par l'UPOV en matière de confidentialité des informations moléculaires :

- (a) Document [UPOV/INF/15/4](#) « Orientations à l'intention des membres de l'UPOV », paragraphe 38 :

« 38. Comme indiqué à l'article 12, aux fins de l'examen, l'autorité peut exiger du sélectionneur qu'il fournisse toutes les informations, tous les documents ou tout le matériel nécessaires. À cet égard, les autorités devraient envisager des mesures appropriées en matière de confidentialité, par exemple en ce qui concerne les informations généalogiques. »

- (b) Document [TGP/5, section 1/3](#) « Modèle d'accord administratif pour la coopération internationale en matière d'examen des variétés », article 4 :

« (1) Les autorités prennent toutes les mesures nécessaires pour protéger les droits du demandeur. »

« (2) Sauf autorisation expresse de l'autorité réceptrice et du demandeur, l'autorité d'exécution s'abstient de transmettre à un tiers tout matériel, y compris l'ADN, ou toute information moléculaire, concernant les variétés pour lesquelles l'examen a été demandé. »

Évolution des travaux des groupes de travail techniques lors de leurs sessions de 2025

22. Le TWO¹⁰, à sa cinquante-septième session, a convenu de l'importance d'utiliser les informations fondées sur l'ADN pour la coopération internationale en matière d'examen des variétés. Le TWO a examiné la manière dont les informations fondées sur l'ADN pourraient être partagées entre les membres de l'UPOV et a pris note de l'offre des organisations d'obteneurs visant à développer conjointement des marqueurs moléculaires qui ne révéleraient pas les stratégies d'obtention des obteneurs individuels.

23. Le TWO a pris note des orientations existantes sur la confidentialité des informations moléculaires dans les documents UPOV UPOV/INF/15 « Orientations à l'intention des membres de l'UPOV » et TGP/5, section 1 « Modèle d'accord administratif pour la coopération internationale en matière d'examen des variétés ». Le TWO a pris note de la proposition des organisations d'obteneurs d'examiner le document intitulé « Politique relative au statut du matériel végétal soumis à des essais DHS » élaboré par l'Union européenne comme exemple pour l'élaboration future d'un modèle commun.

24. À sa troisième session, le TWM¹¹ a rappelé les directives de l'UPOV sur la confidentialité des informations moléculaires fournies dans les documents TGP/5, section 1, « Modèle d'accord administratif pour la coopération internationale en matière d'examen des variétés », et INF/15, « Orientations à l'intention des membres de l'UPOV ». Le TWM a noté qu'aucun compte rendu sur la confidentialité des informations moléculaires ne lui avait été communiqué et a convenu de l'importance de préserver la confidentialité des lignées parentales et des formules hybrides. Le TWM a noté qu'une discussion similaire était en cours à l'OCDE.

25. À sa cinquante-neuvième session, le TWV¹² a noté qu'aucun compte rendu sur les politiques existantes en matière de confidentialité des informations moléculaires n'avait été communiqué avant la session du TWV.

⁸ TC, cinquante-neuvième session, tenue à Genève, les 23 et 24 octobre 2023.

⁹ TC, soixantième session, tenue à Genève, les 21 et 22 octobre 2024.

¹⁰ TWO, cinquante-septième session, tenue à Roelofarendsveen, Royaume des Pays-Bas, du 31 mars au 3 avril 2025. Voir le document TWO/57/10 « Compte rendu », paragraphes 24 à 27.

¹¹ TWM, troisième session, tenue à Pékin (Chine) du 28 avril au 1er mai 2025. Voir le document TWM/3/29 « Compte rendu », paragraphes 63 à 64.

¹² TWV, cinquante-neuvième session, tenue par voie électronique, du 5 au 8 mai 2025. Voir le document TWV/59/19 « Compte rendu », paragraphes 27 à 32.

26. Le TWV a pris note du compte rendu du Japon, qui envisageait d'utiliser les informations fondées sur l'ADN dans le cadre des informations à fournir pour la protection des obtentions végétales. Le TWV a noté que le Japon considérait ces informations comme utiles pour soutenir l'exercice des droits d'obtenteur.

27. Le TWV a pris note des préoccupations exprimées par les organisations d'obtenteurs concernant la divulgation des sources de matériel génétique utilisées par les obtenteurs dans différents programmes d'obtention. Le TWV est convenu que les obtenteurs devraient être associés à la sélection des marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés et à la gestion des collections de variétés, en particulier lorsque ces informations seraient rendues publiques.

28. Le TWV a rappelé que l'élaboration des directives de l'UPOV s'appuyait sur des exemples et des expériences fournis par les membres et les observateurs de l'UPOV. Le TWV est convenu que différentes approches devaient être envisagées pour examiner la question de la confidentialité des informations moléculaires, telles que des cas concrets et des situations spécifiques identifiés par les organisations d'obtenteurs.

29. À sa cinquante-quatrième session, le TWA¹³ a pris note des comptes rendus de l'Union européenne, d'Allemagne et du Royaume-Uni indiquant que leurs politiques nationales relatives au matériel végétal et aux données utilisées dans l'examen DHS couvraient les informations moléculaires. Le TWA a noté que, dans l'Union européenne, le questionnaire technique offrait aux demandeurs la possibilité de sélectionner les informations à traiter comme confidentielles et que la politique relative au matériel végétal dans l'examen DHS était disponible en ligne, comme indiqué dans le document TWA/54/2 "Compte rendus des membres et des observateurs" (voir : <https://cpvo.europa.eu/en/cpvo-policy-status-plant-material-used-dus-testing-purposes>).

30. Le TWA a pris note des rapports du Brésil et du Canada indiquant qu'il n'existait dans ces pays aucune politique spécifique relative à la confidentialité des informations moléculaires sur le matériel végétal et des données utilisées dans l'examen DHS. Le TWA a noté que le Brésil et le Canada ne demandaient pas aux demandeurs de fournir des informations fondées sur l'ADN.

31. Le TWA a examiné la possibilité de mener une enquête auprès des membres de l'UPOV afin qu'ils rendent compte des politiques existantes en matière de confidentialité des informations moléculaires. Le TWA est convenu qu'il faudrait poursuivre l'examen de la portée et des objectifs d'une telle enquête, notamment en identifiant les scénarios pertinents pour renforcer la participation aux discussions.

32. Le TWF¹⁴, à sa cinquante-sixième session, a noté que les membres et les observateurs de l'UPOV étaient invités à présenter des exemples de politiques en matière de confidentialité et d'accès aux données moléculaires lors des sessions du TWP en 2025.

33. *Le TC est invité à :*

(a) prendre note des discussions sur la confidentialité et la propriété des informations moléculaires lors des sessions des TWP en 2025 ;

(b) prendre note de la "Politique relative au statut du matériel végétal soumis à des essais DHS" présentée par l'Union européenne au TWA, comme indiqué au paragraphe 29 du présent document ;

(c) envisager d'inviter les TWP à organiser de futures discussions sur la confidentialité et la propriété des informations moléculaires sur la base de cas concrets et de situations spécifiques ; et

(d) envisager d'inviter les TWP à discuter de la coopération en matière d'utilisation des informations moléculaires, par exemple lors des sessions de 2025 du TWO (développement conjoint de marqueurs moléculaires) et du TWV (gestion des collections de variétés et identification des variétés).

¹³ TWA, cinquante-quatrième session, tenue à Arusha (République-Unie de Tanzanie) du 19 au 22 mai 2025. Voir le document TWA/54/7 "Compte rendu", paragraphes 17 à 21.

¹⁴ TWF, cinquante-sixième session, tenue à Bursa, en Türkiye, du 23 au 26 juin 2025. Voir le document TWF/56/7 "Compte rendu", paragraphes 37 à 38.

COOPÉRATION ENTRE ORGANISATIONS INTERNATIONALES

Contexte

34. Le TC¹⁵, à sa cinquante-septième session, est convenu de proposer les thèmes suivants pour un futur atelier conjoint UPOV/OCDE/ISTA :

- (i) fournir des informations sur l'utilisation des techniques moléculaires dans chaque organisation ;
- (ii) procédure d'approbation des méthodes biochimiques et moléculaires dans chaque organisation ;
et
- (iii) possibilités d'harmonisation des termes, définitions et méthodes entre l'UPOV, l'OCDE et l'ISTA.

Harmonisation des termes, définitions et méthodes entre l'UPOV, l'OCDE et l'ISTA

35. Le TWM¹⁶, lors de sa troisième session, a examiné les activités conjointes possibles avec l'OCDE et l'ISTA et l'harmonisation possible des termes, définitions et méthodes en relation avec les techniques moléculaires . Le TWM a décidé d'inviter l'expert de la France à coordonner les discussions afin d'organiser les informations pertinentes sur les termes et définitions. Le TWM a pris note de l'intérêt manifesté par les experts d'Argentine, de Chine, d'Allemagne, des Pays-Bas (Royaume des), du Royaume-Uni, de la CIOPORA et de l'ISF pour contribuer à cet exercice.

36. Le TWM a pris note du compte rendu du représentant de l'OCDE selon lequel les programmes semenciers de l'OCDE avaient déjà approuvé la collaboration avec l'UPOV en vue d'une éventuelle harmonisation des définitions et des termes.

37. *Le TC est invité à :*

a) envisager d'inviter la France, en collaboration avec l'Argentine, la Chine, l'Allemagne, les Pays-Bas (Royaume des), le Royaume-Uni, la CIOPORA et l'ISF, à organiser les informations sur les termes et définitions relatifs aux techniques moléculaires utilisées à l'UPOV, pour examen par le TWM et le TC en 2026 ; et

b) noter que les programmes semenciers de l'OCDE ont approuvé la collaboration avec l'UPOV en vue d'une éventuelle harmonisation des définitions et des termes.

Mise à jour de la liste des marqueurs moléculaires utilisés par culture

38. Le TWM a rappelé que les résultats de l'enquête menée auprès des membres de l'UPOV sur l'utilisation des marqueurs moléculaires par culture étaient disponibles sous forme de tableau sur la page web de la cinquante-huitième session du Comité technique (voir : https://www.upov.int/meetings/en/doc_details.jsp?meeting_id=67786&doc_id=586962).

39. Le TWM¹⁷ a accueilli favorablement la proposition des Pays-Bas (Royaume des) de coordonner la mise à jour de la liste des marqueurs moléculaires utilisés par culture, qui avait été communiquée au Comité technique à sa cinquante-huitième session.

40. Le TC est invité à envisager d'inviter les Pays-Bas (Royaume des) à coordonner la mise à jour de la liste des marqueurs moléculaires utilisés par culture élaborée par l'UPOV et disponible sur la page web de la cinquante-huitième session du TC.

¹⁵ TC, cinquante-septième session, tenue à Genève, les 25 et 26 octobre 2021.

¹⁶ TWM, troisième session, tenue à Pékin (Chine) du 28 avril au 1er mai 2025. Voir le document TWM/3/29 " Compte rendu », paragraphes 20 à 28.

¹⁷ TWM, troisième session, tenue à Pékin (Chine) du 28 avril au 1er mai 2025. Voir le document TWM/3/29 " Compte rendu », paragraphes 35.

Ensembles communs de marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés*Analyse prospective*

41. L'exercice d'analyse prospective de l'UPOV résumé dans le Plan stratégique de l'UPOV pour 2026-2029 (document C/59/14) a mis en évidence le recours croissant à l'analyse de l'ADN à des fins d'identification des variétés. Il a également appelé l'UPOV à élaborer des normes dans ce domaine et à explorer les moyens de gérer les données et de collaborer dans le domaine des activités liées à la science des données.

Faits nouveaux au sein du Groupe de travail technique sur les méthodes et techniques d'examen

42. Le TWM¹⁸ a examiné la création d'ensembles communs de marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés et a convenu d'inviter l'UPOV, l'OCDE et l'ISTA à examiner plus avant les défis et les opportunités de cette initiative, tels que les cultures, l'échelle d'harmonisation (par exemple régionale, mondiale) et les aspects liés aux marqueurs moléculaires. Le TWM a convenu que la collaboration avec les obtenteurs pourrait faciliter la sélection d'ensembles de marqueurs représentant ces programmes d'obtention.

43. À la suite de la session du TWM, la réunion annuelle des régimes semenciers de l'OCDE a approuvé la collaboration des régimes semenciers de l'OCDE avec l'ISTA et l'UPOV afin de commencer à travailler à l'établissement d'ensembles communs de marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés. Les régimes semenciers de l'OCDE ont convenu d'inviter les autorités nationales désignées (AND) à fournir les noms d'experts afin de commencer à travailler sur ce sujet.¹⁹

44. *Le TC et le CAJ sont invités à :*

(a) approuver la collaboration avec l'OCDE et l'ISTA en vue d'établir des ensembles communs de marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés ;

(b) examiner s'il convient de sélectionner un expert et/ou des experts intéressés pour coordonner les travaux sur ce sujet ; et

c) noter que l'OCDE a approuvé le lancement des travaux visant à établir des ensembles communs de marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés, en collaboration avec l'ISTA et l'UPOV.

Informations sur l'utilisation des techniques moléculaires dans chaque organisation : possibilité d'une réunion conjointe

45. Le TWM a examiné la possibilité d'organiser une réunion conjointe avec des participants du TWM, des programmes semenciers de l'OCDE et du Comité des variétés de l'ISTA afin de discuter de la coopération en matière d'utilisation des marqueurs moléculaires aux fins de chaque organisation. Le TWM est convenu que l'organisation d'une réunion conjointe avec des experts des trois organisations nécessiterait des dispositions spécifiques et devrait faire l'objet de discussions plus approfondies entre l'UPOV, l'OCDE et l'ISTA.

46. Le TC et le CAJ pourraient approuver l'organisation d'une réunion conjointe avec des participants de l'UPOV, des programmes de l'OCDE sur les semences et du Comité des variétés de l'ISTA afin de discuter de la coopération en matière d'utilisation des marqueurs moléculaires aux fins de chaque organisation. En cas de réponse positive, les dispositions relatives à la réunion conjointe seraient soumises à l'examen de l'OCDE et de l'ISTA. Les futurs hôtes des sessions du TWM pourraient également être consultés à cet égard.

¹⁸ TWM, troisième session, tenue à Pékin (Chine) du 28 avril au 1er mai 2025. Voir le document TWM/3/29 « Compte rendu », paragraphe 28.

¹⁹ Réunion annuelle des programmes de semences de l'OCDE, 12-13 juin 2025. Voir le document « Confirmation des résultats ».

47. Le TC et le CAJ sont invités à approuver l'organisation d'une réunion conjointe avec des participants de l'UPOV, des programmes semenciers de l'OCDE et du Comité des variétés de l'ISTA afin de discuter de la coopération en matière d'utilisation des marqueurs moléculaires aux fins de chaque organisation.

QUESTIONS POUR INFORMATION

48. Le TWM a tenu sa troisième session à Beijing (Chine) du 28 avril au 1^{er} mai 2025. Les sections suivantes rendent compte des développements en matière de techniques moléculaires.

Derniers développements en matière de techniques moléculaires et de bio-informatique

Activités de science des données au Naktuinbouw en vue du génotypage et du phénotypage : mise à jour

49. Le TWM a entendu une présentation de Mme Sanchari Sircar (Pays-Bas (Royaume des)) sur les "Activités de science des données au Naktuinbouw en vue du génotypage et du phénotypage : mise à jour", dont une copie figure dans le document TWM/3/16.

50. Le TWM a pris note du développement de logiciels au Naktuinbouw et de l'invitation à collaborer à des activités de science des données, notamment l'analyse d'images et le phénotypage, le développement de flux de travail, l'intelligence artificielle et d'autres efforts de collaboration.

Coopération entre organisations internationales

ISTA

51. Le TWM a entendu une présentation de Mme Ana Vicario, de l'Association internationale d'essais de semences (ISTA), sur le thème "Le point sur l'utilisation des techniques d'identification et de vérification des variétés par l'ISTA", dont une copie figure dans le document TWM/3/25.

52. Le TWM a noté que les marqueurs sélectionnés pour détecter les types pérennes dans le ray-grass annuel n'étaient pas nécessairement associés à des caractéristiques morphologiques et étaient basés sur des variétés provenant de différents pays. Le TWM a noté que les marqueurs identifiés dans le cadre du projet seraient publiés dans les règles de l'ISTA.

53. Le TWM a noté que le réseau neuronal utilisé pour soutenir l'identification des variétés était un logiciel propriétaire.

OCDE

54. Le TWM a entendu un exposé de M. Csaba Gaspar, de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), sur les "Derniers développements dans la demande de la méthode BMT dans le cadre des programmes de l'OCDE relatifs aux semences", dont une copie figure dans le document TWM/3/26.

Compte rendu sur les travaux relatifs aux techniques moléculaires dans le cadre de l'examen DHS

Derniers développements en matière de marqueurs moléculaires spécifiques à certains caractères au Naktuinbouw : appel à l'échange de connaissances

55. Le TWM a entendu un exposé de Mme Claire Kamei (Pays-Bas (Royaume des)) sur les "Derniers développements en matière de marqueurs moléculaires spécifiques à certains caractères au Naktuinbouw : appel à l'échange de connaissances", dont une copie figure dans le document TWM/3/7.

56. Le TWM a noté que le Naktuinbouw lançait un projet de sélection de marqueurs moléculaires pour la laitue et que les experts intéressés devraient contacter l'expert des Pays-Bas (Royaume des) pour d'éventuels partenariats.

57. Le TWM est convenu que les organisations devraient envisager de mettre en commun leurs ressources pour soutenir des projets communs. Le TWM a examiné les options permettant de diffuser les informations sur les projets élaborés par les membres et les observateurs de l'UPOV et est convenu qu'elles pourraient être communiquées avant chaque session du TWM afin d'être incluses dans le document TWM/3/2 intitulé « Comptes rendus des membres et des observateurs sur les faits nouveaux en matière de protection des obtentions végétales ».

58. Le TWM a accueilli favorablement la proposition du Royaume des Pays-Bas de diriger la mise à jour de la liste des marqueurs moléculaires utilisés par culture, qui avait été communiquée au Comité technique à sa cinquante-huitième session (disponible à l'adresse suivante : https://www.upov.int/meetings/en/doc_details.jsp?meeting_id=67786&doc_id=586962).

Utilisation de la technologie biomoléculaire dans l'examen DHS - étude de cas sur l'orge

59. Le TWM a entendu un exposé de Mme Vanessa MacMillan (Royaume-Uni) sur « L'utilisation de la technologie biomoléculaire dans l'examen DHS – étude de cas sur l'orge », dont une copie figure dans le document TWM/3/20.

60. Le TWM a pris note du compte rendu présenté dans le document et a invité l'experte du Royaume-Uni à rendre compte des progrès accomplis à la quatrième session du TWM.

Intelligence artificielle et marqueurs moléculaires dans les fruits rouges : une validation de principe

61. Le TWM a entendu un exposé de Mme Margaret Wallace (Royaume-Uni) sur « L'intelligence artificielle et les marqueurs moléculaires dans les fruits à chair tendre : une validation de principe », dont une copie figure dans le document TWM/3/24.

62. Le TWM a pris note des progrès réalisés dans la prédiction génétique de caractéristiques morphologiques telles que la présence d' épines chez la framboise. Le TWM a examiné les facteurs liés à la prédiction génétique des caractéristiques morphologiques, dans la mesure où ils se rapportaient aux résultats présentés dans l' étude de validation.

Une meilleure compréhension de l'architecture génétique des caractères DHS du blé peut-elle contribuer à rationaliser les processus DHS ?

63. Le TWM a entendu un exposé de Mme Camila Zanella (Royaume-Uni) intitulé « Une meilleure compréhension de l'architecture génétique des caractères DHS du blé peut-elle contribuer à rationaliser les processus DHS ? », dont une copie figure dans le document TWM/3/22.

64. Le TWM a examiné les conditions requises pour la mise en œuvre des marqueurs moléculaires dans l'examen systématique des variétés et est convenu qu'ils devraient à la fois accroître l'efficacité de l'autorité chargée de l'examen et profiter aux demandeurs.

Prédiction génomique pour la gestion des collections variétales de blé

65. Le TWM a entendu un exposé de M. Adrian Roberts (Royaume-Uni) intitulé « Préviation génomique pour la gestion des collections variétales de blé », dont une copie figure dans le document TWM/3/6.

66. Le TWM a noté que des ajustements étaient nécessaires pour que la méthode fonctionne avec des notes (données ordinales) plutôt qu'avec des mesures réelles et a invité l'expert du Royaume-Uni à rendre compte des progrès réalisés lors de la quatrième session du TWM.

Critère de distinction amélioré COYD-GP pour les plantes agricoles à pollinisation croisée

67. Le TWM a entendu un exposé de M. Adrian Roberts (Royaume-Uni) sur le thème « Critère de distinction amélioré COYD-GP pour les plantes agricoles à pollinisation croisée », dont une copie figure dans le document TWM/3/4.

68. Le TWM a noté que l'efficacité accrue de la nouvelle méthode COYD-GP pour la détermination de la distinction avait été calculée pour chaque caractère et est convenu qu'il faudrait approfondir l'étude du gain d'efficacité global. Le TWM a invité l'expert du Royaume-Uni à rendre compte des développements lors de la quatrième session du TWM.

Activités de recherche-développement de l'Office communautaire des variétés végétales (OCVV)

69. Le TWM a entendu un exposé de Mme Cecile Collonnier, de l'Office communautaire des variétés végétales (OCVV), sur les « Activités de R&D de l'OCVV », dont une copie figure dans le document TWM/3/15.

70. Le TWM a pris note du compte rendu sur les projets récemment achevés et en cours cofinancés par l'OCVV. Le TWM a noté que les marqueurs moléculaires sélectionnés dans le cadre des projets étaient accessibles au public et a pris note de l'offre de la Chine d'échanger une sélection de marqueurs KASP.

Méthodes d'analyse des données moléculaires, gestion des bases de données et échange de données et de matériel*Exploitation des marqueurs de polymorphismes haplotypes des cultures pour l'identification généalogique*

71. Le TWM a entendu un exposé de M. Yikun Zhao (Chine) intitulé « Exploitation des marqueurs de polymorphismes haplotypes (HTP) des cultures pour l'identification généalogique », dont une copie figure dans le document TWM/3/10.

72. Le TWM a examiné l'utilité des marqueurs HTP pour l'identification généalogique des hybrides triples de maïs et leur utilisation possible pour le soja. Le TWM a examiné les méthodes statistiques permettant d'évaluer la fiabilité de la méthode et a pris note de l'identification correcte de 94 % des échantillons dans les tests effectués. Le TWM a noté que les marqueurs HTP pourraient éventuellement être utilisés pour évaluer les variétés essentiellement dérivées (EDV). Le TWM a convenu d'inviter l'expert de Chine à rendre compte des développements lors de sa quatrième session.

PAD – un algorithme de détection des descendants et des ancêtres basé sur les profils génétiques

73. Le TWM a entendu une présentation de M. Emerson Limberger, International Seed Federation (ISF), sur le thème « PAD – un algorithme de détection des descendants et des ancêtres basé sur les profils génétiques », dont une copie figure dans le document TWM/3/17.

74. Le TWM a noté que les marqueurs MNP donneraient de meilleurs résultats, mais qu'en l'absence de marqueurs MNP, des marqueurs génétiques basés sur des blocs de recombinaison pourraient être utilisés comme alternative, bien que des tests supplémentaires soient nécessaires. Le TWM a noté qu'une version test de l'algorithme serait mise à la disposition des experts intéressés.

DurdusTools : état actuel et utilisation dans l'examen DHS

75. Le TWM a entendu un exposé de Mme Alexandra Ribarits (Autriche) sur le thème « DurdusTools : état actuel et utilisation dans l'examen DHS », dont une copie figure dans le document TWM/3/21.

76. Le TWM a pris note de l'utilisation de DurdusTools pour calculer les distances génétiques à l'appui de l'examen DHS de routine des autorités participantes depuis 2024. Le TWM a noté que les autorités participantes couvraient les coûts opérationnels, y compris la maintenance de la base de données et la génération de données moléculaires.

Mise au point d'outils de phénotypage DHS pour et avec les services d'examen : expérience acquise

77. Le TWM a entendu un exposé de M. Joseph Peller (Pays-Bas (Royaume des)), intitulé « Développement d'outils de phénotypage DHS pour et avec les services d'examen : expérience acquise », dont une copie figure dans le document TWM/3/27.

78. Le TWM a pris note de la disponibilité d'un prototype d'application pour téléphone mobile permettant d'évaluer les rapports de volume et de forme des fruits, à partir d'images capturées dans une perspective descendante. Le TWM a noté que le code de programmation de la demande était open source et disponible sur GitHub. Le TWM a pris note de l'invitation à collaborer pour poursuivre le développement de la demande, en particulier pour stabiliser l'interface du téléphone mobile. La demande et le tutoriel sont disponibles à l'adresse suivante : https://play.google.com/store/apps/details?id=com.wur.invite.morph_app&hl=en-US.

79. Le TWM a convenu de l'importance des demandes pour appareils mobiles afin d'améliorer l'efficacité de l'examen DHS.

Concept de phénotypage pour renforcer la chaîne de protection des obtentions végétales grâce à l'utilisation combinée de l'IA&AI

80. Le TWM a entendu une présentation de M. Zsolt Szani (Hongrie) sur le thème "Concept de phénotypage pour renforcer la chaîne de protection des obtentions végétales grâce à l'utilisation combinée de l'analyse d'images et de l'intelligence artificielle (IA&AI)", dont une copie figure dans le document TWM/3/28.

81. Le TWM a examiné l'utilisation d'algorithmes pour l'analyse d'images et est convenu qu'ils devaient être décrits et validés. Le TWM est convenu que l'introduction d'outils de phénotypage dans l'examen des variétés nécessite une quantité suffisante de données variétales pour l'apprentissage des algorithmes et la validation des analyses générées.

Utilisation des bases de données ADN à Naktuinbouw pour améliorer les travaux DHS

82. Le TWM a entendu une présentation de Mme Cécile Marchenay (Pays-Bas (Royaume des)) sur " L'utilisation des bases de données ADN au Naktuinbouw pour améliorer le travail DHS », dont une copie figure dans le document TWM/3/8.

83. Le TWM a examiné les défis et les possibilités liés à l'utilisation des informations fondées sur l'ADN comme base pour optimiser les collections de variétés et l'organisation des essais en culture. Le TWM a examiné l'utilisation des informations fondées sur l'ADN pour réduire le nombre de cycles de culture pour les plantes qui seraient normalement examinées dans le cadre de deux essais en culture.

Base de données moléculaires partagée

84. Le TWM a entendu un exposé de M. René Mathis (France) sur le thème " Base de données moléculaires partagées », dont une copie figure dans le document TWM/3/23.

85. Le TWM a convenu de l'utilité des bases de données partagées et a pris note des projets de bases de données partagées dans l'Union européenne.

Utilisation des techniques moléculaires dans l'évaluation de la dérivation essentielle

Exploration des techniques d'identification fondées sur les marqueurs SNP pour les variétés de blé essentiellement dérivées

86. Le TWM a entendu un exposé de Mme Binshuang Pang (Chine) sur l'" Exploration des techniques d'identification fondées sur les marqueurs SNP pour les variétés de blé essentiellement dérivées », dont une copie figure dans le document TWM/3/11.

87. Le TWM a pris note de la méthode permettant d'établir un seuil de 92 % de dérivation prédominante en utilisant au moins 20 000 SNP et des variétés essentiellement dérivées (EDV) communément connues comme base de l'analyse.

88. Le TWM a convenu que la méthode de sélection des variétés utilisée et leur pedigree étaient des éléments importants pour l'évaluation de la dérivation essentielle. Le TWM a rappelé les orientations de l'UPOV figurant dans le document UPOV/EXN/EDV/3, selon lesquelles un degré élevé de similitude ne signifie pas automatiquement qu'une variété a été dérivée de manière prédominante, comme dans le cas de la sélection convergente.

89. Le TWM a noté que la méthode décrite dans la présentation consistait en un recalibrage à l'aide de SNP d'un seuil précédemment établi à l'aide de marqueurs SSR.

Élaboration d'un seuil pour les variétés essentiellement dérivées (VED) dans le soja

90. Le TWM a entendu une présentation de M. Barry Nelson, de la International Seed Federation (ISF), sur l'élaboration d'un seuil pour les variétés essentiellement dérivées (EDV) dans le soja, dont une copie figure dans le document TWM/3/9.

91. Le TWM a noté que le seuil préliminaire serait évalué par les sélectionneurs participant à l'étude en fonction de leurs programmes actuels de développement du soja; si le seuil était approuvé, il serait communiqué aux associations semencières concernées pour accord et adoption éventuelle.

92. Le TWM a convenu de l'importance de la contribution des sélectionneurs à la détermination des seuils et à la prévention des litiges concernant les EDV. Le TWM a convenu que la mise en œuvre d'un seuil nécessiterait d'examiner les pedigrees des variétés et la manière d'évaluer les critères restants pour déterminer la dérivation essentielle.

Utilisation des techniques moléculaires pour l'application de la loi

Utilisation des techniques ADN pour l'application des droits de variété végétale au Pérou

93. Le TWM a entendu une présentation de M. Diego F. Ortega Sanabria (Pérou) sur « L'utilisation des techniques ADN pour l'application des droits de variété végétale au Pérou », dont une copie figure dans le document TWM/3/3.

94. Le TWM a pris note des procédures en vigueur au Pérou pour les inspections sur pied dans les cas de contrefaçon, notamment le rôle de l'autorité administrative dans la conduite des inspections sur pied et l'existence de directives relatives aux informations fondées sur l'ADN. Le TWM a noté qu'au Pérou, le plaignant doit démontrer la spécificité des marqueurs utilisés pour identifier la variété protégée.

95. Le TWM a pris note des difficultés signalées en matière d'application des droits sur les fruits exportés en raison du temps nécessaire à l'identification des variétés. Le TWM est convenu qu'il était important de renforcer la coopération entre les autorités des membres de l'UPOV en matière d'application des droits.

Utilisation des marqueurs moléculaires comme outil pour faire respecter les droits de variété végétale (PBR) sur le soja en Uruguay

96. Le TWM a entendu une présentation de Mme Vanessa Sosa, Mme Pilar Zorilla (Uruguay) et M. Diego Risso (Association des semenciers des Amériques) sur « L'utilisation des marqueurs moléculaires comme outil pour faire respecter les droits de variété végétale (PBR) sur le soja en Uruguay », dont une copie sera fournie en annexe au document TWM/3/18.

97. Le TWM a noté qu'en Uruguay, l'association des obtenteurs et l'Institut national des semences effectuaient des inspections sur le terrain. Le TWM a noté que la procédure d'identification des variétés pouvait prendre jusqu'à deux jours dans certains cas. Le TWM a noté que les amendes pour contrefaçon en Uruguay étaient basées sur la valeur du matériel récolté et considérées comme une mesure efficace.

98. Le TWM a noté que l'analyse d'images était également utilisée pour l'identification des variétés à partir de semences de variétés protégées.

[L'annexe suit]

LIGNES DIRECTRICES POUR LA VALIDATION D'UN NOUVEAU PROTOCOLE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES SPÉCIFIQUES À UN CARACTÈRE COMME MÉTHODE ALTERNATIVE D'OBSERVATION

Document préparé par des experts de la France, d'Italie et du Royaume des Pays-Bas

Avertissement : ce document ne représente pas les politiques ou les orientations de l'UPOV.

Table des matières :

I.	OBJECTIFS DES PRÉSENTES DIRECTIVES.....	2
II.	CHAMP D'APPLICATION DES PRÉSENTES LIGNES DIRECTRICES.....	2
III.	CRITÈRES DE PERFORMANCE POUR UN NOUVEAU PROTOCOLE BASÉ SUR LES MARQUEURS MOLÉCULAIRES.....	2
	Spécificité.....	2
	<i>Définition</i>	2
	<i>Exigence</i>	2
	<i>Comment l'évaluer ?</i>	2
	Sensibilité et limite de détection.....	2
	<i>Définition</i>	2
	<i>Exigence</i>	3
	<i>Comment l'évaluer ?</i>	3
	Répétabilité.....	3
	<i>Définition (basée sur la norme ISO 16 577:2016 ; référence à UPOV/INF/17)</i>	3
	<i>Exigence</i>	3
	<i>Comment l'évaluer ?</i>	3
	Reproductibilité.....	3
	<i>Définition (basée sur la norme ISO 16 577:2016 ; référence à UPOV/INF/17)</i>	3
	<i>Exigence</i>	3
	<i>Comment l'évaluer ?</i>	3
	Robustesse.....	4
	<i>Définition (basée sur la norme ISO 16 577:2016 ; référence à UPOV/INF/17)</i>	4
	<i>Exigence</i>	4
	<i>Comment l'évaluer ?</i>	4
IV.	COMPTE RENDU DE VALIDATION.....	4
	Contenu du compte rendu de validation.....	4
	Publicité.....	4
V.	PROTOCOLE STANDARD POUR LES MARQUEURS MOLÉCULAIRES SPÉCIFIQUES À UN CARACTÈRE.....	5
VI.	ENQUÊTE DE SUIVI APRÈS APPROBATION.....	8
VII.	BIBLIOGRAPHIE.....	8

DOCUMENTS CONNEXES

- TG/1/3 : Introduction générale à l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité et à l'élaboration de descriptions harmonisées des nouvelles variétés végétales
- TG/44 : Principes directeurs pour la conduite des essais de distinction, d'homogénéité et de stabilité pour la tomate
- TGP/9 : Examen de la distinction
- TGP/10 : Examen de l'homogénéité
- TGP/12 : Directives concernant certains caractères physiologiques
- TGP/15 : Conseils concernant l'utilisation de marqueurs biochimiques et moléculaires dans l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité (DHS)
- UPOV/INF/17 Directives concernant les profils d'ADN : sélection des marqueurs moléculaires et constitution d'une base de données
- UPOV/INF/18 Utilisation possible des marqueurs moléculaires dans l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité (DHS)
- TWV/54/7 + Add Utilisation des techniques moléculaires dans l'examen DHS

I. OBJECTIFS DES PRÉSENTES DIRECTIVES

1. Les présentes directives ont pour objet de développer les principes énoncés dans l'introduction générale (document TG/1/3) et les documents TGP connexes afin d'établir des orientations pratiques détaillées pour la validation harmonisée d'une nouvelle méthode fondée sur des marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère avant son utilisation comme test de substitution. Les critères de performance requis pour la validation sont décrits et des orientations sont fournies pour leur évaluation. Les présentes directives décrivent également un protocole standard comprenant des chapitres obligatoires et facultatifs. L'enquête après acceptation est également décrite.
2. Si une technique différente est utilisée, le laboratoire doit valider sa méthode par rapport à la méthode de référence (afin de démontrer que la technique alternative donne les mêmes résultats).

II. CHAMP D'APPLICATION DES PRÉSENTES LIGNES DIRECTRICES

Toutes les cultures
Marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère
Pour l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité (DHS).

III. CRITÈRES DE PERFORMANCE POUR UN NOUVEAU PROTOCOLE BASÉ SUR LES MARQUEURS MOLÉCULAIRES

Spécificité

Définition

3. Corrélation entre le génotype et le phénotype, *c'est-à-dire* fiabilité du lien entre le marqueur et le caractère.

Exigence

4. En principe, corrélation de 100 % entre le génotype et le phénotype. Si la corrélation est inférieure à 100 %, un ou plusieurs tests de suivi doivent être effectués afin de garantir la fiabilité des résultats. Une règle de décision peut être utilisée dans ce cas. Une corrélation inférieure à 100 % peut être due à d'autres facteurs génétiques.

Comment l'évaluer ?

5. Nombre de variétés : pour lancer le processus de sélection des marqueurs, il faut disposer d'un nombre approprié de variétés (ensemble de développement) afin de refléter au mieux la diversité observée au sein du groupe/de la culture/de l'espèce/du type pour lequel les marqueurs sont destinés à être discriminants.

6. Les variétés doivent représenter les différents états d'expression (si l'on connaît des variétés hétérozygotes et homozygotes), provenant de différents sélectionneurs, avec des antécédents génétiques différents pour le caractère et des types différents. Il convient d'utiliser, lorsqu'elles sont disponibles, des variétés bien caractérisées phénotypiquement pour le caractère d'intérêt.

7. Nombre de plantes par variété : au moins une plante par variété si les variétés disponibles sont bien caractérisées sur le plan phénotypique. Dans le cas contraire, le nombre de plantes doit être le même que pour l'observation morphologique décrite dans les principes directeurs d'examen de l'UPOV.

8. La spécificité peut être évaluée au sein d'un même laboratoire.

Sensibilité et limite de détection

Définition

9. La limite de détection est définie comme la quantité minimale de la cible pouvant être détectée de manière fiable.

10. Dans le cas d'analyses effectuées sur des échantillons en vrac (*par exemple*, un ensemble de différentes plantes de la même variété), la sensibilité est essentielle et doit être évaluée. Pour une utilisation sur des plantes individuelles, la quantité de la cible n'est pas essentielle et ce critère de performance est facultatif.

Exigence

11. Dans le cas du pool, l'exigence serait de détecter au moins un individu hors-type dans le pool.

Comment l'évaluer ?

12. Utiliser des échantillons artificiels en mélangeant un échantillon hors type à un pool afin de vérifier la sensibilité de la détection.

Répétabilité

Définition (basée sur la norme ISO 16 577:2016 ; référence à UPOV/INF/17)

13. “ *Répétabilité : obtention de résultats d'essai identiques avec la même méthode, sur des éléments d'essai identiques, dans le même laboratoire, par le même opérateur, à l'aide du même équipement, dans des intervalles de temps courts.* »

14. Pour les méthodes qualitatives, la conformité équivaut à la répétabilité des méthodes quantitatives (Langton *et al.*, 2002).

Exigence

15. Idéalement 100 %, une performance ≥ 90 % est généralement acceptée. Si la répétabilité de la méthode de référence est publiée, la répétabilité de la méthode alternative doit être au moins équivalente.

Comment l'évaluer ?

16. La répétabilité peut être évaluée au sein d'un même laboratoire.

17. Au moins trois réplicats techniques provenant d'une même plante (trois extractions d'ADN indépendantes). Inclure au moins tous les types de génotypes attendus.

Reproductibilité

Définition (basée sur la norme ISO 16 577:2016 ; référence à UPOV/INF/17)

18. “ *Reproductibilité : lorsque les résultats des essais sont obtenus avec la même méthode, sur des éléments d'essai identiques, au sein du même laboratoire ou entre différents laboratoires, avec différents opérateurs, à l'aide d'équipements différents* » à des moments différents.

19. Pour les méthodes qualitatives, la concordance équivaut à la reproductibilité des méthodes quantitatives (Langton *et al.*, 2002).

Exigence

20. Idéalement 100 %, une performance ≥ 90 % est généralement acceptée. Si la reproductibilité de la méthode de référence est publiée, la reproductibilité de la méthode alternative doit être au moins équivalente.

Comment l'évaluer ?

21. La reproductibilité doit être évaluée entre différents laboratoires au moyen d'une étude de validation interlaboratoires (test interlaboratoire) avec des échantillons codés de génotypes connus. Tous les types de génotypes attendus doivent être inclus.

22. Le test interlaboratoire doit impliquer au moins trois laboratoires différents, dont au moins deux bureaux d'examen différents (*par exemple*, dans le projet INVITE EU 817970 DOI [10.3030/817970](https://doi.org/10.3030/817970), trois bureaux d'examen ont participé au test de validation). Si possible, il convient de faire appel à des laboratoires expérimentés qui connaissent bien l'espèce et la technique. Si ce n'est pas le cas, une formation peut être

organisée avant le test interlaboratoire avec des échantillons non codés. Les laboratoires peuvent participer à un test interlaboratoire sur une base volontaire. En l'absence de volontaires, une évaluation de la reproductibilité intra-laboratoire sera possible avec différents opérateurs.

23. Tous les laboratoires doivent suivre le protocole à valider. Dans le protocole, les parties obligatoires et facultatives peuvent être définies par l'équipe de validation. Les laboratoires peuvent participer à un essai interlaboratoire sur une base volontaire. En l'absence de volontaires, la reproductibilité peut être déterminée au sein d'un seul laboratoire.

24. Nombre de variétés : inclure au moins tous les types de génotypes attendus.

25. Les lignes directrices/normes relatives aux études interlaboratoires peuvent être suivies : ISO 13495 *Denrées alimentaires - Principes de sélection et critères de validation des méthodes d'identification variétale utilisant des acides nucléiques spécifiques*, ISO 17043 *Évaluation de la conformité - Exigences générales pour les essais d'aptitude*, EPPO pm7-122-2 *Lignes directrices pour l'organisation de comparaisons interlaboratoires par les laboratoires de diagnostic des organismes nuisibles aux végétaux*, ISTA TCOM-P-10-*Validation des méthodes de contrôle sanitaire des semences et organisation et analyse des essais comparatifs interlaboratoires (CT)*... L'équipe de validation peut citer les lignes directrices suivies dans son rapport.

Robustesse

Définition (basée sur la norme ISO 16 577:2016 ; référence à UPOV/INF/17)

26. “ *Robustesse : mesure de la capacité à ne pas être affecté par des écarts mineurs mais délibérés par rapport aux conditions expérimentales décrites dans les paramètres de la procédure, qui fournit une indication de sa fiabilité dans des conditions normales d'utilisation* » (par exemple, changement de méthode d'extraction d'ADN ou changement d'appareil en temps réel).

Exigence

27. Idéalement 100 %, si ce chiffre est inférieur, cela signifie que la méthode n'est pas robuste face à un changement d'un paramètre et cela doit être indiqué dans le protocole comme une étape obligatoire (*par exemple*, un changement de mélange maître qui serait critique).

Comment l'évaluer ?

28. L'évaluation est facultative, et la robustesse est évaluée en partie lors de l'essai interlaboratoire (reproductibilité) (différents laboratoires, équipements, machines, ~~personnes~~, etc.).

IV. COMPTE RENDU DE VALIDATION

29. Le compte rendu de validation et les résultats doivent être examinés par deux pairs (de préférence trois si la reproductibilité a été évaluée au sein d'un seul laboratoire) des organismes responsables. L'examen est volontaire, mais il est préférable qu'il soit effectué par un laboratoire familiarisé avec l'espèce et la méthode.

30. Au cours du processus d'examen, les examinateurs peuvent demander des données de validation supplémentaires en concertation avec l'équipe de validation.

Contenu du compte rendu de validation

- Données brutes générées au cours des différentes étapes du processus de validation
- Protocole détaillé avec définition des étapes facultatives et obligatoires
- Évaluation des critères de performance
- Conclusion

Publicité

31. Le rapport de validation doit être disponible sur demande. Dans le nouveau protocole, le processus de validation doit être mentionné avec le bureau d'examen de contact. Dans certains cas particuliers, *par exemple* un “ protocole de secret commercial » (stérilité mâle cytoplasmique dans le chou), le protocole et le rapport de validation ~~ne~~ peuvent être partagés en dehors des qu'entre les bureaux d'examen.

V. PROTOCOLE STANDARD POUR LES MARQUEURS MOLÉCULAIRES SPÉCIFIQUES À UN CARACTÈRE

32. Les éléments obligatoires sont indiqués dans la colonne « informations essentielles », les autres éléments peuvent être utilisés en fonction du protocole d'essai du caractère. Si un laboratoire souhaite adapter/modifier/changer un chapitre obligatoire ou un élément d'un chapitre obligatoire, il doit valider sa méthode par rapport à la méthode de référence (afin de démontrer qu'il obtient les mêmes résultats que la méthode publiée).

Tableau 1 : Protocole standard pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère
(les modifications sont surlignées en gris)

Chapitre	Éléments d'un protocole standard pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère	Exemple	Informations essentielles pour l'harmonisation	Remarque
1	Caractère	Résistance au virus de la mosaïque de la tomate (ToMV) <i>Voir TG/44/1211/rev3 – Ad 51 : ii Test de marqueur ADN</i>	OUI	
2	Gènes et allèles	<i>Voir TG/44/1211/rev3 – Ad 51 : ii Test de marqueurs ADN ajouter 2</i>	OUI	Il faut éviter les marqueurs dominants ou les marqueurs de présence/absence, sinon la robustesse doit être évaluée
2.1	Gène(s) ciblé(s)	Gène de résistance <i>Tm2</i>	OUI	a) Fichier(s) contenant les informations sur la séquence d'ADN (ordre des nucléotides)
		Arens, P. et al (2010)		b) référence aux informations sur l'ADN dans les bases de données publiques (comme GeneBank)
				c) référence à des publications (scientifiques) dans lesquelles les informations sur la séquence d'ADN des états d'expression du caractère sont révélées.
				d) référence à une position particulière sur la version publiée du génome de référence.
2.2	Allèle correspondant à l'état d'expression 1	<i>tm2</i>	OUI	a) fichier(s) contenant les informations sur la séquence d'ADN (ordre des nucléotides)
		Arens, P. et al (2010)		b) référence aux informations sur l'ADN dans les bases de données publiques (comme GeneBank)
				c) référence à des publications (scientifiques) dans lesquelles sont révélées les informations sur la séquence d'ADN des états d'expression du caractère.
				d) référence à une position particulière sur la version publiée du génome de référence en combinaison avec le SNP ou l'INDEL responsable de l'état d'expression.

Chapitre	Éléments d'un protocole standard pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère	Exemple	Informations essentielles pour l'harmonisation	Remarque
2.3	Allèle correspondant à l'état d'expression n	<i>Tm2 et Tm2²</i>	OUI	a) Fichier(s) contenant les informations sur la séquence d'ADN (ordre des nucléotides)
		Arens, P. et al (2010)		b) référence aux informations sur l'ADN dans les bases de données publiques (comme GeneBank)
				c) référence à des publications (scientifiques) dans lesquelles les informations sur la séquence d'ADN des états d'expression du caractère sont révélées.
				d) référence à une position particulière sur la version publiée du génome de référence en combinaison avec le SNP ou l'INDEL responsable de l'état d'expression.
3	Amorces (et sondes)	<i>Voir TG/44/11/rev3 – Ad 51 : ii Test de marqueurs ADN ajouter 3, 3.1 et 3.2</i>	OUI	Séquences d'amorces et de sondes, référence aux accessions et séquences dans les bases de données publiques (numéros de la banque de gènes), littérature
3.1	Amorces (et sondes) pour détecter l'allèle " 9 »		OUI	Séquences d'amorces correspondant au(x) allèle(s) pour l'expression " 9 » (résistance)
3.2	Amorces (et sondes) pour détecter l'allèle " 1 »		OUI	Séquences d'amorces correspondant à l'allèle ou aux allèles pour l'expression " 1 » (sensibilité)
3.3	Amorces (et sondes) pour détecter l'allèle " x »		OUI	Séquences d'amorces correspondant à l'allèle ou aux allèles pour l'expression " x »
4	Format du test			
4.1	Nombre de plantes par génotype	≥20	OUI	Nombre minimal de plantes individuelles requis : le test du marqueur est effectué sur le même nombre de plantes individuelles, avec les mêmes critères de distinction, d'homogénéité et de stabilité que pour l'examen du caractère par un test d'observation (documents TGP/9 et TGP/10).
4.2	Variétés témoins	<i>Voir TG/44/11/rev3 – Ad 51 : ii Test de marqueurs ADN ajouter 4.2</i>	OUI	Variétés témoins (les mêmes que dans l'essai d'observation) comme normes représentant toutes les combinaisons pertinentes d'allèles. Par exemple, homozygotes pour l'allèle correspondant à l'état d'expression 9 (présent), homozygotes pour l'allèle correspondant à l'état d'expression 1 (absent) et hétérozygotes (les deux allèles sont présents dans un diploïde) correspondant à la résistance, à la sensibilité ou à la résistance intermédiaire de la variété (selon la fonction du gène ; dominant - récessif). Les contrôles ADN peuvent être utilisés directement.
4.3	Contrôles de processus	<i>Par exemple, tampon utilisé pour l'extraction ; marqueur ciblant le gène de la cytochrome oxydase comme marqueur d'amplification interne.</i>	OUI	<ul style="list-style-type: none"> a) Contrôle(s) négatif(s) du processus b) Contrôle(s) ADN positif(s) pouvant être les variétés témoins c) Contrôle d'amplification interne en cas de marqueur de présence/absence

Chapitre	Éléments d'un protocole standard pour les marqueurs moléculaires spécifiques à un caractère	Exemple	Informations essentielles pour l'harmonisation	Remarque
5	Préparations	<i>Par exemple</i> , échantillonnage de plantules âgées de 4 jours suivi d'une extraction d'ADN à l'aide de la méthode CTAB	NON	Selon la méthode utilisée. Ne figure pas dans les lignes directrices pour les essais. Le ou les protocoles détaillés peuvent être fournis à titre d'exemple en annexe ou sur demande à l'organisme qui a mis au point le marqueur.
6	Technique de la méthode	<i>Par exemple</i> , PCR conventionnelle, TETRA-ARMS, qPCR, KASP, séquençage d'amplicons. <i>Voir TG/44/11/rev3 – Ad 51 : ii Test de marqueurs ADN ajouter 6</i>	OUI	.
6.1	Conditions particulières	<i>Par exemple</i> , protocole PCR décrivant les concentrations d'amorces, d'enzymes et de dNTP, schéma du cycle PCR.	NON	Selon la méthode utilisée. Ne figure pas dans les principes directeurs d'essai. Le ou les protocoles détaillés peuvent être fournis à titre d'exemple en annexe ou sur demande à l'institut qui a mis au point le marqueur.
6.2	Matériel ou infrastructure particuliers	<i>Par exemple</i> , machines, kits commerciaux, fabricants de composants, numéros de lot des produits chimiques.	NON	Selon la méthode utilisée. Ne figure pas dans les lignes directrices d'essai. Le ou les protocoles détaillés peuvent être fournis à titre d'exemple en annexe ou sur demande auprès de l'institut qui a mis au point le marqueur.
7	Observations	<i>Par exemple</i> , bandes sur gel d'agarose (PCR conventionnelle), valeurs Ct (qPCR), identification des variants basée sur les lectures de séquençage.	NON	Selon la méthode utilisée. Ne figure pas dans les lignes directrices relatives aux essais. Le ou les protocoles détaillés peuvent être fournis à titre d'exemple en annexe ou sur demande auprès de l'institut qui a développé le marqueur.
7.1	Validité des résultats	<i>Par exemple</i> , pour la qPCR, vérifier les courbes d'amplification exponentielles typiques. Vérifier si les contrôles sont conformes aux attentes (contrôles négatifs = aucun signal ; contrôles positifs = signaux attendus pour tous les fluorophores).	OUI	Selon la méthode utilisée.
8	Interprétation des résultats du test	<i>Voir TG/44/11/rev3 – Ad 51 : ii Test de marqueurs ADN ajouter 8</i>	OUI	Relation entre les allèles et les expressions (avec ses notes) Si le résultat du test de marqueurs ADN ne confirme pas la déclaration figurant dans le questionnaire technique, un essai en plein champ ou un test biologique doit être réalisé afin d'évaluer l'exactitude de la déclaration figurant dans le questionnaire technique.
9	Validation de la méthode	Ce protocole a été validé par un essai interlaboratoire avec différents laboratoires.	OUI	(<i>par exemple</i> , essai comparatif interlaboratoires INVITE 2024 817970 DOI 10.3030/817970)
9.1	Contacteur le bureau d'examen	<i>par exemple</i> Naktuinbouw	OUI	Coordonnées de l'institut qui a développé ce protocole, nom du service.

VI. ENQUÊTE DE SUIVI APRÈS APPROBATION

33. La validation du marqueur n'est pas définitive, car de nouvelles caractéristiques génétiques peuvent apparaître sur le marché. Il s'agit d'un processus d'évaluation continu. La spécificité doit être réévaluée après l'acceptation de la validation à l'aide de tests parallèles (test de marqueur et bioessai) au moins pendant la première année avec une méthode d'observation.

34. Après la première année d'acceptation du protocole, des contrôles morphologiques doivent être effectués sur environ 10 % des nouvelles variétés.

VII. BIBLIOGRAPHIE

Arens P., Mansilla C., Deinum D., Cavellini L., Moretti A., Rolland S., van der Schoot H., Calvache D., Ponz F., Collonnier C., Mathis R., Smilde D., Caranta C. ; Vosman B., 2010 : Développement et évaluation de marqueurs moléculaires robustes liés à la résistance aux maladies chez la tomate pour les tests de distinction, d'uniformité et de stabilité.
Génétique théorique et appliquée 120(3). pp. 655-64

Langton, S.D., Chevennement, R., Nagelkerke, N. et Lombard, B. (2002). Analyse d'essais collaboratifs pour des méthodes microbiologiques qualitatives : conformité et concordance. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 175-181

[Fin de l'annexe et du document]