

Compte-rendu réunion validation des ressources génétiques du 3-10-17

Présents : H Baudot (MC), J Garcia (MC), T Dessup (MC), A Gojon(INT), J Boucherez(INT), F Divol(PLA), I Chérel (Kaliphruit), A Medici (Honude), F Gosti (Mtx), N Berger (Feros), O Richard (TSF), C Tournaire (Aqua)

Absents : TICER et ELSA

Ordre du jour : Point sur le renouvellement de stocks sûrs de lignées de références Col et WS et la vérification des fonds génétiques

1 : renouvellement des stocks de lignées de référence Col et WS

Les graines N60000 (Col-8) , N8846 (Col-3) et N5390 (WS-4) reçues du NASC en avril 2017 ont été semées par le service culture : 10 plantes en pot individuel / génotype sur des tablards isolés.

- Une partie des plantes (8 Col-8, 4 Col-3, 4 WS-4) ont été vérifiées par SNAP-PCR avec un set de 10 primers permettant de distinguer Col et WS.
Les résultats d'amplification, bien que parfois incomplets confirment les fonds génétiques Col ou WS et valident ces stocks.
- Une plante de chaque lignée confirmée pour tous les primers a été choisie (Col-8 pl5, Col-3 pl6 et WS-4 pl1) pour ré-amplification et constitution de nouveaux stocks en barquettes : 4 barquettes de chaque génotype semées en serre par le service culture (tablards isolés).

Un aliquot des graines récoltées ont été distribuées aux équipes.

Le comité décide que :

- **ces stocks sont distribués aux équipes comme stocks de référence à utiliser pour les constructions futures et ré-amplifiés éventuellement par leurs soins pour leurs besoins.** (Bien veiller à les identifier clairement pour ne pas les confondre avec les anciens stocks et à ne pas confondre Col-8 et Col-3, garder le N° d'identifiant N60000 ou N8846 et la date du stock, identifier le stock de départ en cas de ré-amplification...).
- **Une partie des stocks est aussi conservée par l'équipe Moyen de culture en cas de besoin de revenir à un stock sûr**
- **Tous les 2 ans, un nouveau stock de référence commun sera ré-amplifié par l'équipe Moyens de culture, à partir d'un nouveau lot obtenu du NASC plutôt que par ré-amplification des stocks actuels.**
- les 9 plantes de chaque génotype non sélectionnées à l'issue de la vérification pour réamplification et constitution du stock seront éliminées.

2 : Validation du fond génétique des ressources existantes dans l'unité

- **Primers pour SNAP-PCR :**

Un set de 10 primers (2 par chromosome) a été acheté pour vérifier l'identité génétique (Col vs WS) des plantes de l'unité par SNAP-PCR.

Les tests sur les plantes Col ou WS donnent des résultats satisfaisants pour distinguer Col de WS malgré des difficultés d'amplification avec certains couples de primers moins efficaces que d'autres.

Le comité décide que les primers disponibles dans l'équipe AQUA peuvent être distribués dans les équipes qui pourront se charger éventuellement d'ajuster les conditions d'amplification si nécessaire. (Les demander à C Tournaire)

Les primers les moins efficaces pourront être remplacés à l'avenir si des difficultés persistent. Les primers définis par Shao et al (Plant cell, 2016) sur les chromosomes 1, 3 et 5 peuvent aussi être utilisés en complément.

- Validation des plantes :

La méthode de SNAP-PCR utilisée pour vérifier différents lots de Col de l'équipe AQUA a révélé la présence d'au moins un lot invalide étiqueté « Col » mais s'avérant être au moins majoritairement WS.

Ce lot a été produit en 2005, conservé et utilisé ultérieurement.

Des tests complémentaires ont permis d'identifier l'utilisation probable de ce stock ou d'un de ses dérivés pour la construction de sur-expresssurs qui s'avèrent également être dans un fond majoritairement WS au lieu de Col présumé.

L'absence de traçabilité précise sur la provenance de ce lot et son utilisation ultérieure pose plusieurs questions :

- lot isolé ou ré-amplification d'un lot précédent déjà mal identifié? Ré-amplification ultérieure ?
- échange entre équipe ou pas, avant ou après mauvaise identification ?
- Mauvais étiquetage ou sélection pour amplification d'une plante individuelle, d'une graine contaminante WS dans une barquette de Col, ensuite ré-amplifiée ?

Conséquences :

- Evaluation de l'impact dans l'unité

L'unité doit évaluer l'impact de l'utilisation potentielle de ce lot de graines non valide.

Les équipes sont donc priées de vérifier leurs plantes (stocks anciens de Col et plantes produites), en priorité les plantes distribuées à l'extérieur, utilisées dans les programmes actuels ou présentant des phénotypes inattendus.

Une confrontation des résultats de vérification est souhaitée en fin d'année pour faire le bilan et définir la marche à suivre en cas de ressources non valides.

- Toutes les plantes peuvent être concernées, y compris celles produites par l'atelier transgénèse, les utilisateurs donnant leur propre lot de graines la plupart du temps.

- Devenir des plantes non valides :

La question se pose de savoir quelle stratégie adopter en cas d'identification de stocks de référence non valides mais qui sont les meilleurs contrôles de plantes transgéniques produites dans ces mêmes fonds génétiques. La nécessité de réfléchir à une façon pertinente de renommer ces lignées est soulignée et sera rediscutée.