



UPOV/INF/18/1

ORIGINAL : anglais

DATE : 20 octobre 2011

UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES
GENÈVE

**UTILISATION POSSIBLE DES MARQUEURS MOLECULAIRES
DANS L'EXAMEN DE LA DISTINCTION,
DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE (DHS)**

adopté par le Conseil
à sa quarante-cinquième session ordinaire
le 20 octobre 2011

TABLE DES MATIÈRES

1.	INTRODUCTION	3
2.	MODELES D'APPLICATION ÉVENTUELS	4
3.	ÉVALUATION DES MODELES D'APPLICATION ÉVENTUELS.....	6
3.1	Modèles avec une évaluation positive.....	6
	<i>Marqueurs moléculaires propres aux caractères (voir l'annexe 1).....</i>	<i>6</i>
	<i>Combinaison de distances phénotypiques et moléculaires pour gérer des collections de variétés (voir l'annexe 4)</i>	<i>7</i>
	<i>Étalonnage de distances moléculaires pour gérer des collections de variétés (voir l'annexe 2).....</i>	<i>7</i>
3.2	Modèles sans évaluation positive.....	8
	<i>Utilisation de caractères liés aux marqueurs moléculaires (voir l'annexe 3)</i>	<i>8</i>
	ANNEXE 1.....	1
	MODÈLE: MARQUEURS MOLÉCULAIRES PROPRES AUX CARACTÈRES	1
	EXEMPLE 1: Marqueur de gène concernant la tolérance aux herbicides.....	1
	ANNEXE 2.....	1
	MODELE : ETALONNAGE DE DISTANCES MOLECULAIRES POUR GERER DES COLLECTIONS DE VARIETES	1
	EXEMPLE 2 : COLZA	1
	EXEMPLE 3 : MAÏS	5
	EXEMPLE 4 : ROSIER	5
	ANNEXE 3.....	1
	MODELE : UTILISATION DE CARACTERES LIES AUX MARQUEURS MOLECULAIRES	1
	EXEMPLE 5 : ROSIER	1
	EXEMPLE 6 : BLÉ	3
	ANNEXE 4.....	1
	MODELE : COMBINAISON DE DISTANCES PHÉNOTYPIQUES ET MOLÉCULAIRES POUR GÉRER DES COLLECTIONS DE VARIETES	1
	EXEMPLE : LIGNÉES PARENTALES DU MAÏS	1

1. INTRODUCTION

1.1 L'objet du présent document est de fournir des indications sur l'utilisation possible des marqueurs biochimiques et moléculaires dans l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité (DHS). Les seules obligations impératives pour les membres de l'Union sont celles qui figurent dans le texte de la Convention UPOV proprement dite; les notes explicatives ne doivent pas être interprétées d'une manière qui ne serait pas conforme à l'acte pertinent pour le membre de l'Union concerné.

1.2 Des modèles d'application éventuels aux fins de l'utilisation des marqueurs biochimiques et moléculaires dans l'examen DHS sont proposés au Sous-groupe *ad hoc* d'experts techniques et juridiques sur les techniques biochimiques et moléculaires (Groupe de réflexion sur les travaux du BMT) (voir <http://www.upov.int/about/fr/organigram.html>) par le Comité technique, sur la base des travaux du Groupe de travail sur les techniques biochimiques et moléculaires, notamment les profils d'ADN (ci-après dénommé "BMT") et des sous-groupes *ad hoc* sur les techniques moléculaires (sous-groupes sur les plantes cultivées) (voir <http://www.upov.int/about/fr/organigram.html>).

1.3 Le mandat du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT est le suivant :

**MANDAT DU SOUS-GROUPE AD HOC D'EXPERTS TECHNIQUES
ET JURIDIQUES SUR LES TECHNIQUES BIOCHIMIQUES
ET MOLÉCULAIRES
("GROUPE DE RÉFLEXION SUR LES TRAVAUX DU BMT")**

1. Le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT évaluera les modèles proposés par le Comité technique, sur la base des travaux du BMT et des sous-groupes sur les plantes cultivées, en ce qui concerne l'application des techniques biochimiques et moléculaires à l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité, notamment sous les aspects suivants :

- a) conformité avec la Convention UPOV, et
- b) incidences possibles sur la qualité de la protection par rapport à celle que peuvent offrir les méthodes d'examen actuelles; le sous-groupe donnera aussi son avis sur le point de savoir si cela risque de nuire à la valeur de la protection offerte dans le cadre du système de l'UPOV.

2. Lors de son travail d'évaluation, le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT pourra renvoyer l'examen de certains aspects au Comité administratif et juridique ou au Comité technique pour obtenir des précisions ou des informations supplémentaires, selon que de besoin.

3. Le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT fera rapport au Comité administratif et juridique sur son évaluation visée au paragraphe 1, étant entendu cependant que cette évaluation n'engagera pas le Comité administratif et juridique.

1.4 Sur la base de l'évaluation du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT, le TC et le CAJ proposent des indications pour inclusion dans le présent document, qui est adopté par le Conseil.

1.5 Les abréviations ci-après sont utilisées dans le présent document :

CAJ :	Comité administratif et juridique
TC :	Comité technique
TC-EDC :	Comité de rédaction élargi
TWA :	Groupe de travail technique sur les plantes agricoles
TWC :	Groupe de travail technique sur les systèmes d'automatisation et les programmes d'ordinateur
TWF :	Groupe de travail technique sur les plantes fruitières
TWO :	Groupe de travail technique sur les plantes ornementales et les arbres forestiers
TWV :	Groupe de travail technique sur les plantes potagères
TWP :	Groupe de travail technique
BMT :	Groupe de travail sur les techniques biochimiques et moléculaires, notamment les profils d'ADN
Groupe de réflexion sur les travaux du BMT :	Sous-groupe <i>ad hoc</i> d'experts techniques et juridiques sur les techniques biochimiques et moléculaires
Sous-groupe sur les plantes cultivées :	Sous-groupe <i>ad hoc</i> sur l'application des techniques moléculaires aux plantes cultivées

2. MODELES D'APPLICATION ÉVENTUELS

2.1 Les modèles ci-après ont été élaborés par les sous-groupes sur les plantes cultivées (voir le document BMT/7/2), le BMT (voir les paragraphes 42 à 52 des documents BMT/7/3 et BMT/7/19 "Compte rendu") et le TC (voir le document TC/38/14-CAJ/45/5) pour examen par le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT à sa réunion du 16 avril 2002 :

Marqueurs moléculaires propres aux caractères

(Titre dans le document TC/38/14-CAJ/45/5)

Option 1 : Caractères moléculaires en tant que prédictors de caractères traditionnels :

- a) Utilisation de caractères moléculaires qui sont directement liés à des caractères traditionnels (marqueurs de gènes)

Les sous-groupes sur les plantes cultivées ont noté que les marqueurs moléculaires qui sont directement liés à des caractères traditionnels peuvent être utiles pour l'examen des caractères traditionnels qui ne peuvent pas être observés de façon harmonisée ou facilement sur le terrain ou qui requièrent des protocoles spéciaux supplémentaires (p. ex. des caractères de résistance aux maladies).

Le BMT a spécifiquement proposé d'examiner l'acceptabilité des marqueurs de gènes afin de prédire les caractères phénotypiques individuels. Le caractère de tolérance aux herbicides obtenu par modification génétique est retenu comme exemple. La recommandation doit être faite en se fondant sur l'existence d'une corrélation fiable entre le marqueur et l'expression du caractère. En examinant cet [...] [exemple], le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT est invité à formuler une recommandation sur l'acceptabilité des différences entre variétés basée sur l'usage des différents marqueurs mis au point par rapport à l'expression phénotypique du caractère observé.

- voir l'annexe 1

Étalonnage de distances moléculaires pour gérer des collections de variétés

(Titre dans le document TC/38/14-CAJ/45/5)

Option 2: Étalonnage de seuils concernant les caractères moléculaires par rapport à l'écart prévu pour les caractères traditionnels

Les sous-groupes sur les plantes cultivées ont mis au point ce [...] [modèle] dans le but de veiller à ce qu'il n'y ait pas de changement significatif des écarts minimaux caractéristiques mesurés par les caractères traditionnels. Toutefois, ils ont noté qu'en l'absence de relation claire entre les écarts basés sur des marqueurs moléculaires et ceux basés sur des caractères traditionnels, il est alors nécessaire d'examiner la façon de gérer les décisions potentiellement différentes sur la distinction. Le cadre d'une analyse des répercussions a été défini : la comparaison des décisions basées sur des caractères traditionnels avec les décisions basées sur des [...] [marqueurs] moléculaires et l'analyse des différentes décisions fondées sur des [...] [marqueurs] moléculaires sur la valeur de la protection. La question essentielle est de savoir si les paires de variétés, qui ne sont pas considérées comme étant distinctes au moyen des caractères traditionnels, le seraient au moyen des [...] [marqueurs] moléculaires et si ces décisions seraient acceptables pour conserver la valeur de la protection.

Le BMT a préconisé que des [...] [exemples] spécifiques concernant ce modèle soient présentés sur la base d'informations relatives au colza, au maïs et au rosier. Ces [...] [exemples] devront être analysés sur la base d'une évaluation de l'écart génétique, plutôt qu'en suivant une méthode caractère par caractère, et seront envisagés aux fins de la gestion des collections de référence.

- voir l'annexe 2

Utilisation de caractères liés aux marqueurs moléculaires

(Titre dans le document TC/38/14-CAJ/45/5)

Option 3 : Élaboration d'un nouveau système

Les sous-groupes sur les plantes cultivées ont estimé que, selon cette approche, des différences clairement reconnaissables basées sur des [...] [marqueurs] moléculaires devraient être considérées comme des seuils pour estimer la distinction. Ils ont fait observer que l'impact du nouveau système, en comparaison avec le système existant, doit être analysé, p. ex. au moyen d'un examen des différences éventuelles de décisions.

Le BMT a préconisé que des [...] [exemples] spécifiques concernant ce modèle soient présentés sur la base de [...] [l'exemple] analysé au sein du sous-groupe sur le rosier et sur la base des informations obtenues à partir du blé. Ce [...] [modèle] sera fondé sur l'utilisation des [...] [marqueurs] moléculaires de la même façon que celles basées sur des [...] [marqueurs] non moléculaires existants.

- voir l'annexe 3

2.2 L'évaluation réalisée par le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et les opinions du TC et du CAJ sur ces modèles sont présentées dans la section 3 du présent document.

2.3 Le modèle ci-après a été examiné par les sous-groupes sur les plantes cultivées (voir le document BMT/7/2), le BMT (voir les paragraphes 42 à 52 des documents BMT/7/3 et BMT/7/19 "Compte rendu") et le TC (voir le document TC/38/14-CAJ/45/5) mais aucun exemple n'a été soumis à l'examen du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT à sa réunion du 16 avril 2002 :

[...] [Marqueurs] moléculaires en tant que prédictors de caractères traditionnels :
[...] Utilisation d'une série de [...] [marqueurs] moléculaires qui peuvent être utilisés de façon fiable afin d'apprécier les caractères traditionnels; p. ex. les loci quantitatifs

Les sous-groupes sur les plantes cultivées ont examiné un [...] [exemple] développé dans le but de prédire les différences basées sur des caractères traditionnels au moyen d'une fonction linéaire d'une série de [...] [marqueurs] moléculaires.

Le BMT a estimé qu'un [...] [exemple] fondé sur cette approche ne devrait pas être présenté à ce moment, mais il a été souligné que les travaux sur cette approche étaient en cours.

2.4 Le modèle ci-après, établi par des experts de la France, a été adopté par le Sous-groupe sur le maïs (voir les paragraphes 8 à 10 et 19 des documents BMT-TWA/Maize/2/11 et BMT-TWA/Maize/2/12 "Compte rendu"), le BMT (voir les paragraphes 59 à 65 des documents BMT/10/14, BMT/10/14 Add. et BMT/10/19 "Compte rendu"), le Groupe de travail technique sur les plantes agricoles (TWA) (voir les paragraphes 36 à 40 du document TWA/37/14 "Compte rendu") et le TC (voir les paragraphes 51 et 52 du document TC/45/15 "Compte rendu") en vue de son examen par le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT à sa réunion du 1^{er} avril 2009 :

Combinaison de distances phénotypiques et moléculaires pour gérer des collections de variétés

- voir l'annexe 4

2.5 L'évaluation réalisée par le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et les opinions du TC et du CAJ sur le modèle sont présentées dans la section 3 du présent document.

3. ÉVALUATION DES MODELES D'APPLICATION ÉVENTUELS

3.1 MODELES AVEC UNE EVALUATION POSITIVE

Marqueurs moléculaires propres aux caractères (voir l'annexe 1)

3.1.1 À sa réunion du 16 avril 2002, le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT a examiné des exemples d'utilisation de techniques biochimiques et moléculaires figurant dans l'annexe du document TC/38/14-CAJ/45/5. Elle en a conclu ce qui suit en ce qui concerne l'exemple reproduit dans l'annexe 1 du présent document. (Modèle : "Marqueurs moléculaires propres aux caractères")¹:

Sur la base des hypothèses décrites, "[...] l'[exemple] 1 [...] a été déclaré acceptable selon les termes de la Convention UPOV et ne nuira pas à la valeur de la protection

¹ Par ailleurs, le secrétaire général adjoint a aussi formulé les remarques générales ci-après à propos de la réunion du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT tenue le 16 avril 2002. Premièrement, les possibilités d'accès aux techniques protégées par brevet suscitent des inquiétudes. Deuxièmement, le groupe a souligné qu'il importait d'examiner la rentabilité de toute nouvelle méthode. Troisièmement, l'importance que revêt la corrélation entre les caractères phénotypiques et les techniques moléculaires a aussi été examinée. Enfin, il a été souligné qu'il importait d'examiner l'homogénéité et la stabilité en fonction des mêmes caractères que ceux qui sont utilisés pour établir la distinction (voir le paragraphe 4 du document TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add).

offerte par le système de l'UPOV" (voir le paragraphe 3 du document TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add.).

3.1.2 Le TC a examiné les conclusions du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et est convenu que l'exemple 1 pouvait être développé sur la base des hypothèses tout en reconnaissant la nécessité de plus amples travaux aux fins de l'examen de ces hypothèses (voir le paragraphe 5 du document TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add.).

3.1.3 Le CAJ a souscrit aux conclusions du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et a fait sien l'avis du TC (voir le paragraphe 7 du document TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add.).

3.1.4 Aux fins de l'examen du modèle et de l'exemple, tels que figurant dans l'annexe 1 du présent document, le TC a souligné l'importance du respect de ces hypothèses. À cet égard, il a expliqué qu'il s'agissait d'une question que l'administration compétente devait examiner pour vérifier qu'il satisfait aux hypothèses (voir le paragraphe 152 du document TC/45/16 "Compte rendu").

Combinaison de distances phénotypiques et moléculaires pour gérer des collections de variétés (voir l'annexe 4)

3.1.5 À sa réunion du 1^{er} avril 2009, (voir les paragraphes 12 et 13 du document BMT-RG/Apr09/3 "Compte rendu"), le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT

a) a conclu que l'"[...] [exemple] figurant à l'annexe du document BMT-RG/Apr09/2 '[...] Système permettant la combinaison de distances phénotypiques et moléculaires pour gérer des collections de variétés' (intégrant les précisions énoncées dans les paragraphes 7 et 8 du document BMT-RG/Apr09/3 'Compte rendu'), [reproduite dans l'annexe 4 du présent document], lorsque utilisé pour la gestion de collections des variétés, était acceptable selon les termes de la Convention de l'UPOV et ne nuirait pas à la valeur de la protection offerte par le système de l'UPOV"; et

b) est convenu que l'exemple ci-dessus "constituait un modèle susceptible d'être appliqué à d'autres cultures pour autant que les éléments de [...] l'[exemple] soient également applicables. À cet égard, le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT a relevé par exemple que [...] l'[exemple] ci-dessus ne s'appliquait qu'aux lignées parentales du maïs et ne s'étendait pas à d'autres types de variétés de maïs. Le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT a conclu qu'il était important de déterminer au cas par cas si le modèle serait applicable."

3.1.6 Le CAJ a approuvé les recommandations du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT, telles qu'elles apparaissaient ci-dessus (voir les paragraphes 53 et 54 du document CAJ/60/11 "Compte rendu").

3.1.7 Le TC a noté que le CAJ avait approuvé les recommandations du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et fait siennes les recommandations dudit groupe, telles qu'elles sont exposées ci-dessus (voir le paragraphe 42 du document TC/46/15 "Compte rendu des conclusions").

Étalonnage de distances moléculaires pour gérer des collections de variétés (voir l'annexe 2)

3.1.8 Le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT s'est réuni le 16 avril 2002 pour examiner des exemples d'utilisation de techniques biochimiques et moléculaires figurant dans l'annexe du document TC/38/14-CAJ/45/5. Il en a conclu ce qui suit en ce qui concerne les

exemples reproduits dans l'annexe 2 du présent document (Modèle : "Étalonnage de la distance moléculaire")¹:

"Les [...] [exemples] 2, 3 et 4 ([...] Étalonnage des seuils concernant les [...] [marqueurs] moléculaires par rapport à l'écart minimum prévu pour les caractères traditionnels pour le colza, le maïs et le rosier, respectivement), lorsqu'elles sont mises en œuvre dans le cadre de la gestion des collections de référence, sont, compte tenu des hypothèses formulées dans les [...] [exemples], compatibles avec la Convention UPOV et ne nuiront pas à la valeur de la protection octroyée en vertu du système de l'UPOV."

3.1.9 Le TC a examiné les conclusions du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et est convenu de poursuivre l'examen des exemples 2, 3 et 4 compte tenu des hypothèses, tout en reconnaissant que l'examen de ces hypothèses nécessite un travail approfondi et que la corrélation entre les écarts morphologiques et moléculaires doit être recherchée.

3.1.10 Le CAJ a approuvé les conclusions du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et a fait sienne l'opinion du TC (voir le paragraphe 7 du document TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add.).

3.1.11 Examinant le modèle et l'exemple, tels que présentés dans l'annexe 2 du présent document, le TC a souligné l'importance de satisfaire aux hypothèses. À cet égard, il a expliqué qu'il s'agissait d'une question que l'administration compétente devait examiner pour vérifier qu'il est satisfait aux hypothèses (voir le paragraphe 152 du document TC/45/16 "Compte rendu").

3.2 MODELES SANS EVALUATION POSITIVE

Utilisation de caractères liés aux marqueurs moléculaires (voir l'annexe 3)

3.2.1 Le Groupe de réflexion sur les travaux du BMT s'est réuni le 16 avril 2002 pour examiner des exemples d'utilisation de techniques biochimiques et moléculaires figurant dans l'annexe du document TC/38/14-CAJ/45/5. Il en a conclu ce qui suit en ce qui concerne les exemples figurant dans l'annexe 3 du présent document (Modèle : "Utilisation de caractères des marqueurs moléculaires") :

"En ce qui concerne [...] l'[exemple] 5 ([...] Rosier) et [...] l'[exemple] 6 ([...] Blé), il a été noté l'absence d'un consensus quant à l'acceptabilité de ces [...] [exemples] au regard de la Convention UPOV, et également l'absence d'un consensus quant à la question de savoir si elle nuirait à la valeur de la protection octroyée en vertu du système de l'UPOV. Il a été considéré comme préoccupant que, dans le cadre de ces [...] [exemples], compte tenu de la méthode utilisée, il soit possible d'utiliser un nombre illimité de marqueurs pour trouver des différences entre les variétés. Il a également été considéré comme préoccupant que des différences soient établies au niveau génétique mais n'apparaissent pas dans les caractères morphologiques."

3.2.2 Le TC a examiné les conclusions du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et a fait siennes ses conclusions. Il a noté la divergence des points de vue exprimés en ce qui concerne les exemples 5 et 6 (voir le paragraphe 5 du document TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add.).

3.2.3 Le CAJ a adopté les conclusions du Groupe de réflexion sur les travaux du BMT et a fait sien l'avis du TC (voir le paragraphe 7 du document TC/38/14 Add.-CAJ/45/5 Add.).

[Les annexes suivent]

ANNEXE 1

MODÈLE: MARQUEURS MOLÉCULAIRES PROPRES AUX CARACTÈRES**EXEMPLE 1: MARQUEUR DE GÈNE CONCERNANT LA TOLÉRANCE
AUX HERBICIDES***établi par des experts de la France***Exemple**

1. Une variété est génétiquement modifiée par l'insertion d'un gène conditionnant la tolérance à la "formule X" d'un herbicide donné. Les variétés comportant ce gène restent intactes lorsqu'elles sont pulvérisées avec la formule X, tandis que celles qui en sont dépourvues meurent systématiquement lorsqu'elles sont pulvérisées avec l'herbicide en question. La tolérance à la formule X, examinée dans le cadre d'essais en plein champ au moyen de l'aspersion des parcelles, est un caractère DHS agréé, et elle peut donc être utilisée pour déterminer la distinction entre des variétés.

2. Au lieu de pulvériser les variétés en plein champ (ce qui est difficile à réaliser dans le cadre de l'examen DHS normalisé), il est proposé d'examiner le caractère "tolérance à la formule X" en procédant à un essai pour mettre en évidence la présence d'un marqueur moléculaire *lié* à ce gène. Ce marqueur est situé sur une partie du gène "chimère". Le gène "chimère" se compose de tous les éléments qui sont insérés dans la plante au cours de la modification génétique et contient, en outre, des éléments supplémentaires permettant de réguler le gène une fois dans la plante. Le marqueur peut être situé dans le gène, en partie sur le gène ou encore à l'extérieur de celui-ci.

Hypothèses à formuler aux fins de l'exemple

3. On part des hypothèses suivantes :

a) Examen DHS

On suppose que l'essai concernant le marqueur sera réalisé dans les mêmes conditions que l'essai en plein champ, autrement dit qu'il sera effectué pour le même nombre de plantes individuelles, pendant le même nombre d'années et avec les mêmes critères de distinction, d'homogénéité et de stabilité.

b) Fiabilité de la corrélation

On suppose que la corrélation entre le marqueur et le gène sera vérifiée afin de s'assurer que le marqueur est un prédicteur fiable de la tolérance à la formule X. Cette vérification serait nécessaire pour garantir, par exemple, que le marqueur ne se sépare pas du gène et que la présence de ce gène continue de se traduire par la tolérance à la formule X.

c) Création de marqueurs moléculaires différents pour le même gène

Il serait possible de créer des gènes chimères différents contenant le gène de la tolérance à la formule X et d'identifier pour chacun de ces gènes chimères des marqueurs moléculaires indépendants qui seraient tous liés à exactement le même gène de la tolérance à la formule X. Dès lors que tous les marqueurs différents pour le même gène seraient admis comme autant de méthodes différentes pour l'examen du *même caractère phénotypique existant*, ce procédé serait considéré de la même façon dans tous les cas. Aux fins de l'utilisation de "[...] [marqueurs] moléculaires en tant que prédicteurs de caractères traditionnels", il faut poser comme principe que les marqueurs correspondent à un caractère traditionnel, c'est-à-dire à un caractère approuvé existant. Par conséquent, on suppose que des marqueurs différents pour le même gène seront traités comme autant de différentes méthodes pour l'examen du même caractère, à savoir la tolérance à la formule X.

d) Gènes différents à l'origine de la tolérance au même herbicide

Il serait possible de créer des gènes différents à l'origine de la tolérance à la formule X. Dans le cas le plus simple, ce procédé pourrait être considéré de la même manière que celui qui consiste à créer des marqueurs différents pour le même gène, c'est-à-dire que les différents gènes, assortis de leur marqueur correspondant, seraient considérés comme étant différentes méthodes d'examen du même caractère, à savoir la tolérance à la formule X. Toutefois, il est probable que les différents gènes produisent la tolérance à la formule X selon un mécanisme chimique différent. Par conséquent, les composants chimiques produits par ces gènes seront différents et ils pourraient servir de base à l'établissement de la distinction dans certains cas. Il n'en sera pas moins nécessaire, dans le cadre du présent modèle, d'approuver tout d'abord ces composants chimiques en tant que caractères UPOV, avant d'accepter les marqueurs moléculaires liés à ces caractères éventuels. Cela ferait alors l'objet d'un exemple indépendant. Par conséquent, on suppose que des gènes différents seront traités comme autant de différentes méthodes pour l'examen du même caractère, à savoir la tolérance à la formule X.

e) Gènes chimères différents à l'origine de la tolérance au même herbicide, mais présentant un contrôle de l'expression différent

Il est aussi possible de créer des gènes chimères différents comportant le même gène de la tolérance à la formule X, mais présentant des éléments de régulation différents. Par exemple, les éléments de régulation peuvent se manifester par l'activation de la tolérance à la formule X seulement à certains stades du développement. Par souci de simplicité, lorsqu'on envisage cet exemple, on suppose que les différents marqueurs liés à différents éléments de régulation pour le même gène seront tous traités comme autant de méthodes différentes pour l'examen du même caractère de tolérance à la formule X. Néanmoins, on part aussi du principe que cette question sera examinée plus avant à un stade ultérieur.

[L'annexe 2 suit]

ANNEXE 2

**MODELE : ETALONNAGE DE DISTANCES MOLECULAIRES
POUR GERER DES COLLECTIONS DE VARIETES**

EXEMPLE 2 : COLZA

établi par des experts de la France

Exemple

1. [Le présent modèle] est fondé sur un étalonnage des seuils concernant les marqueurs moléculaires par rapport aux seuils prévus pour les caractères traditionnels, et principalement sur les données obtenues en France sur le maïs, le colza et le rosier. Dans le présent exemple, les seuils prévus pour les caractères traditionnels sont calculés selon une évaluation de l'écart global et non selon une méthode caractère par caractère et l'exemple est mis en œuvre dans le cadre de la "gestion des collections de référence". Dans ce contexte, les termes "gestion des collections de référence" englobent en particulier la sélection des variétés notoirement connues qui peuvent être exclues de l'essai en culture réalisé aux fins de l'examen de la distinction, sur la base de la comparaison des descriptions harmonisées. Ce processus d'élimination des variétés notoirement connues avant l'essai en culture présente un aspect déterminant : le seuil permettant de déterminer quelles variétés peuvent être exclues sans risque (c'est-à-dire quelles variétés sont distinctes d'après les descriptions) peut être fixé avec une marge de sécurité appropriée, puisque les variétés qui ne sont pas éliminées, bien que distinctes en fait, seront nécessairement détectées au cours de l'essai en culture. Ce seuil assorti d'une marge de sécurité est dénommé le seuil de "distinction plus" dans le cadre du présent exemple dont l'objet est de définir un seuil de distinction plus pour les marqueurs moléculaires.

Calcul de l'écart prévu pour les caractères traditionnels

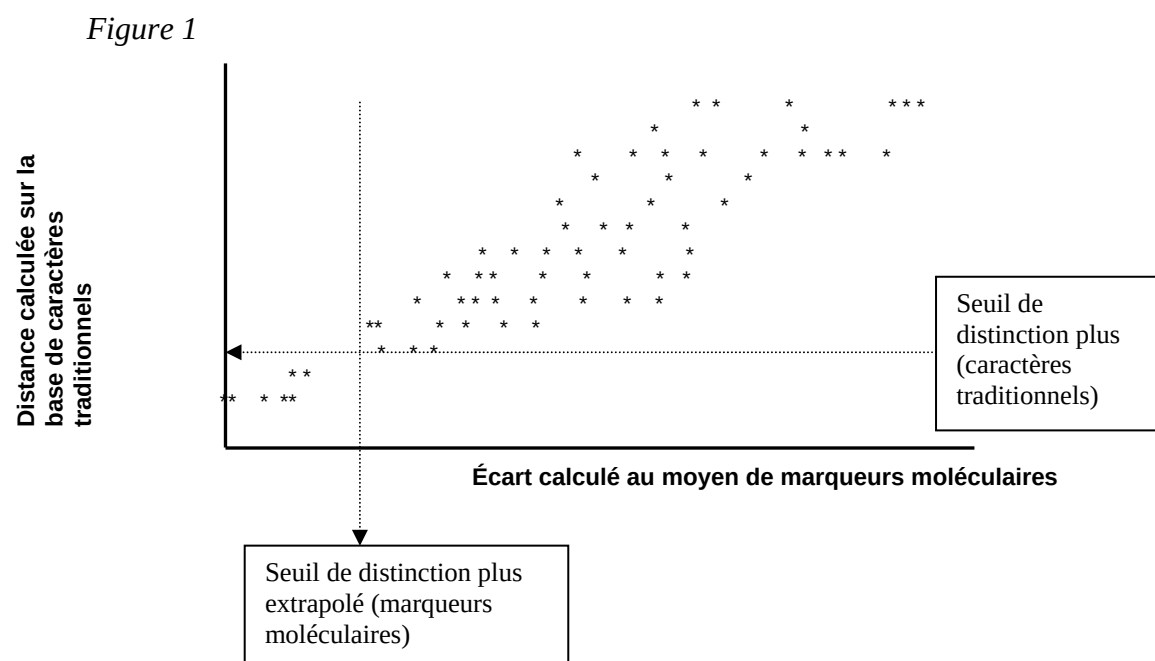
2. Il convient dans un premier temps de considérer comment calculer l'écart entre les variétés au moyen des caractères traditionnels. Le présent exemple est fondé sur une méthode faisant appel au logiciel GAÏA mis au point par la France. Cette méthode consiste à estimer la différence phénotypique entre deux variétés sur la base de la somme des différences observées pour les différents caractères. Chaque différence observée est pondérée par le phytotechnicien en fonction de la valeur de la différence en question et de la fiabilité de chaque caractère.

Calcul des différences prévues pour les marqueurs moléculaires

3. Dans le cadre du présent exemple, on calcule la différence entre les variétés sur la base des données obtenues à partir de marqueurs moléculaires en utilisant les distances de Rogers.

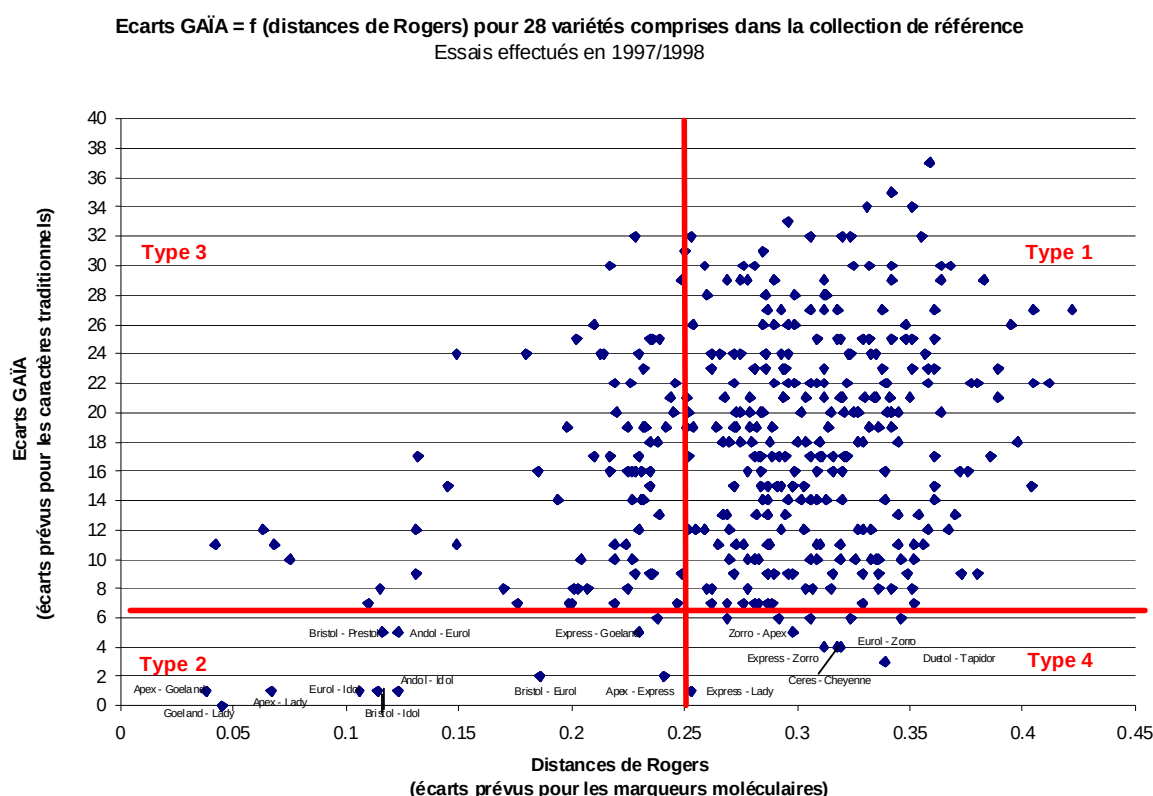
Étalonnage des seuils concernant les marqueurs moléculaires par rapport à l'écart minimal prévu pour les caractères traditionnels

4. L'étalonnage des seuils concernant les différences relatives aux marqueurs moléculaires par rapport aux différences relatives aux caractères traditionnels serait simple si ces deux méthodes de calcul des différences entre les variétés étaient étroitement corrélées. Dans un tel cas, un graphique des résultats obtenus selon ces deux méthodes correspondrait à celui donné à la figure 1. Le seuil de distinction plus prévu pour les marqueurs moléculaires pourrait être extrapolé à partir du seuil de distinction plus prévu pour les caractères traditionnels, de telle sorte que les décisions prises seraient les mêmes quelle que soit la méthode employée pour évaluer les différences entre les variétés.



5. Toutefois, dans le cas du colza, cette corrélation est plus faible comme le montre la figure 2. On constate en effet que lorsque le seuil de distinction plus est fixé pour les marqueurs moléculaires, des décisions concernant certaines variétés seront différentes selon la méthode utilisée pour calculer les différences. Les incidences de cette situation sont analysées dans la partie intitulée "Incidences éventuelles".

Figure 2



Hypothèses à formuler aux fins de l'exemple

6. On part des hypothèses suivantes :

a) Homogénéité et stabilité

Les conditions d'homogénéité et de stabilité applicables aux marqueurs moléculaires n'ont pas été abordées dans le présent exemple. Toutefois, les données disponibles laissent penser que la variabilité concernant les marqueurs moléculaires au sein des variétés semble être plus élevée que celle qui a été observée pour les caractères traditionnels. On suppose que les différences entre les variétés calculées au moyen de marqueurs moléculaires prennent pleinement en considération la variation au sein des variétés. On suppose aussi que des normes d'homogénéité appropriées pourraient être élaborées pour les marqueurs moléculaires sans que les variétés aient besoin en règle générale d'être plus homogènes. Cette hypothèse est valable à condition que l'on utilise des marqueurs moléculaires pour fixer un seuil de "distinction plus", en fonction de la distance génétique et dans le cadre des collections de référence, et non pour apprécier la distinction selon une méthode caractère par caractère.

b) Champ d'application de l'exemple

Comme il a été expliqué dans l'introduction, il est entendu que l'exemple serait utilisé uniquement aux fins de la fixation d'un seuil de "distinction plus" dans le cadre de la gestion des collections de référence.

c) Fiabilité des techniques

On suppose que ces techniques remplissent toutes les conditions normales concernant tout caractère à utiliser aux fins de l'examen DHS et, en particulier, qu'elles sont vérifiées de façon à s'assurer qu'elles sont suffisamment cohérentes et susceptibles d'être répétées.

Incidences éventuelles

8. Le graphique donné à la figure 2 met en évidence les façons dont cet exemple pourrait avoir une incidence sur la qualité de la protection. En résumé, la situation peut être représentée comme suit :

	Distinction plus (Caractères traditionnels)	Distinction plus (Marqueurs moléculaires)
Type 1	Oui	Oui
Type 2	Non	Non
Type 3	Oui	Non
Type 4	Non	Oui

9. Pour les variétés de types 1 et 2, les résultats n'auraient pas eu d'incidence sur la qualité de la protection, étant donné qu'ils sont identiques quelle que soit l'une des deux méthodes utilisées.

10. Pour les variétés de type 3, les résultats n'auraient pas non plus eu d'incidence sur la qualité de la protection, étant donné que la distinction des variétés aurait été mise en évidence grâce à l'utilisation de caractères traditionnels au cours de l'essai en culture.

11. En revanche, pour les variétés de type 4, les résultats pourraient avoir une incidence sur la qualité de la protection, car ils pourraient faire apparaître des variétés comme étant distinctes que l'on n'aurait précédemment pas considéré comme telles. Pour déterminer si les résultats concernant les variétés de type 4 peuvent nuire à la valeur de la protection octroyée en vertu du système UPOV, il faudra analyser ces cas de figure.

12. À l'heure actuelle, des cas de type 4 ont été observés en ce qui concerne le colza (des exemples peuvent être fournis). Toutefois, ces cas ont trait seulement à des paires de variétés qui par la suite ont été identifiées comme étant distinctes au cours d'un essai en culture. Il est possible d'étudier l'incidence de décisions différentes quant à la distinction seulement dans les cas où des variétés ne sont pas considérées comme étant distinctes au cours de l'essai en culture. Cela supposerait d'analyser des paires de variétés dont on a considéré qu'elles n'étaient pas distinctes par le passé, ou, si ce type de matériel n'est pas disponible, d'examiner les variétés candidates dans le cadre des deux systèmes fonctionnant "en parallèle" et en temps réel. Il serait alors possible de découvrir si l'un quelconque des cas considérés se produirait et si cela aurait pour effet de nuire à la valeur de la protection. S'il est établi que ces cas nuiraient à la valeur de la protection, il serait alors possible de décider si un seuil suffisamment élevé pourrait être fixé de façon à éliminer ces cas sans pour autant se priver des avantages qu'offre cette méthode pour la gestion des collections de référence.

13. Il convient de reconnaître que les études de cas, envisagées aux paragraphes 10 et 11, ne permettraient pas d'estimer totalement l'incidence éventuelle de la méthode considérée, étant donné que les obtenteurs relèveraient du système d'examen DHS en vigueur. Il convient également d'étudier d'autres questions, par exemple, celle de savoir si le nouveau système

proposé, dans le cas où il serait accepté, permettrait de sélectionner plus facilement de nouvelles variétés entièrement à partir de variétés protégées existantes. Si tel était le cas, cela pourrait encourager les “obtenteurs” à tenter de sélectionner de nouvelles variétés de cette façon, alors qu’en vertu du système actuel ils n’auraient aucun intérêt à le faire puisque ces variétés ne seraient pas considérées comme distinctes. Il serait plus probable qu’une telle situation survienne si les critères d’homogénéité concernant les marqueurs moléculaires étaient plus faibles que ceux applicables aux caractères traditionnels.

EXEMPLE 3 : MAÏS

établi par des experts de la France

Le présent exemple pour le maïs est établi sur la même base que l’exemple pour le colza.

EXEMPLE 4 : ROSIER

établi par des experts de la France

Le présent exemple pour le rosier est établi sur la même base que l’exemple pour le colza.

[L’annexe 3 suit]

ANNEXE 3

**MODELE : UTILISATION DE CARACTERES LIES
AUX MARQUEURS MOLECULAIRES**

EXEMPLE 5 : ROSIER

établi par des experts des Pays-Bas

Exemple

1. Le principe du présent exemple est d'utiliser un ensemble de marqueurs moléculaires de la même façon que les caractères non moléculaires existants.

2. Une étude de 76 variétés de rosiers a permis de montrer que, à l'exception de paires de variétés mutantes, il était possible de distinguer toutes ces variétés au moyen d'un nombre limité de marqueurs moléculaires. Par ailleurs, lorsque les plantes individuelles d'un certain nombre de variétés ont été examinées, il a été constaté qu'elles étaient toutes homogènes. Les marqueurs STMS concernés ("*sequence tagged micro-satellite*" = marqueurs microsatellites étiquetés par une séquence) localisent certaines séquences répétées dans l'ADN d'une plante donnée. Au niveau des sites de ces marqueurs, l'ADN de la plante est amplifié et les fragments ainsi obtenus sont passés sur un gel qui permet de produire un ensemble de bandes ou de pics correspondant à chaque fragment. Les différentes configurations de bandes ou de pics découlant des mêmes marqueurs indiquent des différences entre les sites des marqueurs. Il convient de noter qu'il est improbable que ces séquences soient liées avec l'un quelconque des caractères existants prévus dans les principes directeurs d'examen et elles devraient être considérées comme étant des indicateurs de différences structurelles au niveau de l'ADN des plantes.

3. L'homogénéité de la configuration des bandes pour toutes les plantes d'une variété signifie qu'il serait possible d'établir la distinction entre les variétés sur la base d'une seule différence de bandes. Toutefois, une telle différence pourrait résulter d'une seule mutation, c'est-à-dire être accidentelle. C'est pour cette raison qu'il est proposé de considérer que les variétés sont nettement distinctes seulement s'il existe trois différences de bandes ou de pics entre les variétés.

4. La procédure proposée est la suivante :

Étape 1 : Utilisation d'un ensemble déterminé de sept marqueurs STMS (ensemble 1) pour l'examen de deux plantes d'une variété candidate, le but étant de déterminer si celles-ci se distinguent nettement de toutes les autres variétés.

Si l'utilisation de ce premier ensemble de marqueurs révèle que la variété candidate présente au moins trois différences de bandes ou de pics par rapport à toutes les autres variétés, la variété candidate serait considérée comme distincte. Elle ferait alors l'objet d'un essai en plein champ de façon à examiner l'homogénéité et la stabilité concernant les caractères non moléculaires pertinents. Dans les autres cas ou lorsqu'il manque certaines valeurs, on passerait à l'étape 2.

Étape 2 : Si après avoir utilisé le premier ensemble de marqueurs, on considère que la variété candidate n'est pas distincte, on procède à un essai avec un deuxième ensemble de sept autres marqueurs STMS (ensemble 2).

Si l'utilisation combinée des deux ensembles de marqueurs révèle que la variété candidate présente au moins trois différences de bandes ou de pics par rapport à toutes les autres variétés, la variété candidate serait considérée comme distincte. Elle ferait alors l'objet d'un essai en plein champ de façon à examiner l'homogénéité et la stabilité concernant les caractères non moléculaires pertinents. Dans les autres cas ou lorsqu'il manque certaines valeurs concernant les deux ensembles de marqueurs, on passerait à l'étape 3.

Étape 3 : Si après avoir utilisé les deux ensembles de marqueurs, on considère que la variété candidate n'est pas distincte, il serait probable que celle-ci corresponde à une variété existante ou qu'elle soit génétiquement très proche d'une variété existante, du fait par exemple d'une mutation. Ces variétés candidates seraient incluses dans l'essai en culture de façon à examiner la distinction ainsi que l'homogénéité et la stabilité au moyen de caractères non moléculaires.

Hypothèses à formuler aux fins de l'exemple

5. On part des hypothèses suivantes :

a) Examen DHS

On suppose que l'examen en plein champ portera sur le même nombre de plantes que celui actuellement retenu. Seules deux plantes seraient nécessaires pour procéder à l'examen au moyen des marqueurs STMS, étant donné que toute plante variante serait détectée au cours de l'examen ultérieur en plein champ. Il est possible de formuler cette hypothèse car le risque qu'une mutation survienne au niveau d'un site de marqueur et ne soit pas observée dans les caractères non moléculaires est extrêmement faible.

b) Fiabilité des techniques

On suppose que les marqueurs STMS remplissent toutes les conditions normales concernant tout caractère à utiliser aux fins de l'examen DHS et, en particulier, qu'ils seront vérifiés de façon à s'assurer qu'ils sont cohérents et susceptibles d'être répétés.

c) Homogénéité

On suppose que la situation observée dans le cadre de l'étude initiale en ce qui concerne l'homogénéité des variétés existantes serait la même que celle observée sur l'ensemble de la collection de variétés, ou qu'il existe seulement à de très rares occasions des différences de bandes entre les variétés.

Incidences éventuelles

7. Le présent exemple pourrait avoir une incidence éventuelle sur la qualité de la protection dans le cas où des variétés seraient considérées comme distinctes sur la base de cette méthode, alors qu'elles ne l'auraient pas été si on avait utilisé les caractères prévus dans les principes directeurs d'examen. Il ressort de l'étude initiale que ce cas de figure est

improbable, étant donné que les variétés les plus similaires qui sont considérées comme distinctes dans le cadre du système actuel (c'est-à-dire les paires de variétés mutantes) *ne* sont *pas* considérées comme telles lorsqu'on utilise les deux ensembles de marqueurs STMS.

8. Il a été indiqué précédemment que le phénomène de la mutation est un risque réel qui pourrait donner lieu à une variété "distincte" d'une variété existante si cette mutation survenait au niveau du site d'un marqueur STMS. Toutefois, ce risque est limité par la condition prévue dans le présent exemple : il faut des différences dans trois bandes pour pouvoir considérer qu'une variété est distincte si on utilise les ensembles de marqueurs STMS. Cela supposerait que trois mutations indépendantes se produisent et qu'elles se produisent toutes au niveau de sites de marqueurs. En admettant que le taux des mutations est de l'ordre de 1 sur 10 000, le risque qu'une plante présente trois mutations est de 1 sur 10 000³, soit 1 sur 1 000 000 000 000. De plus, étant donné que ces trois mutations doivent survenir au niveau de sites de marqueurs, il ne serait pas économiquement rationnel de procéder à la sélection de ce type de variants.

EXEMPLE 6 : BLÉ

établi par des experts du Royaume-Uni

Exemple

1. Le principe du présent exemple est d'utiliser un ensemble de marqueurs moléculaires pour le blé afin i) d'étoffer et d'organiser la collection de référence, et ii) de sélectionner les variétés candidates avant l'expérimentation en plein champ.

2. À l'heure actuelle, l'établissement de collections de référence varie considérablement d'un pays à l'autre. On estime que l'existence d'une base de données sur les profils d'ADN des variétés, utilisés selon la méthode exposée dans le présent exemple, permettrait d'améliorer cette situation et de renforcer la valeur du droit d'obtenteur.

3. Les décisions définitives concernant la distinction des variétés candidates pourraient être prises sur la base de la sélection au moyen de marqueurs moléculaires ou, si cette méthode n'est pas concluante, sur la base d'un ensemble réduit de caractères non moléculaires existants observés au cours d'essais en plein champ.

4. Une étude de 40 variétés de blé a permis de montrer que, à l'exception d'une paire de lignées-sœur, il est possible de distinguer toutes ces variétés au moyen de huit marqueurs microsatellites (simple séquence répétée, SSR). Les microsatellites sont des séquences d'ADN, hautement polymorphes, répétées en tandem et comportant une unité de répétition fondamentale (ou encore une région centrale) constituée de deux à huit paires de bases (par exemple, GA, CTT et GATA). Le polymorphisme des microsatellites est dû aux variations du nombre de copies de l'unité de répétition fondamentale. Dans le cas de diverses espèces cultivées, il a été observé que de nombreux microsatellites dans différentes variétés présentaient ce type de variations multiples ("allèles") du fait justement de ces variations dans le nombre de copies. Les microsatellites peuvent être analysés sous forme de sites STMS. Pour ce faire, il est nécessaire d'utiliser une paire d'amorces d'ADN (séquences courtes) qui sont adjacents aux microsatellites. L'amplification en chaîne par polymérase (ACP) de ces paires d'amorces permet d'amplifier la région du microsatellite. Il est alors possible de

séparer et de visualiser les différents allèles du site du microsatellite (“locus”) par électrophorèse ou au moyen de toute autre technique analytique.

5. Il convient de noter qu’il est improbable (mais pas impossible) que ces séquences microsatellites soient liées à des caractères UPOV existants. Toutefois, il est possible de cartographier ces séquences et de reconstituer ainsi leur patrimoine au travers des différents croisements. L’expression des allèles, sous forme de bandes sur un gel par exemple, n’est pas affectée par le milieu ni par le stade de développement de la plante.

6. Il est avéré que les huit marqueurs SSR localisent différents emplacements chromosomiques dans le génome du blé et qu’ils peuvent être examinés de façon fiable et répétée.

7. L’homogénéité des 40 variétés a été étudiée à partir des loci des huit marqueurs SSR. Il est ressorti de l’analyse préliminaire que l’homogénéité de la configuration des bandes pour toutes les plantes d’une variété dépend de la variété et du marqueur moléculaire. Pour 15 des 40 variétés considérées, aucune variation dans les configurations des bandes n’a été constatée pour aucun des huit marqueurs SSR dans 48 plantes. Huit autres variétés présentaient seulement un variant sur 48 plantes tandis que deux variétés présentaient une plante avec des allèles différents à deux loci. Cette analyse doit être achevée, mais elle permettra à terme de fournir une indication sur l’homogénéité des variétés protégées existantes au niveau de ces loci, c’est-à-dire sur ce que les obtenteurs de blé réalisent actuellement sans faire un effort particulier pour purifier les variétés en ce qui concerne ces caractères.

8. La procédure proposée est la suivante :

Étape 1 : Une variété candidate est reçue par le service d’examen. Son profil d’ADN est alors établi au moyen d’un ensemble de huit marqueurs SSR convenu et fixe.

Étape 2 : Les informations initiales fournies par le profil d’ADN sont utilisées pour déterminer si la variété candidate se distingue nettement des variétés notoirement connues ou pour déterminer de quelles variétés elle ne se distingue pas nettement (conformément aux critères convenus ci-dessous).

Étape 3 : Si on peut nettement la distinguer au moyen de cet ensemble de marqueurs, la variété candidate est considérée comme étant distincte. Un des critères pour déterminer la distinction pourrait être la présence d’un allèle différent à un locus de marqueur pour lequel la variété candidate et la variété de référence sont suffisamment homogènes. Toutefois, il est possible de prévoir une condition plus stricte (par exemple, des allèles différents à plusieurs loci, c’est-à-dire des différences au niveau de plusieurs marqueurs) même si cette méthode (dite de la “distinction plus”) diminuerait bien évidemment le pouvoir discriminant des marqueurs.

Étape 4 : La norme d’homogénéité sera fondée sur celle observée actuellement pour les variétés protégées (voir le paragraphe 7 ci-dessus), laquelle permettra à son tour de déterminer le nombre d’individus à analyser. Dans le cas où l’on adopte la méthode de la “distinction plus”, il faudra alors adapter de la même façon les critères d’homogénéité. Les plantes présentant une différence plus faible que celle retenue pour établir la distinction ne seraient pas considérées comme des variants aux fins de l’évaluation de l’homogénéité.

- Étape 5 : Les variétés candidates qui ne sont pas suffisamment homogènes en ce qui concerne aucun des huit marqueurs ne seront pas soumises à d'autres essais et ne seront pas protégées.
- Étape 6 : Lorsqu'il n'est pas possible de distinguer nettement la variété candidate de toutes les variétés notoirement connues, les variétés dont elle n'est pas distincte (conformément à un critère convenu) sont sélectionnées en vue de leur inclusion dans l'essai en plein champ.
- Étape 7 : On renouvelle la procédure pour toutes les variétés candidates et on planifie ensuite l'essai en plein champ de façon à ce que les variétés similaires soient cultivées à proximité les unes des autres; les groupes de variétés candidates et de variétés de référence les plus similaires peuvent ainsi être aisément comparés. La planification pourrait également faire appel aux renseignements communiqués par l'obteneur dans le questionnaire technique.
- Étape 8 : Toutes les variétés candidates sont semées en plein champ afin de vérifier l'homogénéité et la stabilité des caractères non moléculaires pertinents.
- Étape 9 : Les caractères observés lors de ces essais en plein champ comprendraient un ensemble réduit de caractères habituellement observés, en fonction par exemple de leur pouvoir discriminatoire, de leur non-interaction avec le milieu ou encore de leur utilité aux fins de la description (y compris de la certification).
- Étape 10 : Si l'établissement de la distinction reste encore difficile à ce stade, il serait possible d'utiliser des caractères supplémentaires dans le cadre d'un essai spécial. Ces caractères devraient satisfaire aux mêmes critères que les caractères existants.
- Étape 11 : La description variétale comporterait le profil d'ADN ainsi que les caractères observés lors de l'essai en plein champ.

Hypothèses à formuler aux fins de l'exemple

9. On part des hypothèses suivantes :

a) Examen DHS

On suppose que les normes applicables à l'utilisation des marqueurs SSR auraient fait l'objet d'un accord (voir ci-dessus le paragraphe 7 ainsi que les étapes 2 à 4 au paragraphe 8). Les normes d'homogénéité et de stabilité concernant les données des marqueurs seraient déterminées selon les modalités exposées ci-dessus au paragraphe 7, sur la base de ce qui est actuellement réalisable. Il n'est pas nécessaire d'examiner les données des marqueurs sur plus d'une année. Les normes applicables aux essais en plein champ seraient les mêmes que les normes actuelles y compris les critères actuellement utilisés en ce qui concerne l'homogénéité et la stabilité.

b) Fiabilité des techniques

On suppose que les marqueurs SSR remplissent tous les conditions normales concernant tout caractère à utiliser aux fins de l'examen DHS (voir l'"introduction générale"), y compris le fait qu'ils doivent être suffisamment cohérents et susceptibles d'être répétés.

c) Ensemble des marqueurs

L'ensemble des huit marqueurs SSR utilisé pour créer la base de données et évaluer les variétés candidates serait "fixe". Toutefois, si des marqueurs supplémentaires ou améliorés deviennent disponibles dans l'avenir, il pourrait être possible soit d'augmenter l'ensemble des marqueurs d'origine soit de remplacer les marqueurs moins utiles. Tout marqueur supplémentaire devrait être examiné de la même façon que l'ensemble des huit marqueurs d'origine.

d) Homogénéité

On suppose que la situation observée dans le cadre de l'étude initiale sur les 40 variétés, notamment en ce qui concerne l'homogénéité des variétés existantes, est largement représentative de la situation propre à toutes les variétés existantes protégées.

e) Base de données sur les profils d'ADN

On suppose qu'une base de données appropriée peut être créée et tenue à jour en y intégrant les profils d'ADN des variétés notoirement connues et qu'elle peut, probablement aussi, être divisée en sous-parties en fonction par exemple de l'origine de la variété ou des régions agroclimatiques.

Incidences éventuelles

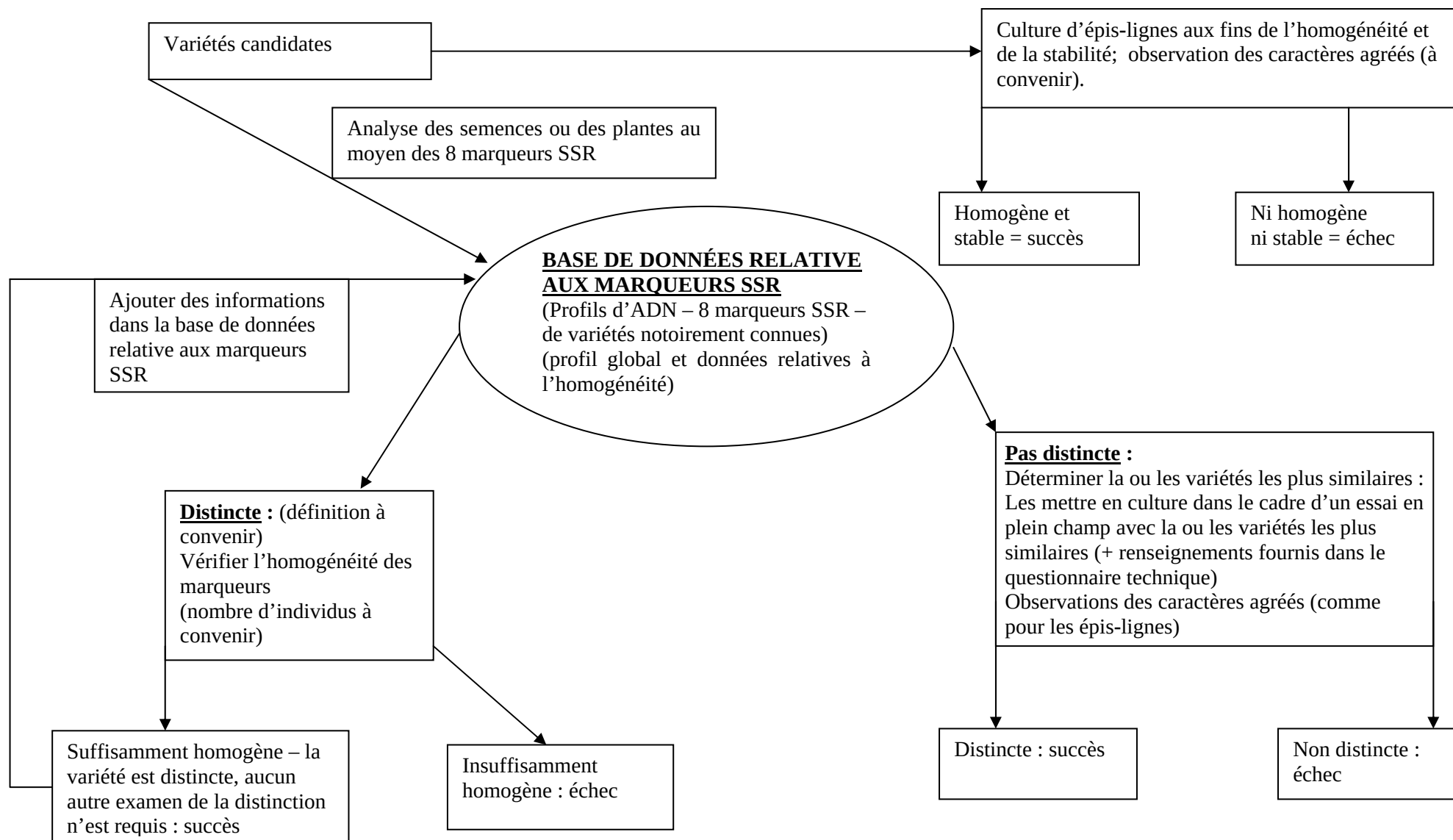
11. La possibilité de sélectionner une collection de référence beaucoup plus complète serait une incidence positive importante sur le degré et la qualité de la protection. Il est désormais avéré que les collections de référence sur les variétés notoirement connues ont des contenus très variables et que les interactions environnementales avec de nombreux caractères morphologiques compromettent la valeur des descriptions publiées (voir le document TWA/30/16). Le présent exemple offre l'occasion de parer à ces deux problèmes.

12. Le système proposé pourrait permettre de déclarer les variétés distinctes, homogènes et stables à l'issue d'une seule année d'examen.

13. Le présent exemple pourrait avoir une incidence négative sur la qualité de la protection dans le cas où des variétés seraient considérées comme distinctes sur la base de la méthode considérée alors qu'elles ne l'auraient pas été sur la base des caractères traditionnels. On pourrait évaluer cette incidence en appliquant les deux méthodes en parallèle pendant un nombre d'années convenu (ou rétrospectivement, lorsque cela est possible).

14. Si un obtenteur cherche à produire une nouvelle variété en modifiant seulement le profil du marqueur moléculaire, cela pourrait apparaître dans la description de la variété (et pourrait alors vraisemblablement déclencher une recherche d'un éventuel statut EDV).

15. Il serait possible de diminuer le risque de produire une nouvelle variété à partir de la sélection d'une variété existante si l'on exige la présence de différences à plusieurs loci de marqueurs SSR pour pouvoir considérer une variété comme distincte (voir les étapes 3 et 4 au paragraphe 8 ci-dessus). Dans tous les cas, le risque que comporte le présent exemple n'est pas plus grand que celui qui existe actuellement. Le présent exemple permet de maintenir le lien entre les normes d'homogénéité et le niveau des différences requises pour pouvoir établir une distinction nette. Par conséquent, il deviendrait inutile de sélectionner et de purifier les parties d'une variété suffisamment homogène puisqu'une telle collection de plantes ne serait pas nettement distincte de la variété d'origine.



ANNEXE 4

MODELE : COMBINAISON DE DISTANCES PHÉNOTYPIQUES ET MOLÉCULAIRES POUR GÉRER DES COLLECTIONS DE VARIETES
--

EXEMPLE : LIGNÉES PARENTALES DU MAÏS

établi par des experts de la France

1. Description

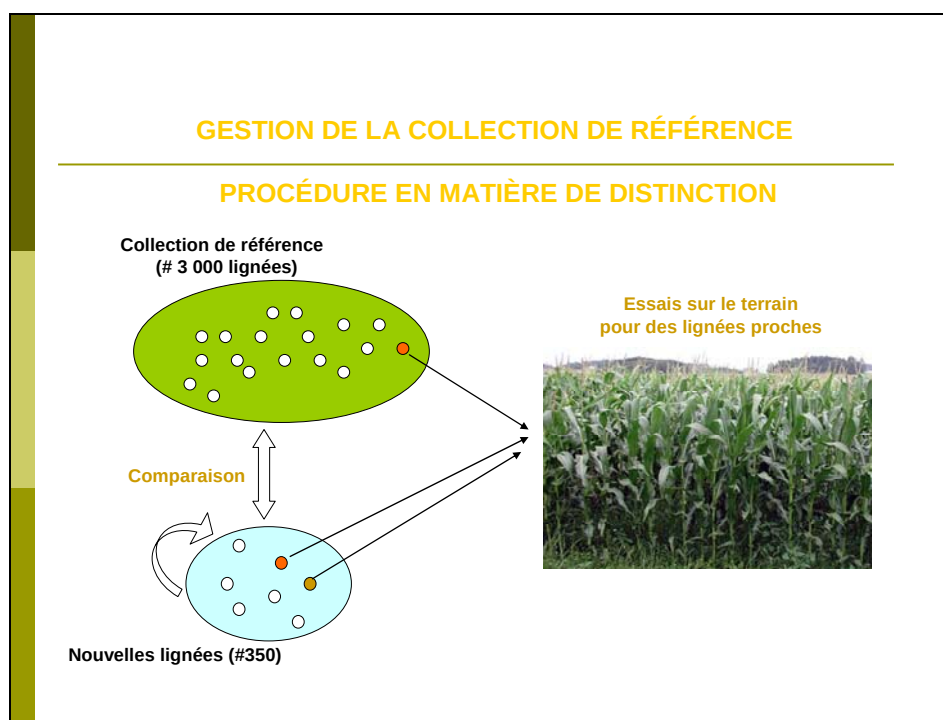
1.1 Le processus d'élimination des variétés notoirement connues avant l'essai DHS en culture se distingue notamment par le fait que le seuil permettant de déterminer quelles variétés peuvent être exclues sans risques (par exemple, quelles variétés sont distinctes d'après les descriptions) peut être fixé avec une marge de sécurité appropriée, puisque les variétés qui sont éliminées ne figureront pas dans l'essai en culture. Ce seuil, assorti d'une marge de sécurité, est dénommé le seuil de "distinction plus", ce qui signifie que les distances entre une variété candidate et les variétés "distinctes plus" sont suffisamment robustes pour que l'on prenne une décision sans comparaison directe dans le cadre de l'essai en culture.

1.2 Cet exemple a pour objet d'élaborer un outil efficace fondé sur une combinaison de distances phénotypiques et moléculaires pour identifier, dans la collection de variétés, les variétés qu'il y a lieu de comparer avec les variétés candidates (voir figure 1) afin d'améliorer la sélection des variétés "distinctes plus" et de limiter ainsi la charge de travail sans réduire la qualité de l'essai. La difficulté consiste à élaborer un système sûr qui :

a) permette de sélectionner seulement les variétés semblables aux variétés candidates; et

b) limite le risque de ne pas sélectionner une variété figurant dans la collection de variétés qu'il faut comparer sur le terrain, notamment lorsqu'il y a une collection de variétés importantes ou onéreuses.

Figure 1



1.3 Le nouveau système a été élaboré sur la base suivante :

a) études effectuées sur les distances moléculaires dans le maïs afin de procéder à un examen DHS et sur la dérivation essentielle, qui ont montré le lien qui existait avec le parentage entre les variétés (voir document BMT/3/6 “The Estimation of Molecular Genetic Distances in Maize or DUS and ED Protocols : Optimization of the Information and new Approaches of Kinship” et le document BMT/3/6 Add.);

b) une expérience menée par le GEVES sur une série de lignées parentales qui a montré qu’il existait un lien entre l’évaluation de la distinction effectuée par les experts (évaluation globale) et une distance moléculaire calculée sur la base de données moléculaires tirées de la répétition séquence simple (SSR) (voir figure 2).

1.4 Éléments du système

1.4.1 Distance GAIA

L’élément distance GAIA est calculé grâce au logiciel GAIA mis au point par le GEVES. La distance GAIA est une combinaison des différences observées à partir de caractéristiques phénotypiques où chaque différence contribue à la distance selon la fiabilité des caractéristiques notamment en ce qui concerne sa variabilité et sa susceptibilité à l’environnement. Plus la différence et la fiabilité des caractéristiques sont importantes, plus la différence contribue à la distance GAIA. Seules les différences qui sont égales ou supérieures à la distance minimale requise pour chaque caractéristique individuelle sont indiquées.

1.4.2 Distance moléculaire

L'élément distance moléculaire est calculé à partir des différences observées sur une série de marqueurs. On peut utiliser différents types de marqueurs et de distances moléculaires. S'agissant de l'étude menée en France sur le maïs, on s'est servi de 60 marqueurs SSR et de la distance de Rogers. Il est important d'utiliser un nombre suffisant de marqueurs avec une bonne répartition chromosomique. Le type de marqueur, l'effet du nombre de marqueurs et la répartition des marqueurs doivent être pris en compte en fonction de l'espèce concernée.

1.4.3 Avant de combiner ces deux éléments, il y a lieu de procéder à une évaluation du lien existant entre la distance moléculaire et une évaluation globale de la distinction effectuée par un groupe d'experts sur une série de paires de variétés. S'agissant du maïs, cette évaluation avait été effectuée sur la base suivante :

Matériel : 504 paires de variétés testées parallèlement avec des marqueurs moléculaires

Configuration sur le terrain : paires de variétés cultivées côte à côte
(1 parcelle = 2 rangées de 15 plantes)

Évaluation visuelle par des experts en culture de maïs :

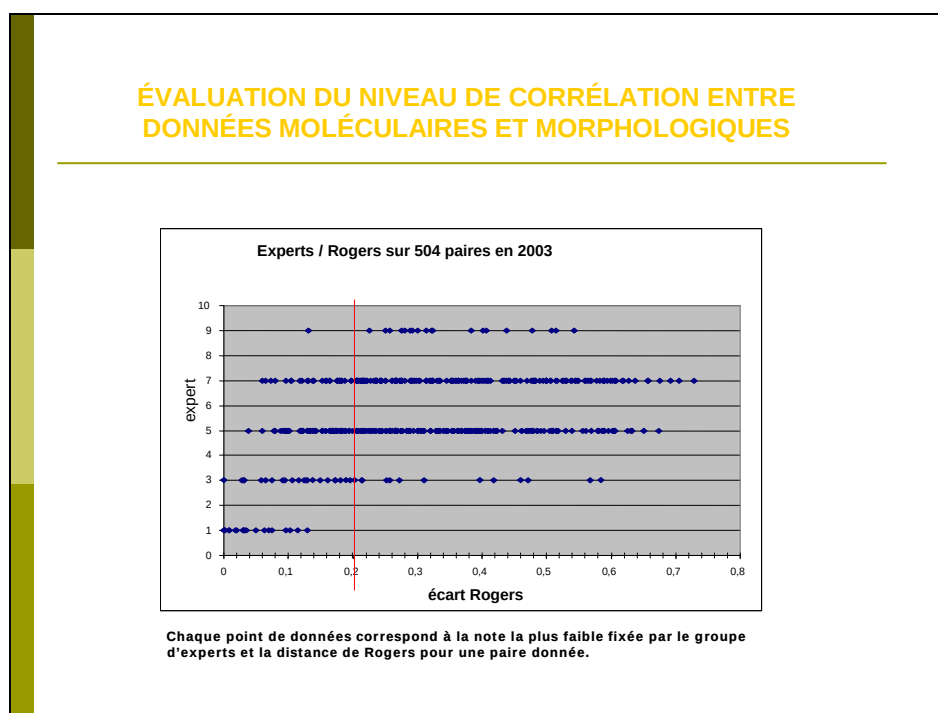
Échelle de similarité :

1. les deux variétés sont semblables ou très proches
3. les deux variétés sont distinctes mais proches
5. la comparaison a été utile mais les variétés sont nettement distinctes
7. la comparaison aurait dû être évitée car les variétés sont très différentes
9. la comparaison aurait dû être évitée car les variétés sont totalement différentes

(on n'utilise pas de notes "paires" dans l'échelle)

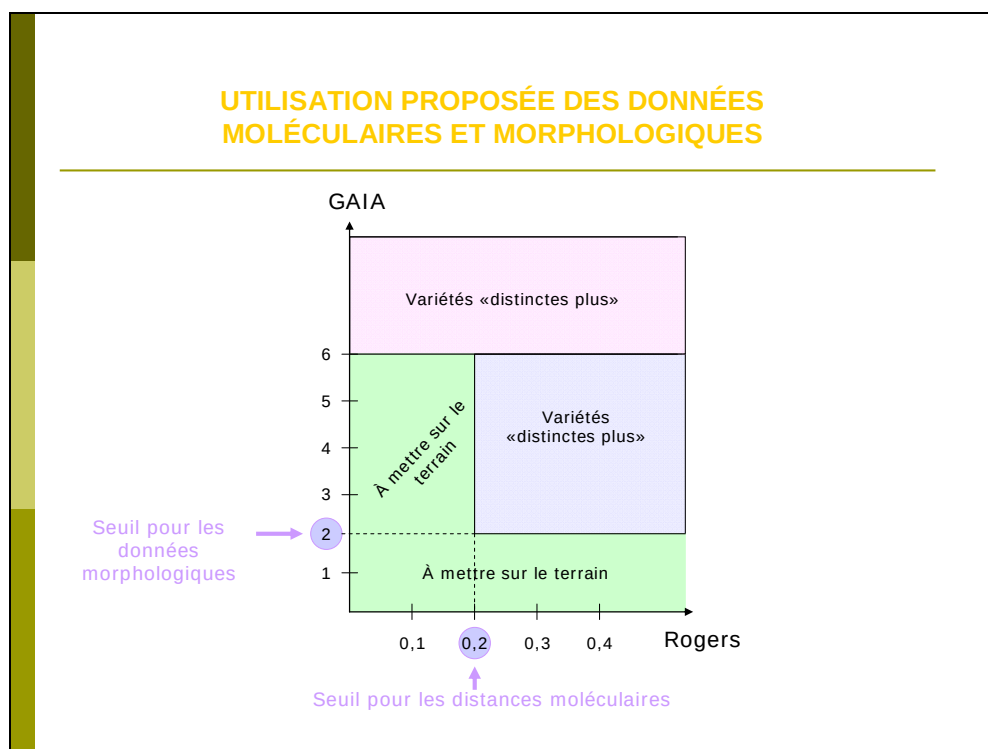
S'agissant du maïs, cette évaluation a montré qu'aucune lignée parentale avec une distance moléculaire supérieure à 0,15 n'a été considérée comme semblable ou très proche lors d'une évaluation d'experts DHS (voir la figure 2).

Figure 2



1.4.4 Sur la base de ce résultat, la combinaison des distances morphologiques et moléculaires donne la possibilité de mettre au point un système de décision comme celui qui suit (voir la figure 3) :

Figure 3



1.4.5 Toutes les paires de variétés avec une distance GAIA égale ou supérieure à 6 et toutes les variétés avec une distance GAIA se situant entre 2 et 6, plus une distance moléculaire égale ou supérieure à 0,2 sont déclarées “distinctes plus”.

1.4.6 Ce système montre qu’il n’est pas nécessaire d’observer sur le terrain autant de lignées parentales que dans la situation où seule une distance GAIA de 6 est utilisée.

1.4.7 La robustesse de ce système a été vérifiée avec différentes distances GAIA et moléculaires.

2. Avantages et contraintes

2.1 Avantages

- a) Meilleure gestion des collections de variétés avec moins de variétés à comparer sur le terrain;
- b) utilisation des distances morphologiques et moléculaires avec des seuils définis par les experts DHS. GAIA a également été calibré par rapport aux évaluations des experts DHS lors de la mise au point par le GEVES;
- c) utilisation de données moléculaires qui ne sont pas susceptibles à l’environnement; la série de marqueurs et le protocole de laboratoire sont bien définis;
- d) utilisation seulement de caractéristiques phénotypiques avec une bonne robustesse et la possibilité d’utiliser des descriptions provenant de différentes sources dans le cadre d’une coopération étroite (la base de données sur le maïs qui a été élaborée en coopération entre l’Allemagne, l’Espagne, la France et l’Office communautaire des variétés végétales (OCVV) de l’Union européenne constitue un bon exemple de l’intérêt de cette méthode pour une collection de variétés partagée entre différents offices);
- e) les caractéristiques électrophorétiques peuvent également être remplacées; et
- f) l’absence d’uniformité n’influe en rien sur les profils moléculaires pour autant qu’un nombre suffisant de marqueurs soit utilisé et que le nombre de variantes soit faible. S’agissant des lignées parentales du maïs, le niveau d’uniformité moléculaire est élevé mais pourrait être un problème pour certaines autres cultures.

2.2 Contraintes

- a) Pas efficace ou moins efficace pour les espèces avec des variétés synthétiques ou des populations;
- b) nécessité de disposer d’un nombre suffisant de bons marqueurs ADN et d’un nombre suffisant de caractéristiques phénotypiques avec une faible susceptibilité à l’environnement; et
- c) travail préliminaire avec calibrage par rapport à l’évaluation de la distinction établie par des experts DHS.