



TWA/26/5

ORIGINAL: French

DATE: September 30, 1997

INTERNATIONAL UNION FOR THE PROTECTION OF NEW VARIETIES OF PLANTS
GENEVA

**TECHNICAL WORKING PARTY
FOR
AGRICULTURAL CROPS**

**Twenty-Sixth Session
Montevideo, November 10 to 14, 1997**

**THOUGHTS ON THE SETTING-UP AND USE OF REFERENCE COLLECTIONS FOR
DUS TESTING**

Document prepared by experts from France

[English]

THOUGHTS ON THE SETTING-UP AND USE OF REFERENCE COLLECTIONS FOR DUS TESTING

The issue of a plant breeder's certificate for a variety depends in the main on the examination of technical criteria that make it possible to recognize the variety and to ensure that it is original in comparison with existing varieties.

Although the criteria of uniformity and stability are important for ensuring a proper definition of the variety, it is essentially the criterion of distinctness that, on the basis of a description of the phenotypical characteristics, enables the sub-unit known as a "protectable variety" to be defined within the species.

This therefore requires a reference frame for the species that is clearly defined in Article 7 of the Convention as all those varieties that are a matter of common knowledge, including those that are currently being examined for protection or for entry in the catalogue of any country if the examination leads either to grant or to entry.

This comparative approach is the one that has always been used by the examination authorities responsible for characterizing varieties and constant efforts have been devoted to harmonizing and standardizing the methods utilized, first for a small number of countries and then on an ever broader international basis. UPOV has played and continues to play each day an essential role in this field through the establishment of its guidelines for DUS testing and the meetings of specialists to conduct that task.

If we are able, today, to have the satisfaction of exchanging variety information between countries without the barrier of language as a result of the codification and the "culture" of UPOV, we must nevertheless acknowledge the fact that the issue of reference collections is far from having been resolved and that, even if the interpretation of the concept of common knowledge is fully understood, its practical implementation often leaves much to be desired.

UPOV is developing and comprises a growing number of Member States; the activities of variety creation become increasingly international due to the need for diversification of resources of genetic variability and to the concentration of enterprises at worldwide level; the same applies to the dissemination of varieties which, at least for certain species, may be used in very differing latitudes as the result of ever more sophisticated production techniques.

Faced with continuous developments in this sector, the official services of the UPOV Member States attempt to manage their reference collections as best they can and to satisfy the conditions laid down in the Convention.

There are many constraints:

- The cost of maintaining collections and the inherent burden of taking into account the varieties for DUS testing. In the case of some vegetatively reproduced species,

it is practically out of the question to put together a collection of varieties of common knowledge beyond those of one country or just a few countries.

- The increasing difficulty of pronouncing on distinctness as the number of varieties to be compared increases. This may be linked to a limited genetic variability, but also to the inadequacy of the tools used or of the growing conditions for discerning existing variability.
- The effects, that may be quite considerable, of interaction between the genotype and the environment that demand systematic planting of reference varieties and therefore place a limitation on their number.

The acuteness of these difficulties varies greatly from one species to another and depends on the context in which the tests have been carried out; they depend essentially on:

- the mode of reproduction of the varieties;
- the growing area of the species;
- the extent of interaction between genotype and environment;
- the extent of the efforts to create varieties undertaken at international level;
- the existence or not at the level of one country or of a group of countries of a system that, in parallel with protection, enables varieties to be sorted on the basis of utilization criteria.

Where such a system exists, it becomes possible to argue for the establishment of reference collections on a much more limited basis, to include the agro-climatic conditions and types of production.

However, whatever the species, the problem of reference collections is becoming ever more acute, particularly where several countries develop a system of common protection with a single certificate for all of those countries (the example of the European right for the countries of the European Community). In such case, only the complete centralization of DUS testing for each species can limit the drawbacks deriving from differences between reference collections, but without resolving, in so doing, all those difficulties linked to cost and to the adaptation of testing sites to the various varietal types.

What Solutions Can We Propose?

Faced with such a complex problem that depends on numerous technical and economic factors, there can be no standard solution that can give a fully satisfactory reply whatever the species.

Improving the integration of reference collections in DUS testing would be based on an optimization:

- of the conditions for setting up collections;
- on the measures taken for them to be used in testing for distinctness.

On both these issues, UPOV, through its Technical Committee and its Working Groups, is able to draw up proposals and make recommendations.

Constitution of Reference Collections

Depending on the technical examination systems used, the species and the means available, the collections of varieties that are physically represented in the testing centers are more or less amended, ranging simply from those varieties registered at national level to collections that include almost all varieties of common knowledge for a given type (early maturity, type of development, etc.) within a species.

It is frequently found that a collection is not necessarily put together in a single place, but that it may be maintained by differing operators, particularly by breeders (the case of vegetatively propagated plants).

Experience also shows that concordance is lacking between the reference collections maintained by differing examination services, including those dealing with varieties that have the same regional adaptation.

Likewise, the technical constraints and the limited time for carrying out testing make it impossible to take account within the reference collections of varieties that are being tested in other countries.

The improvements to be envisaged in order to achieve fuller reference collections may be analyzed as follows:

- Strive towards a greater degree of centralization in DUS testing, whilst ensuring the maintenance of sufficient diversity of testing sites to enable satisfactory exteriorization of the characteristics used for distinctness and to take into account factors of adaptation of the varieties.
- Set up structured databases containing the essential features of the descriptions proposed by UPOV.

These databases should comprise, in particular, those descriptors that are the most independent of the environment (place x year), to make possible a first level of comparison between varieties not implanted in the same place. Within that category, consideration would also to have be given to descriptors that are not yet included in the guidelines.

- Facilitate the exchange of data between examination centers by means of a standardized database structure and the implementation of effective computer links.

- Facilitate the exchange of plant material both for reference varieties and for varieties under examination.

As the organization of testing in the various member countries currently stands, the establishment of databases of the characteristics least influenced by the observation environment and the use of tools for the high speed exchange of data would seem two areas likely to contribute the most to progress in the constitution of reference collections.

Use of Reference Collections in Testing for Distinctness

Distinctness testing is based on a comparison of the candidate varieties with the varieties in the reference collection for the species considered. Apart from the technical problems linked to the constitution and conservation of the collection, the workload and the difficulties met in carrying out all the necessary comparisons are frequently the reason for a limitation on the number of varieties in the reference collections. Various criteria are used in making those limitations (regional adaptation, varietal types, etc.); most frequently, the limitation is imposed on the examination center since it is obliged to strike a balance between the volume of work to be carried out and the means that are available. The credibility of distinctness testing demands improved integration of the reference collections in the tests, despite the fact that the means available for carrying them out will not necessarily be any greater.

This improvement in the quality/price relationship therefore requires the use of new procedures that will make it possible to concentrate better on direct comparisons between varieties on the basis of reference collections, that will be ever bigger and that will be distributed over several examination centers.

Relevant proposals could be made on the basis of a system of preselection of the closest varieties using data of varying origins and enabling a reply to be given within a fairly short period.

Such systems could base on the following principles:

- Choose a set of descriptors not or little subject to environmental effects enabling separate groups of varieties to be made up whatever the origin of the data used.

The grouping characteristics as defined in the UPOV Guidelines constitute an initial basis for defining groups of varieties. Note should nevertheless be taken of their marked dependence on the environment and their quantitative nature that pose an obstacle to defining separated groups under a characteristic by characteristic approach.

Other descriptors may also be considered, without them being necessarily included in the guidelines and on condition that using them in this context does not lead to separating varieties that ought to be declared too close or even identical on the basis of those characteristics only that are used for distinctness testing. This basically concerns descriptions of protein polymorphism revealed by electrophoresis and that of DNA resulting from molecular analysis, being

characteristics that are generally independent of the growing environment of the plant. Using such characteristics, it is possible to envisage a preliminary test at the examination center in order to constitute groups prior to any growing.

- Define a methodology that permits an approach in terms of distance that is based on several characteristics so that, beyond a given value to be estimated, two varieties judged to be different on the basis of this combination of characteristics not necessarily recognized by UPOV are effectively different in one or more characteristics chosen for distinctness testing.

This type of approach also makes it possible to consider any descriptor in the combination on condition that the observed difference between two varieties is not solely due to environmental effects.

At the level of several countries, this latter condition limits the choice to those characteristics that are least dependent on the environment.

All the work that has already been carried out or is ongoing with respect to certain species shows that this approach, that aims to structure variability, may provide replies and may facilitate the conduct of distinctness tests and therefore enable the use of much broader reference collections, which is an essential condition to ensure effective reliability of DUS testing within the context of plant variety protection.

At this stage in the proceedings, it is necessary to show, by means of a few examples, that this methodology can effectively enable the varieties to be compared to be sifted by using a tool that differs from that chosen for examining distinctness between varieties deemed to be close. In other words, to reply to a criticism already advanced, to show that a characteristic may, under certain conditions, be used to identify close varieties although it is not included in the UPOV Guidelines.

Some Pathways To Be Explored

Various approaches may be proposed. Some able to provide short term tools and others medium term tools, based on more detailed study and on elements of description that are not currently available. The applicability of the replies will depend on the data available for the various species and on the work already undertaken on the structuration of variability.

A few suggestions can be made:

- Put together comparison indexes including the phenotypical characteristics that are most stable over the years or with regard to the places and define the thresholds beyond which the varieties would not have to be directly compared in the field. Such an index could be put together in France for the maize species, allocating a differing weighting to the characteristics depending on their genetic pattern and including the data from differing places and years, due to the definition of minimum distances between lines for each characteristic. The experience has been judged satisfactory and could be extended to international use by including the data collected on the basis of the UPOV Guidelines.

- Set up comparative indexes including the molecular characteristics revealed by the use of a perfectly defined, standardized “tool box” available to everyone, and define thresholds for the molecular distances as a function of the species and of the available genetic information in such a way that each couple of varieties having a distance greater than that threshold would demonstrate a sufficient phenotypical difference for them not to have to be compared in the field.

This approach would obviously need preliminary work in order to calibrate those thresholds on the basis of a good knowledge of the variability of the species for those markers considered. Work has already been undertaken in various countries with respect to various species (maize, colza, tomato, peppers, fruit trees, etc.) on the basis of which such an approach could be developed.

The BMT Working Group has already dealt with this approach and intends to look at the results of work conducted by various laboratories.

It would be interesting to develop, as an experiment, one or more actions involving several Member States in order to measure the validity of such an approach for species that are the subject of considerable international trade.

* * * * *

[français]

REFLEXIONS SUR LA CONSTITUTION ET L'UTILISATION DES COLLECTIONS DE REFERENCE POUR L'EXAMEN DHS

La délivrance d'un Certificat d'Obtention Végétale pour une variété repose notamment sur l'examen de critères techniques qui permettent de reconnaître la variété et de s'assurer de son originalité par rapport aux variétés préexistantes.

Si les critères d'Homogénéité et de Stabilité sont importants pour garantir une bonne définition de la variété, le critère de Distinction est essentiellement celui qui, sur la base de la description des caractères phénotypiques, permet de définir la sous-unité “variété protégeable” au sein de l'espèce.

Ceci suppose donc un référentiel représentant l'espèce, base qui est clairement définie dans l'article 7 de la Convention comme étant l'ensemble des variétés notoirement connues, y compris les variétés en cours d'étude pour la protection ou l'inscription au catalogue dans tout pays si ces études aboutissent pour l'une ou l'autre de ces fins.

Depuis toujours, cette approche comparative a été développée par les services d'examen chargés de caractériser des variétés, et des efforts constants ont été entrepris pour harmoniser et standardiser les méthodes mises en oeuvre d'abord à l'échelle de quelques pays, puis sur une base internationale de plus en plus large. L'UPOV a joué et joue chaque jour un rôle

essentiel dans ce domaine grâce à l'établissement des principes directeurs d'examen DHS et aux rencontres entre spécialistes pour mener à bien cette tâche.

Si, aujourd'hui, il est très satisfaisant de pouvoir échanger des informations sur les variétés entre pays sans l'obstacle des langues grâce à la codification et à la « culture » UPOV, force est de constater que la question des collections de référence est loin d'être résolue et que, même si l'interprétation de la notion de connaissance notoire est bien comprise, la mise en pratique reste très souvent en deçà de ce qui serait souhaitable.

L'UPOV se développe et compte de plus en plus d'Etats membres ; l'activité de création variétale s'internationalise toujours plus face à la nécessaire diversification des sources de variabilité génétique et à la concentration des entreprises au plan mondial ; il en va de même de la diffusion des variétés qui, au moins pour certaines espèces, peuvent être utilisées sous des latitudes très variées, grâce à des techniques de production toujours plus élaborées.

Face aux évolutions permanentes de ce secteur, les services officiels des Etats membres de l'UPOV tentent de gérer au mieux les collections de référence et de répondre aux conditions fixées par la Convention.

Les contraintes sont très variées :

- Le coût du maintien des collections et la charge inhérente à la prise en compte des variétés dans les études DHS. Pour certaines espèces à reproduction végétative, il y a pratiquement une impossibilité totale à rassembler une collection de variétés notoires au-delà d'un ou de quelques pays.
- L'accroissement des difficultés à statuer sur la Distinction lorsque le nombre de variétés en comparaison augmente. Ceci peut être lié à une variabilité génétique limitée, mais aussi à une inadéquation des outils utilisés ou des conditions de culture pour révéler une variabilité existante.
- Les effets parfois très importants de l'interaction génotype x milieu, qui imposent une implantation systématique des variétés de référence et donc une limitation de leur nombre.

L'acuité de ces difficultés est très variable d'une espèce à l'autre et selon le contexte dans lequel les études sont réalisées ; elles dépendent essentiellement de :

- Le mode de reproduction des variétés ;
- L'aire de culture de l'espèce ;
- L'importance de l'interaction génotype x milieu ;
- L'importance de l'effort de création variétale entrepris au plan international ;
- L'existence ou non à l'échelle d'un pays ou d'un groupe de pays d'un système permettant, parallèlement à la protection, de cribler les variétés sur des critères d'utilisation.

Quand un tel système existe, il devient possible de raisonner la constitution des collections de référence sur une base beaucoup plus limitée, intégrant les conditions agroclimatiques et les types de production.

Néanmoins, quelle que soit l'espèce, le problème de la collection de référence est de plus en plus aigu et ce d'autant plus lorsque plusieurs pays développent un système de protection commun avec un seul certificat pour l'ensemble des pays (exemple du droit européen pour les pays de la Communauté Européenne). Dans un tel cas, seule une centralisation complète des études DHS pour chaque espèce permettrait de limiter les inconvénients liés à la disparité entre collections de référence, mais sans résoudre pour autant toutes les difficultés en matière de coût et d'adaptation des sites d'examen aux différents types variétaux.

Quelles solutions proposer ?

Face à un problème aussi complexe fonction de nombreux facteurs techniques et économiques, il n'y a pas une solution standard permettant d'apporter une réponse totalement satisfaisante quelle que soit l'espèce.

Une amélioration de l'intégration des collections de référence dans les études DHS repose sur une optimisation :

- des modalités de constitution de ces collections ;
- des dispositions mises en oeuvre pour la prise en compte dans l'examen de la Distinction.

Pour ces deux aspects, l'UPOV, au travers de son Comité Technique et de ses groupes de travail, peut élaborer des propositions et formuler des recommandations.

Constitution des collections de référence

Selon les systèmes d'examen technique mis en oeuvre, les espèces et les moyens disponibles, les collections de variétés représentées physiquement dans les centres d'examen sont plus ou moins abondantes, allant des seules variétés enregistrées au plan national, jusqu'à des collections incluant la quasi totalité des variétés notoires pour un type donné (précocité, type de développement, ...) au sein d'une espèce.

On constate fréquemment que la collection n'est pas nécessairement rassemblée en un seul lieu, mais peut être maintenue par divers opérateurs, en particulier par les obtenteurs (cas des plantes à multiplication végétative).

L'expérience montre également qu'il n'y a pas concordance entre les collections de référence maintenues par différents services d'examen, y compris entre ceux ayant à traiter des variétés ayant les mêmes adaptations régionales.

De même, les contraintes techniques et les délais limités pour la réalisation des études, rendent impossible la prise en compte au sein des collections de référence des variétés en cours d'étude dans les différents pays.

Les améliorations à envisager pour disposer de collections de référence plus complètes peuvent être résumées comme suit :

- Tendre vers une centralisation plus importante des études DHS, tout en veillant à maintenir une diversité suffisante des lieux d'examen pour permettre une extériorisation satisfaisante des caractéristiques utilisées pour la Distinction et tenir compte des facteurs d'adaptation des variétés.
- Mettre en place des bases de données structurées comprenant l'essentiel des descriptions proposées par l'UPOV.

Ces bases de données devraient en particulier comporter les descripteurs les plus indépendants du milieu (lieu x année), afin de permettre un premier niveau de comparaisons entre variétés non implantées dans un même lieu. Dans cette catégorie, il y aurait lieu de considérer également des descripteurs non encore inclus dans les principes directeurs.

- Faciliter les échanges de données entre centres d'examen, grâce à une structure standardisée des bases de données et à la mise en oeuvre de liaisons télématiques efficaces.
- Faciliter les échanges de matériel végétal aussi bien pour les variétés de référence que pour les variétés en étude.

Dans l'état actuel de l'organisation des essais dans les différents pays membres de l'UPOV, la mise en place de bases de données en privilégiant les caractères peu influencés par le milieu d'observation et la mise en oeuvre d'outils d'échange rapide de données semblent être les deux points susceptibles d'apporter le plus de progrès dans la constitution des collections de référence.

Prise en compte des collections de référence pour l'examen de la Distinction

L'examen de la Distinction repose sur une comparaison des variétés candidates aux variétés de la collection de référence pour l'espèce considérée. Au-delà des problèmes techniques propres à la constitution et à la conservation de la collection, la charge de travail et les difficultés rencontrées pour effectuer toutes les comparaisons nécessaires sont très souvent à l'origine d'une limitation du nombre de variétés dans les collections de référence. Pour cela, différents critères sont utilisés (adaptation régionale, types variétaux, ...) ; le plus souvent, cette limitation est imposée au centre d'examen contraint de rechercher une adéquation entre volume de travail à réaliser et moyens disponibles.

La crédibilité de l'examen de la Distinction passe par une meilleure intégration des collections de référence dans les études, tout en sachant que les moyens disponibles pour le réaliser ne seront pas pour autant plus importants.

Cette amélioration du rapport “qualité/prix” suppose donc la mise en oeuvre de procédures nouvelles qui permettront de mieux cibler les comparaisons directes entre variétés à partir de collections de référence toujours plus importantes et réparties entre plusieurs centres d’examen.

Des propositions peuvent être faites dans ce sens sur la base d’un système de présélection des variétés les plus proches intégrant des données d’origines diverses et permettant de répondre dans des délais assez courts.

De tels systèmes pourraient reposer sur les principes suivants :

- Sélectionner un ensemble de descripteurs pas ou peu soumis aux effets du milieu, qui permettent de constituer des groupes de variétés disjoints quelle que soit l’origine des données retenues.

Les caractères de groupement tels que définis dans les principes directeurs de l’UPOV constituent une première base pour définir les groupes de variétés. Il faut cependant noter leur dépendance plus ou moins marquée vis à vis du milieu et leur nature quantitative, obstacle à la définition de groupes disjoints dans une approche caractère par caractère.

D’autres descripteurs peuvent également être envisagés, sans qu’ils soient nécessairement inclus dans les principes directeurs et sous réserve que leur usage dans ce cadre ne conduise pas à séparer des variétés qui devraient être déclarées trop proches, voire identiques, sur la base des seuls caractères utilisés pour l’étude de la Distinction. Il s’agit essentiellement des descriptions du polymorphisme des protéines révélé par électrophorèse et de celui de l’ADN résultant de l’analyse moléculaire, ensemble de caractères généralement indépendants du milieu de culture de la plante. Avec de tels caractères, il est possible d’envisager un test préalable au niveau du centre d’examen, afin de constituer les groupes avant toute implantation en culture.

- Définir une méthodologie permettant une approche en termes de distance fondée sur plusieurs caractères de telle sorte que, au-delà d’une certaine valeur à estimer, deux variétés jugées différentes sur la base de cette combinaison de caractères non nécessairement reconnus par l’UPOV soient effectivement différentes pour un ou plusieurs caractères retenus pour l’examen de la Distinction.

Une telle approche permet d’ailleurs de considérer n’importe quel descripteur dans la combinaison sous réserve que la différence observée entre les deux variétés ne soit pas seulement due à l’effet du milieu.

A l’échelle de plusieurs pays, cette dernière condition limite le choix aux caractères les moins dépendants du milieu.

Un ensemble de travaux déjà réalisés ou en cours sur certaines espèces montrent que cette approche visant à structurer la variabilité peut apporter des réponses et faciliter la conduite des examens de Distinction, et donc permettre la prise en compte de collections de

référence beaucoup plus larges, condition essentielle pour garantir une bonne fiabilité des études DHS dans le cadre de la protection des obtentions végétales.

A ce stade de la réflexion, il est nécessaire de montrer sur quelques exemples que cette méthodologie peut effectivement permettre de cribler les variétés à comparer en utilisant un outil différent de celui retenu pour étudier la Distinction entre variétés jugées proches. Autrement dit, pour répondre à une critique déjà formulée, montrer qu'un caractère peut, dans certaines conditions, être utilisé pour repérer les variétés proches sans pour autant être retenu dans les principes directeurs de l'UPOV.

Quelques pistes à explorer

Différentes approches peuvent être proposées, les unes susceptibles de fournir des outils à court terme, d'autres pour le moyen terme, reposant sur des études plus approfondies et sur des éléments de description non disponibles à ce jour. La pertinence des réponses dépendra des données disponibles chez différentes espèces et des travaux déjà entrepris sur la structuration de la variabilité.

Quelques suggestions peuvent être faites :

- Construire des index de comparaison intégrant les caractères phénotypiques les plus stables au cours des années ou selon les lieux, et définir des seuils au-delà desquels les variétés n'auraient pas à être directement comparées sur le terrain.

Un tel index a été construit en France pour l'espèce maïs, en attribuant un poids différent aux caractères selon leur déterminisme génétique et en intégrant des données provenant de lieux et d'années différentes, grâce à la définition de distances minimales entre deux lignées pour chaque caractère.

L'expérience est jugée satisfaisante et pourrait être étendue à un usage au plan international, en intégrant les données recueillies sur la base des principes directeurs UPOV.

- Construire des index de comparaison intégrant des caractères moléculaires révélés par la mise en oeuvre d'une « boîte à outils » parfaitement définie, standardisée et disponible auprès de tous, et définir des seuils de distances moléculaires fonction de l'espèce et des informations génétiques disponibles tels que tout couple de variétés avec une distance supérieure à ce seuil présente une différence phénotypique suffisante pour ne pas devoir être comparée sur le terrain.

Cette approche nécessite bien entendu des travaux préliminaires permettant d'étalonner ces seuils sur la base d'une bonne connaissance de la variabilité de l'espèce pour les marqueurs considérés. Des travaux sont d'ores et déjà entrepris dans différents pays sur diverses espèces (maïs, colza, tomate, piment, arbres fruitiers, ...) sur la base desquels une telle approche pourrait être développée.

Le groupe BMT a déjà traité de cette approche et a prévu d'examiner les résultats de travaux conduits par différents laboratoires.

Il serait intéressant de développer à titre expérimental une ou plusieurs actions impliquant plusieurs Etats membres, pour mesurer la validité d'une telle approche sur des espèces à fort courant d'échanges internationaux.

[End of document/fin du document]