



TC/47/24

ORIGINAL: Inglés

FECHA: 24 de febrero de 2011

UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES
GINEBRA

COMITÉ TÉCNICO

Cuadragésima séptima sesión
Ginebra, 4 a 6 de abril de 2011

REVISIONES PARCIALES DE DIRECTRICES DE EXAMEN

Documento preparado por la Oficina de la Unión

1. El presente documento tiene por fin exponer las propuestas de revisiones parciales de las siguientes directrices de examen que serán examinadas por el Comité Técnico en su cuadragésima séptima sesión, que se celebrará en Ginebra del 4 al 6 de abril de 2011:

Directrices de examen de la lechuga (documento TG/13/10)

Directrices de examen de la espinaca (documento TG/55/7)

Directrices de examen del mandarino (Citrus L.-Grupo 1) (documento TG/201/1)

REVISIÓN PARCIAL DE LAS DIRECTRICES DE EXAMEN DE LA LECHUGA
 (DOCUMENTO TG/13/10)

2. El Grupo de Trabajo Técnico sobre Hortalizas (TWV) en su cuadragésima cuarta sesión, celebrada en Veliko Tarnovo (Bulgaria) del 5 al 9 de julio de 2010, acordó proponer la revisión parcial de las directrices de examen de la lechuga (documento TG/13/10) según se expone en los Anexos I a V del presente documento:

Anexo I: Modificación del carácter 39 de la Tabla de caracteres

Annex II : Amendment of Ad.39 information Chapter 8

Anexo III: Adición del carácter 41 “Resistencia al *Nasonovia ribisnigri*, biotipo Nr: 0”

Annex IV : Addition of an explanation information Ad.41, Chapter 8

Anexo V: Adición de un punto en el Capítulo 9

REVISIÓN PARCIAL DE LAS DIRECTRICES DE EXAMEN DE LA ESPINACA
 (DOCUMENTO TG/55/7)

3. El TWV en su cuadragésima cuarta sesión, celebrada en Veliko Tarnovo (Bulgaria) del 5 al 9 de julio de 2010, acordó proponer la revisión de las directrices de examen de la espinaca (TG/55/7) en la manera siguiente:

- a) Corrección de la denominación del patógeno de *Peronospora farinosa* f. sp. *spinachiae* en el carácter 17
- b) Adición de “Raza Pfs: 11” en el carácter 17, incluidas las variedades ejemplo, en la manera siguiente:

17.	VG	Resistance to <i>Peronospora</i> <i>farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i>	Résistance à <i>Peronospora</i> <i>farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i>	Resistenz gegen <i>Peronospora</i> <i>farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i>	Resistencia a <i>Peronospora</i> <i>farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i>		
(+)							
17.10		Race Pfs: 11	Race Pfs: 11	Pathotyp Pfs: 11	Raza Pfs: 11		
		absent	absente	fehlend	ausente	Lazio	1
		present	présente	vorhanden	presente	Boeing, Califlay, Campania, Lion	9

- c) Adición de una columna para “Pfs: 11” en el cuadro de variedades diferenciales para identificar las razas en Ad. 17, a saber:

Variedades diferenciales para identificar las razas

Las razas Pfs: 1-8 y 10-11 de *Peronospora farinosa* f. sp. *spinaciae* se definen mediante una serie estándar de “variedades diferenciales” con arreglo al cuadro siguiente:

Variedad diferencial	Pfs: 1	Pfs: 2	Pfs: 3	Pfs: 4	Pfs: 5	Pfs: 6	Pfs: 7	Pfs: 8	Pfs: 10	Pfs: 11
Viroflay	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Resistoflay	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
Califlay	R	S	R	S	R	S	S	R	S	R
Clermont	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
Campania	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R
Boeing	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
Lion	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Lazio	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S

Leyenda: R = resistencia presente; S = resistencia ausente, susceptible

REVISIÓN PARCIAL DE LAS DIRECTRICES DE EXAMEN DEL MANDARINO (CITRUS: GRUPO 1) (DOCUMENTO TG/201/1)

4. En su cuadragésima primera sesión, celebrada en Cuernavaca, Estado de Morelos (México) del 27 de septiembre al 1 de octubre de 2010, el Grupo de Trabajo Técnico sobre Plantas Frutales (TWF) examinó el documento TWF/41/28, presentado por el Sr. Pedro Miguel Chomé Fuster y el Sr. Guillermo Soler Fayos (España).

5. El TWF convino en proponer al TC la adopción de la revisión parcial de las directrices de examen del mandarino sobre la base del documento TWF/41/28 (del cual se proporciona una copia en http://www.upov.int/restrict/es/tc/index_tc47.htm) con las reservas de expertos de Marruecos en cuanto a la propuesta de nuevo carácter (después del carácter 98) “Fruto: número de semillas (polinización cruzada manual controlada)”, respecto de la cual los expertos de Marruecos explicaron que hacía falta más tiempo para estudiar el nuevo carácter. El TWF acordó que se invitará al Comité Técnico a examinar los “Comentarios de Marruecos en relación con el nuevo carácter propuesto “Fruto: número de semillas (polinización cruzada manual controlada) y la viabilidad del polen en las directrices de examen de la UPOV para el mandarino”, expuestos en el Anexo VI del presente documento, junto con el examen de la propuesta de revisión parcial de las directrices de examen del mandarino.

6. En su sesión de 6 de enero de 2011, el Comité de Redacción Ampliado (TC-EDC) llegó a la conclusión de que habían de resolverse varias cuestiones técnicas y recomendó que se remitieran esas cuestiones al TWF para que las examinara más detenidamente.

7. Se invita al TC a examinar la información contenida en el presente documento conjuntamente con el documento TC/47/2.

[Siguen los Anexos]

ANEXO I

Modificación del carácter 39 de la Tabla de caracteres

Las modificaciones propuestas se indican de la manera siguiente:

sombreado: adición propuesta

~~tachado~~: supresión propuesta

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
39. VG	Resistance to downy mildew (<i>Bremia lactucae</i>)	Résistance au mildiou (<i>Bremia lactucae</i>)	Resistenz gegen Falschen Mehltau (<i>Bremia lactucae</i>)	Resistencia al mildiú (<i>Bremia lactucae</i>)		
(+)						
QL						
39.1 (b)	Isolate Bl: 2	Isolat Bl: 2	Isolat Bl: 2	Aislado Bl: 2		
(c)						
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Ninja	9
39.2 (c)	Isolate Bl: 5	Isolat Bl: 5	Isolat Bl: 5	Aislado Bl: 5		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Sabine	9
39.3 (c)	Isolate Bl: 7	Isolat Bl: 7	Isolat Bl: 7	Aislado Bl: 7		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Valmaine, Verpia	9
39.4 (c)	Isolate Bl: 12	Isolat Bl: 12	Isolat Bl: 12	Aislado Bl: 12		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Danilla, Geisha, Dandie, UCDM12	9
39.5 (c)	Isolate Bl: 14	Isolat Bl: 14	Isolat Bl: 14	Aislado Bl: 14		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Santis, Sifra, Verpia, Colorado, Ninja	9

English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
39.6 (c) Isolate BI: 15	Isolat BI: 15	Isolat BI: 15	Aislado BI: 15		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde H, Green Towers	1
present	présente	vorhanden	presente	Mirian, Colorado, Sabine	9
39.7 (c) Isolate BI: 16 (*)	Isolat BI: 16	Isolat BI: 16	Aislado BI: 16		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde H	1
present	présente	vorhanden	presente	Argelès, Ninja	9
39.8 (c) Isolate BI: 17	Isolat BI: 17	Isolat BI: 17	Aislado BI: 17		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde H	1
present	présente	vorhanden	presente	Argelès, Ninja	9
39.9 (c) Isolate BI: 18	Isolat BI: 18	Isolat BI: 18	Aislado BI: 18		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde H	1
present	présente	vorhanden	presente	Argelès, Ninja	9
39.10 (c) Isolate BI: 20	Isolat BI: 20	Isolat BI: 20	Aislado BI: 20		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde H	1
present	présente	vorhanden	presente	Argelès, Ninja	9
39.11 (c) Isolate BI: 21	Isolat BI: 21	Isolat BI: 21	Aislado BI: 21		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde H	1
present	présente	vorhanden	presente	Argelès, Colorado Ninja	9
39.12 (c) Isolate BI: 22	Isolat BI: 22	Isolat BI: 22	Aislado BI: 22		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde H	1
present	présente	vorhanden	presente	Discovery, Ninja, Coralis, Torpedo	9

English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
39.13 (c) Isolate B1: 23	Isolat B1: 23	Isolat B1: 23	Aislado B1: 23		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde II	1
present	présente	vorhanden	presente	Colorado, Discovery, Ninja	9
39.14 (c) Isolate B1: 24	Isolat B1: 24	Isolat B1: 24	Aislado B1: 24		
absent	absente	fehlend	ausente	Argelès, Colorado	1
present	présente	vorhanden	presente	Dandie, UC DM14, PIVT 1309	9
39.15 (c) Isolate B1: 25	Isolat B1: 25	Isolat B1: 25	Aislado B1: 25		
absent	absente	fehlend	ausente	Colorado, Pennlake Pennlake	1
present	présente	vorhanden	presente	Angela Argelès, Ninja	9
39.16 (c) Isolate B1: 26	Isolat B1: 26	Isolat B1: 26	Aislado B1: 26		
absent	absente	fehlend	ausente	Colorado, Discovery	1
present	présente	vorhanden	presente	Balesta, Bedford	9
39.17 (c) Isolate B1: 27	Isolat B1: 27	Isolat B1: 27	Aislado B1: 27		
absent	absente	fehlend	ausente	Balesta, Green Towers	1
present	présente	vorhanden	presente	Bedford	9

[Sigue el Anexo II]

Amendment of Ad. 39 in Chapter 8

The current wording is reproduced on pages 1 to 6.
The proposed new wording is indicated on pages 7 to 9.

Current wording:

Ad. 39: Resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*)

Useful Dm-Genes

DUS examiners should test for Dm-genes of practical value which are directly involved in giving useful resistance in lettuce varieties, and obscure or irrelevant Dm-genes need not routinely be tested.

The currently useful Dm-genes are: 2, 3, 5/8, 6, 7, 11, 14, 16 and 18, as well as R17, R36, R37 and R38 factors. Only these should be tested on a routine basis.

Special Tests

Special tests may be required for Dm1, Dm4, Dm15 and Dm10 (useful in the United States of America and Australia).

If breeders claim the presence of Dm-genes other than those mentioned above, then they should state in the Technical Questionnaires how the presence of these genes could be detected and, if appropriate, submit the relevant *Bremia* isolate to the testing centre to verify the claim. Special tests may be carried out for other Dm-genes if claimed by breeders as being appropriate for DUS examination.

Bremia Races

The following *Bremia* races should be used to determine whether a lettuce variety possesses the Dm-genes listed above: Bl:2, Bl:5, Bl:7, Bl:12, Bl:14, Bl:15, Bl:16, Bl:17, Bl:18, Bl:20, Bl:21, Bl:22, Bl:23, Bl:24 and Bl:25. For special discrimination between Dm 5/8 and Dm 7, Bl:7 is proposed.

These isolates possess a wide range of virulences. For details, please refer to relevant literature.

New Isolates

Additional isolates could be added to test for any useful new Dm-genes that might arise.

If new isolates of *Bremia* arise that can either detect novel Dm-genes in lettuce varieties or effectively replace an isolate listed above, then these isolates should be added to those listed.

Testing of *Bremia* Isolates

There are two centres, the “Station nationale d’essais de semences” (SNES) in France and the NAK Tuinbouw in the Netherlands, which would verify and test the isolates listed above and any new isolates that are used in routine tests. These centres should make these verified isolates available, against payment of prescribed fees, to the testing centres of other UPOV members.

The addresses of the centres are as follows:

Station nationale d’essais de semences (SNES)
Rue Georges Morel
B.P. 24
49071 Beaucouzé Cedex
France
Tél. : +33 (0) 2 41 22 58 00
Tlcp. : +33 (0) 2 41 22 58 01
Mél. : service.clients@geves.fr

NAK Tuinbouw
Sotaweg 20
P.O. Box 40
2370 AA Roelofarendsveen
Pays-Bas
Tél. : + 31 (0) 71 332 62 62
Tlcp. : + 31 (0) 71 332 63 63
Mél. : info@naktuinbouw.nl

Table of *Bremia* differentials:

		Variety	Cobham Green	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	PIVT 1309	LSE/18	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argeles	Sextet code
	Dm nr/R nr		0	1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	18/	36	37	38	
	Sextet nr			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
	Sextet value			1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	
IBEB code	Alias																						
Bl:1	NL 1		+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	BL-A 11/58/00/00
Bl:2	NL 2		+	+	+	+	+	+	+	-	+	(-)	+	+	+	-	-	-	(-)	-	-	+	BL-A 63/58/00/01
Bl:3	NL 3		+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	(+)	+	-	-	-	-	(-)	-	BL-A 56/59/01/00
Bl:4	NL 4		+	+	+	-	+	+	(-)	+	+	(-)	+	+	+	-	(-)	-	(-)	-	-	-	BL-A 27/59/00/00
Bl:5	NL 5		+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	BL-A 05/27/01/00
Bl:6	NL 6		+	+	+	-	+	+	(-)	-	+	+	+	+	+	-	(-)	-	-	-	-	-	BL-A 27/62/00/00
Bl:7	NL 7		+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	BL-A 47/59/00/00
Bl:10	NL 10		+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	(+)	(-)	-	-	-	-	-	-	BL-A 63/59/00/00
Bl:11	NL 11		+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	BL-A 57/59/03/00
Bl:12	NL 12		+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	BL-A 57/63/03/00
Bl:13	NL 13		+	+	-	+	-	+	(-)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	BL-A 21/63/00/00
Bl:14	NL 14		+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	BL-A 63/62/00/00
Bl:15	NL 15		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	BL-A 31/31/00/00
Bl:16	NL 16/BL-16		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	BL-A 63/31/02/00
Bl:17	BL-17		+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	BL-A 22/59/41/00
Bl:18	BL-18		+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	BL-A 59/31/10/00
Bl:19	BL-19		+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	BL-A 63/62/00/01

TC/47/24
Anexo II, página 4

	Variety	Cobham Green	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Captian	Hilde II	Penlake	UC DM14	PIVT 1309	LSE/18	LS-102	Colorado	Ninja	Discovery	Argeles	Sextet code
Bl:20	BL-20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	BL-A 63/31/10/00
Bl:21	BL-21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	BL-A 63/31/51/00
Bl:22	BL-22	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	BL-A 59/63/09/00
Bl:23	BL-23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	BL-A 63/31/02/01
Bl:24	BL-24	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	BL-A 59/31/10/01
Bl:25	BL-25	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	BL-A 59/31/42/00
	S1	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	BL-A 61/59/01/00
	SF1	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	BL-A 23/59/35/00
	IL4	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	BL-A 27/63/03/01
	CS9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	BL-A 63/63/01/00
	TV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	BL-A 63/59/03/00

“+”: susceptible
“-”: resistant
“(-)”: incomplete resistance
“(+)”: incomplete susceptibility

Use of the sextets method to describe the resistance of varieties of lettuce to *Bremia*:

The resistance genes or Dm factors are grouped together in sixes (sextet):

- 1st sextet : 1, 2, 3, 4, 5/8, 6
 2nd sextet : 7, 10, 11, 12, 13, 14
 3rd sextet : 15, 16, 17, 18, 36, 37
 4th sextet : 38

Each resistance gene or Dm factor receives a sextet number and each sextet number has a specific value (see table below).

Within each sextet, the values are allocated as follows:

- race overcoming the gene or Dm factor – (+) = sextet value
- race not overcoming the gene or Dm factor – (-) = 0 value.

All these values are then added together within the sextet in order to obtain an overall number per sextet. This number allows the race virulence spectrum to be found (only one virulence combination can correspond to a sextet value).

Dm Sextet number	1 st sextet						2 nd sextet						3 rd sextet													
	Sextet value	1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	12	13	14	15	16	...										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	...											
	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	...											
Sextet value	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-												
	1	+	2	+	0	+	8	+	0	+	0	0	+	2	+	0	+	8	+	16	+	32	0	+	0	...
	= 11						= 58																			

Thus, a race with a maximum value of 63 for a sextet is virulent on all the genes or Dm and, conversely, a 0 value characterizes non-virulence on the six genes or Dm of the same sextet.

Resistance Testing Methods

The following guidelines are suggested for *Bremia* testing:

(a) Maintenance: *Bremia* races should be maintained on varieties possessing no known Dm-genes, or only obscure Dm-genes, e.g. Cobham Green, Lobjoits Green Cos, Hilde (Dm12), Olof. An alternative would be to use varieties/breeding lines which are selective for each particular isolate. The purity and quality of these maintenance varieties is important and it may be necessary to commission a seed producer to produce an adequate supply of good quality seed.

(b) Host differentials: Standard control varieties, that express the resistance genes that are being tested for, should always be used in tests, as a check. These standard varieties are available from GEVES Brion in France and NAK Tuinbouw, Netherlands:

GEVES Brion
Domaine de la Boisselière
49250 Brion
France

NAK Tuinbouw
Sotaweg 20, P.O. Box 40
2370 AA Roelofarendsveen
Netherlands

(c) Sample Size: At least 30 separate plants of each variety should be tested to establish the uniformity of the variety's Dm-gene component.

(d) Temperature: Incubation of inoculated seedlings or leaf discs should be at 15-18°C.

(e) Inoculum Concentration: The optimum is around 1×10^5 spores per ml; at least 3×10^4 should be used. If inoculated seedlings are used, they may be inoculated prior to the emergence of the first leaf.

(f) Illumination: Adequate illumination should be provided for good plant growth. Seedlings should have fully expanded cotyledons and the plants should not be etiolated.

(g) Recording: The recording time should be as follows:

- First recording: when the control has maximum sporulation;
- Second recording: 3 days after first recording;
- Third recording: 3 days after second recording.

(In case of resistant varieties some plants may show leaf necrosis at the first recording.)

Proposed new wording

Ad. 39: Resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*)

Availability of *Bremia* isolates and differentials

The "Station nationale d'essais de semences" (SNES) in France and Naktuinbouw in the Netherlands verify and test *Bremia* isolates as defined and denominated by the International *Bremia* Evaluation Board (IBEB). SNES and Naktuinbouw are responsible for delivery of denominated isolates to the testing centres of other UPOV members against payment of prescribed fees.

The addresses of the centres are as follows:

Station nationale d'essais de semences (SNES)
Rue Georges Morel
B.P. 24
49071 Beaucouzé Cedex
France
Tél. : +33 (0) 2 41 22 58 00
Tlcp. : +33 (0) 2 41 22 58 01
Mél. : service.clients@geves.fr

Naktuinbouw
Sotaweg 22
P.O. Box 40
2370 AA Roelofarendsveen
Netherlands
Tel. : + 31 (0) 71 332 62 62
Fax. : + 31 (0) 71 332 63 63
Email : info@naktuinbouw.nl

The common differential set of lettuce varieties and lines for determination of *Bremia* isolates is available from Naktuinbouw in the Netherlands (address as above) and GEVES in France at the following address:

GEVES Brion
Domaine de la Boisselière
49250 Brion
France

Resistance Testing Methods

(a) Maintenance: *Bremia* races may be maintained on varieties or breeding lines which are more or less selective for each particular isolate. It is essential to multiply Bl: 27 on selective plant material e.g. NunDm17.

(b) Host differentials: The host differential set that can distinguish all important *Bremia* races should always be used in tests, as a check on the identity of the isolate.

(c) Sample Size: minimum 30 plants

(d) Temperature: Incubation of inoculated seedlings or leaf discs should be at 15-18°C.

(e) Inoculum Concentration: The optimum is around 1×10^5 spores per ml; at least 3×10^4 should be used.

(f) Illumination: Adequate illumination should be provided for good plant growth. Seedlings should have fully expanded cotyledons and the plants should not be etiolated.

(g) Recording: The recording time should be after 7, 10 and 13 days, or two of these three times. The time of maximum sporulation should occur in this period.

(h) Substrate: Seedling tests may be conducted on potting soil substrate or a substrate of paper wetted with a suitable mineral nutrient solution. Leaf disc tests may be conducted on wet paper without nutrients. Generally, the test on soil substrate will give a better discrimination of resistance and susceptibility.

(i) Observation and interpretation:

<u>Table legend</u>	<u>Observation</u>	<u>Interpretation</u>
+	Abundant or normal sporulation on cotyledons	Susceptible
(+)	Normal sporulation and necrotic spots	Susceptible
(-)	Necrosis and (sometimes) sparse sporulation on cotyledons	Resistant
-	no symptoms	Resistant

Table of *Bremia* differentials and races:

Isolates	Differentials	Green Towers	Lednický	UC DM2	Dandie	R4T57D	Valmaine	Sabine	LSE 57/15	UC DM10	Capitan	Hilde II	Pennlake	UC DM14	NunDm15	LSE/18	NunDm17	Colorado	Ninja	Discovery	Argelès	RYZ 2164	RYZ 910457	Bedford	Balesta	Bellissimo
Bl: 1	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	(-)	+	+	+	-	-	(-)	-	-	-	+	-	-	-	+	+
Bl: 3	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	(+)	+	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	+
Bl: 4	+	+	+	-	+	+	+	(-)	+	+	(-)	+	+	+	-	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 5	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-
Bl: 6	+	+	+	-	+	+	+	(-)	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-
Bl: 7	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-
Bl: 11	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 12	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 13	+	+	-	-	+	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 14	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 15	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 17	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	(+)	-	-
Bl: 18	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Bl: 21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	(-)	-	-	-
Bl: 22	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	(-)	+	-	-
Bl: 23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Bl: 24	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Bl: 25	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Bl: 26	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Bl: 27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-

Note on table of *Bremia* differentials

The differential NunDm17 is a replacement for Ls102. The differential NunDm15 is a replacement for PIVT 1309. Ls102 and PIVT1309 have the same resistance pattern but poor germinability. More detailed information about the use of the table can be found in the relevant literature in chapter 9.

[Sigue el Anexo III]

ANEXO III

Addition of characteristic 41 “Resistance to *Nasonovia ribisnigri* biotype Nr: 0”***Proposed wording:***

41 (+)	VG	Resistance to <i>Nasonovia ribisnigri</i> biotype Nr: 0	Résistance au <i>Nasonovia ribisnigri</i> biotype Nr: 0	Resistenz gegen <i>Nasonovia ribisnigri</i> Biotyp Nr: 0	Resistencia al <i>Nasonovia ribisnigri</i> biotype Nr: 0		
		absent	absente	fehlend	ausente	Green Towers, Abel, Nadine	1
		present	présente	vorhanden	presente	Silvinas, Barcelona, Dynamite	9

[Sigue el Anexo IV]

ANEXO IV

Addition of an explanation in Chapter 8 Ad. 41***Proposed wording:***

Ad. 41: Resistance to *Nasonovia ribisnigri* biotype Nr: 0

Maintenance of biotype

Nasonovia ribisnigri is a leaf aphid and may be maintained alive on susceptible lettuce plants in aphid-proof chambers or tents in a glasshouse. *N. ribisnigri* is usually green, but some biotypes are red. A red aphid is easier to see on a green leaf. Therefore red biotypes are usually preferable. The aphid's body size is 1.5-2.5 mm. The body has 7 dark spots. The ends of the legs are black.

The common biotype Nr: 0 can be distinguished from resistance-breaking biotypes by means of a biotest using a suitable resistant control variety, for example Silvinas.

Multiplication:

On a susceptible variety at 20-22°C for 10-14 days. Aphids are shaken off into a Petri-dish.

Sowing:

12°C for germination and early growth; plant distance at least 5 cm.

Number of plants to be tested: 28.

Inoculation method:

Careful transfer of 5 aphids per plant using a fine paintbrush.

Plant stage at inoculation: 15 days.

Temperature: 20-22°C.

Observation:

First observation: 10 days after inoculation.

Second observation: daily check whether newborn aphids are mature (= red).

End of test: max. 15 days after inoculation.

Observation at end of test: Count the number of mature (= red) aphids on each plant.

<u>Scale for observations:</u>	<u>Interpretation of data</u>
0 no aphids	Resistant
1 1-5 aphids per plant	Resistant
2 6-10 aphids per plant	Undecided
3 > 10 aphids per plant	Susceptible

Remarks

Resistant control varieties and susceptible control varieties should have at least 95% (26/28) resistant plants and susceptible plants, respectively.

If more than 2 of 28 plants of the control varieties are undecided or off type, the experiment should be repeated.

Adición de un punto en el Capítulo 9

Se deberá añadir la obra siguiente en el Capítulo 9:

“Van der Arend et al., 2007: Identification and nomination of new races of *Bremia lactucae* in Europe by IBEB until 2006. Eucarpia Leafy Vegetables 2007 Conference Abstracts, 18-20 April 2007, University of Warwick, Poster presentations, pp. 27 v.v.”

[Sigue el Anexo VI]

ANEXO VI

COMENTARIOS DE MARRUECOS EN RELACIÓN CON EL NUEVO CARÁCTER PROPUESTO “FRUTO: NÚMERO DE SEMILLAS (POLINIZACIÓN CRUZADA MANUAL CONTROLADA)” Y VIABILIDAD DEL POLEN EN LAS DIRECTRICES DE EXAMEN DE LA UPOV PARA EL MANDARINO**Comentario 1: Fertilidad del óvulo**

En las directrices de examen de la UPOV, a fin de examinar la fertilidad del óvulo únicamente encontramos el carácter N° 99 “Fruto: número de semillas (polinización cruzada)”. Este carácter corresponde al estudio de la fertilidad femenina en condiciones de polinización abierta.

La propuesta española sobre este carácter, es decir, relativo a la fertilidad femenina, conlleva la introducción de un nuevo carácter *98bis*, que es el estudio de la fertilidad femenina mediante polinización cruzada.

Sin embargo:

1. Se ha puesto de manifiesto que el estudio de la fertilidad femenina en los cítricos es más eficaz en condiciones de polinización abierta que en las de polinización manual (**Masahi y otros, 1995**).

2. **Brown y Krezdorn (1969)**, han informado de que las pruebas de polinización corrientes que conllevan aplicaciones masivas de polen no son suficientes de por sí para distinguir las variedades que constituyen polinizadoras adecuadas y el grado de fertilidad femenina.

De hecho, no se tienen en cuenta la preferencia de las abejas por las especies o variedades, la cantidad de polen acarreado por las abejas, el número de visitas que efectúan las abejas a las flores de los cítricos y la cantidad de polen producido por flores de determinadas variedades. Estos factores que no se tienen en cuenta en el nuevo carácter propuesto se tienen en cuenta en el carácter 99 (directrices de examen de la UPOV) que corresponde al estudio de la fertilidad femenina.

Comentario 2: Viabilidad del polen

En la versión original (CH4.2: Elección de caracteres, directrices de examen de la UPOV para el mandarino), el carácter 25 “Anteras: polen viable” se observa mediante dos niveles de expresión: “ausente o presente”. Para cambiar este carácter mediante la adición de distintos niveles de expresión de la viabilidad del polen, la propuesta de España se basaba en el hecho de que el número de semillas en el fruto depende de la viabilidad del polen.

Sin embargo:

1. En un estudio se daba cuenta de que la capacidad de producir semillas en la variedad Orlando tangelos a partir del polen de la variedad Minneola no puede atribuirse a la reducida viabilidad del polen puesto que el polen de dicha variedad en las flores del naranjo King producían el nivel más elevado de semillas de todas las combinaciones examinadas, con una media de 30 semillas por fruto (**Philip y otros, 1961**).

2. Masashi y otros (2006): en un estudio ideado para investigar la compatibilidad e incompatibilidad entre la mandarina y la variedad Ariake examinando el crecimiento del tubo polínico en los estilos de la variedad Ariake y la clementina y el cruzamiento recíproco, se puso de manifiesto que en esas dos variedades se inhibía la generación del polen, aunque ambas podían producir polen viable.

El número de semillas en los frutos depende de la compatibilidad del polen con el estigma de la variedad hembra y la viabilidad del polen en lugar de depender únicamente del grado de viabilidad del polen.

Conclusiones

Sobre la base de esos argumentos, cabe estimar la fertilidad del óvulo mediante la polinización abierta en lugar de la polinización manual y no se añadirá en la UPOV el nuevo carácter propuesto por el *experto de España*.

El número de semillas en los frutos depende de la compatibilidad del polen con el estigma de la variedad hembra y la viabilidad del polen en lugar de depender únicamente del grado de viabilidad del polen.

Por otra parte, respaldamos las observaciones formuladas por la Delegación de Australia en relación con las condiciones de experimentación en el caso de la polinización manual. Esto supone que en los experimentos se debería usar una fuente de polen que no es viable en la práctica.

Referencias:

Brown H. D. and Krezdorn A. H. 1969. Hand and pollination tests and field evaluation of pollinators for citrus . FLORIDA STATE HORTICULTURAL SOCIETY.,

Philip C. Reece. Robert O. Register. 1961. Influence of pollinators on fruit set on robinson and Osceola tangerine hybrids. 1961. Florida state horticultural society.

Massashi Y., Tatsuya K., Shigeto T. 2006. Self-and cross-incompatibility of various Citrus Accessions. J . japan. Soc. Hort. 75 (5), 372-378.

Massashi Y., Ryoji M., and Yoshio Y., 1995. Relationship between sterility and seedlessness in citrus. Japan. Soc. Hort. Sci 64 (1): 23-29.

[Fin del Anexo VI y del documento]