



TC/47/24

ORIGINAL : anglais

DATE : 24 février 2011

UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES
GENÈVE

COMITÉ TECHNIQUE

Quarante-septième session
Genève, 4 - 6 avril 2011

RÉVISIONS PARTIELLES DES PRINCIPES DIRECTEURS D'EXAMEN

Document établi par le Bureau de l'Union

1. Le présent document vise à présenter les propositions de révisions partielles des principes directeurs d'examen ci-après, pour examen par le Comité technique à sa quarante-septième session qui se tiendra à Genève du 4 au 6 avril 2011 :

Principes directeurs d'examen pour la Laitue (document TG/13/10)

Principes directeurs d'examen pour l'Épinard (document TG/55/7)

Principes directeurs d'examen pour le Mandarinier (*Citrus* L.- Groupe 1)
(document TG/201/1)

RÉVISION PARTIELLE DES PRINCIPES DIRECTEURS D'EXAMEN POUR LA LAITUE (DOCUMENT TG/13/10)

2. À sa quarante-quatrième session tenue à Veliko Tarnovo (Bulgarie) du 5 au 9 juillet 2010, le Groupe de travail technique sur les plantes potagères (TWV) est convenu de proposer la révision des principes directeurs d'examen pour la Laitue (document TG/13/10) qui figure aux annexes I à V du présent document;

Annexe I : Modification du caractère 39 dans le tableau des caractères

Annex II : Amendment of Ad.39 information Chapter 8

Annex III : Ajout du caractère 41 "Résistance à *Nasonovia ribisnigri* biotype Nr: 0"

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

Annex V : Ajout d'une référence au chapitre 9

RÉVISION PARTIELLE DES PRINCIPES DIRECTEURS D'EXAMEN
POUR L'ÉPINARD (DOCUMENT TG/55/7)

3. À sa quarante-quatrième session tenue à Veliko Tarnovo (Bulgarie) du 5 au 9 juillet 2010, le TWV est convenu de proposer la révision des principes directeurs d'examen pour l'Épinard (document TG/55/7) comme suit :

a) Correction de la dénomination de l'agent pathogène *Peronospora farinosa* f. sp. *spinaciae* au caractère 17

b) Ajout de "Race Pfs: 11" au caractère 17, y compris de variétés indiquées à titre d'exemple, comme suit :

17.	VG	Resistance to <i>Peronospora farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i>	Résistance à <i>Peronospora farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i>	Resistenz gegen <i>Peronospora farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i>	Resistencia a <i>Peronospora 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) Ajout d'une colonne pour "Pfs: 11" dans le tableau des variétés témoins permettant d'identifier les souches sous Ad. 17, comme suit :

Variétés témoins permettant d'identifier les souches

Les souches Pfs : 1-8 et 10-11 de *Peronospora farinosa* f. sp. *spinaciae* sont définies à l'aide d'une palette de variétés témoins dites différentielles conformément au tableau suivant :

Variété différentielle	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

Légende : R = résistance présente; S = résistance absente, sensibilité

RÉVISION PARTIELLE DES PRINCIPES DIRECTEURS D'EXAMEN
POUR LE MANDARINIER (CITRUS L. - GROUPE 1) (DOCUMENT TG/201/1)

4. À sa quarante et unième session tenue à Cuernavaca, État de Morelos (Mexique), du 27 septembre au 1^{er} octobre 2010, le Groupe de travail technique sur les plantes fruitières (TWF) a examiné le document TWF/41/28 présenté par MM. Pedro Miguel Chomé Fuster et Guillermo Soler Fayos (Espagne).

5. Le TWF est convenu de proposer au Comité technique d'adopter la révision partielle des principes directeurs d'examen pour le Mandarinier sur la base du document TWF/41/28 (exemplaire disponible à l'adresse http://www.upov.int/export/sites/upov/restrict/en/twf/41/twf_41_28.pdf) avec les réserves émises par des experts du Maroc en ce qui concerne le nouveau caractère proposé (à la suite du caractère 98) "Fruit : nombre de pépins (allogamie manuelle contrôlée)", au sujet duquel les experts du Maroc ont indiqué qu'il leur faudrait davantage de temps pour examiner le nouveau caractère. Le TWF est convenu que le Comité technique devrait être invité à examiner les "Observations formulées par le Maroc en ce qui concerne le nouveau caractère proposé "Fruit : nombre de pépins (allogamie manuelle contrôlée) et la viabilité du pollen dans les principes directeurs d'examen de l'UPOV pour le Mandarinier", qui figurent à l'annexe VI du présent document, parallèlement à l'examen de la proposition de révision partielle des principes directeurs d'examen pour le Mandarinier.

6. À sa réunion tenue le 6 janvier 2011, le Comité de rédaction élargi (TC-EDC) a conclu que certaines questions techniques devaient être résolues et a recommandé de renvoyer ces questions au TWV afin que celui-ci les examine plus avant.

7. Le TC est invité à examiner le contenu du présent document parallèlement au document TC/47/2.

[Les annexes suivent]

ANNEX I

Modification du caractère 39 dans le tableau des caractères

Les modifications proposées sont indiquées comme suit :

surbrillance : ajout proposé
~~*barré*~~ : suppression proposée

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten 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 BI: 2	Isolat BI: 2	Isolat BI: 2	Aislado BI: 2		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Ninja	9
39.2	(c) Isolate BI: 5	Isolat BI: 5	Isolat BI: 5	Aislado BI: 5		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Sabine	9
39.3	(c) Isolate BI: 7	Isolat BI: 7	Isolat BI: 7	Aislado BI: 7		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Valmaine, Verpia	9
39.4	(c) Isolate BI: 12	Isolat BI: 12	Isolat BI: 12	Aislado BI: 12		
	absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, Green Towers	1
	present	présente	vorhanden	presente	Danilla, Geisha, Dandie, UCDM12	9

English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
39.5 (c) Isolate BI: 14	Isolat BI: 14	Isolat BI: 14	Aislado BI: 14		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde, Green Towers	1
present	présente	vorhanden	presente	Santis, Sifra, Verpia, Colorado, Ninja	9
39.6 (c) Isolate BI: 15	Isolat BI: 15	Isolat BI: 15	Aislado BI: 15		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Hilde II, 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 II	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 II	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 II	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 II	1
present	présente	vorhanden	presente	Argelès, Ninja	9

English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
39.11 (c) Isolate B1: 21	Isolat B1: 21	Isolat B1: 21	Aislado B1: 21		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde II	1
present	présente	vorhanden	presente	Argelès, Colorado Ninja	9
39.12 (c) Isolate B1: 22	Isolat B1: 22	Isolat B1: 22	Aislado B1: 22		
absent	absente	fehlend	ausente	Cobham Green, Green Towers, Hilde II	1
present	présente	vorhanden	presente	Discovery, Ninja, Coralis, Torpedo	9
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

English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
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

[L'annexe II follows]

ANNEXE 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	Lednicky	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
Annex II, page 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)	Naktuinbouw
Rue Georges Morel	Sotaweg 22
B.P. 24	P.O. Box 40
49071 Beaucouzé Cedex	2370 AA Roelofarendsveen
France	Netherlands
Tél. : +33 (0) 2 41 22 58 00	Tel. : + 31 (0) 71 332 62 62
Tlcp. : +33 (0) 2 41 22 58 01	Fax. : + 31 (0) 71 332 63 63
Mél. : service.clients@geves.fr	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	Differentials																										
		Green Towers	Lednicky	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.

[Annex III follows]

ANNEX 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

[Annex IV follows]

ANNEX 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.

[Annex V follows]

Ajout d'une référence au chapitre 9

La référence ci-après doit être ajoutée au chapitre 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.”

[Annex VI follows]

**OBSERVATIONS FORMULÉES PAR LE MAROC
EN CE QUI CONCERNE LE NOUVEAU CARACTÈRE PROPOSÉ
“FRUIT : NOMBRE DE PÉPINS (ALLOGAMIE MANUELLE CONTRÔLÉE)”
ET LA VIABILITÉ DU POLLEN DANS LES PRINCIPES DIRECTEURS
D’EXAMEN DE L’UPOV POUR LE MANDARINIER**

Observation 1 : fécondité de l’ovule

Dans les principes directeurs d’examen de l’UPOV, pour l’essai de la fécondité de l’ovule, on ne trouve que le caractère 99 “Fruit : nombre de pépins (fécondation libre)”. Ce caractère correspond à l’étude de la fécondité femelle dans des conditions d’allogamie. La proposition de l’Espagne en ce qui concerne ce caractère, à savoir la fécondité femelle, signifie qu’il faut introduire un nouveau caractère, le caractère 98 bis, qui est l’étude de la fécondité femelle par allogamie.

Cependant :

1- Il a été démontré que l’étude de la fécondité femelle chez les agrumes est plus efficace dans des conditions de fécondation libre que dans des conditions de pollinisation manuelle (Masahi et al., 1995).

2- Brown & Krezdorn. (1969), rapportent que les essais de pollinisation standard impliquant des applications massives de pollen seul ne suffisent pas pour isoler les variétés qui sont de bons agents de pollinisation et pour distinguer le degré de fécondité femelle. En effet, ils ne tiennent pas compte des espèces ou des variétés préférées des abeilles, de la quantité de pollen transporté par les abeilles, du nombre de fois que les abeilles visitent les fleurs des agrumes ou de la quantité de pollen produite par les fleurs des variétés concernées. Ces éléments, qui sont ignorés dans le nouveau caractère proposé, sont pris en considération dans le caractère 99 (principes directeurs d’examen de l’UPOV) qui correspond à l’étude de la fécondité femelle.

Observation 2 : viabilité du pollen

Dans la version originale (Ch4.2 : Choix des caractères, principes directeurs d’examen de l’UPOV pour le Mandarinier), le caractère 25 “Anthère : pollen viable” comprend deux niveaux d’expression : “absent ou présent”. Afin de modifier ce caractère par ajout de différents niveaux d’expression relatifs à la viabilité du pollen, la proposition de l’Espagne indique que le nombre de pépins dans le fruit dépend de la viabilité du pollen.

Cependant :

1-II a été rapporté dans une étude que la grenaison réduite chez Orlando Tangélo fécondé par du pollen de Minneola ne peut être due à la faible viabilité du pollen, car le pollen de Minneola sur des fleurs d’Orange King produit un degré élevé de grenaison dans toutes les combinaisons essayées, avec en moyenne 30 pépins dans le fruit King (Philip. et al. 1961).

2- **Masashi et al. (2006)**, dans une étude visant à déterminer la compatibilité et l'incompatibilité entre le Mandarinier et la variété Ariake, ont démontré que la croissance du tube pollinique dans les styles de Ariake x Clémentinier et la combinaison croisée réciproque, Clémentinier x Ariake est inhibée, alors que les deux obtentions pourraient produire un pollen viable.

Le nombre de pépins dans le fruit dépend de la compatibilité du pollen avec le stigmate de la variété femelle, et de la viabilité du pollen plutôt que du degré de viabilité du pollen uniquement.

Conclusions

Compte tenu de ces arguments, la fécondité de l'ovule peut être estimée par pollinisation ouverte plutôt que par pollinisation manuelle et le nouveau caractère proposé par *un expert d'Espagne* ne doit pas être ajouté dans les principes directeurs d'examen de l'UPOV.

Le nombre de pépins dans les fruits dépend de la compatibilité du pollen avec le stigmate de la variété femelle, et de la viabilité du pollen plutôt que du degré de viabilité du pollen uniquement.

Par ailleurs, nous appuyons les observations formulées par la délégation de l'Australie en ce qui concerne les conditions d'expérimentation relatives à la pollinisation manuelle. Cela signifie que dans le cadre d'une expérience on devrait utiliser une source de pollen qui dans la pratique n'est pas utilisable.

Références :

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.

[End of Annexes and of document]