

UNION INTERNATIONALE POUR LE PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES

Genève

COMITÉ TECHNIQUE

Quarante-neuvième session Genève, 18-20 mars 2013

RÉVISION DU DOCUMENT TGP/8 : DEUXIÈME PARTIE :
 TECHNIQUES UTILISÉES DANS L'EXAMEN DHS
 NOUVELLE SECTION 11 : EXAMEN DHS SUR DES ÉCHANTILLONS GLOBAUX

Document établi par le Bureau de l'Union

1. L'objet du présent document est de soumettre un projet de conseils relatifs à l'examen DHS sur des échantillons globaux aux fins de son inclusion dans une future version révisée du document TGP/8.

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

| | |
|----------|---|
| 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'ordinateurs |
| TWF : | Groupe de travail technique sur les plantes fruitières |
| TWO : | Groupe de travail technique sur les plantes ornementales et les arbres forestiers |
| TWP : | Groupes de travail techniques |
| TWV : | Groupe de travail technique sur les plantes potagères |

INFORMATIONS GÉNÉRALES

3. À sa quarante-huitième session tenue à Genève du 26 au 28 mars 2012, le Comité technique (TC) a examiné la révision du document TGP/8 "Protocole d'essai et techniques utilisés dans l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité" sur la base du document TC/48/19 Rev. Il a noté que les nouvelles versions des sections pertinentes devraient être préparées pour le 26 avril 2012 au plus tard de telle sorte que ces sections puissent être incorporées dans le projet à examiner par les TWP à leurs sessions en 2012 (voir le paragraphe 49 du document TC/48/22 "Compte rendu des conclusions").

4. À sa quarante-huitième session, le TC est convenu que la nouvelle section 11 consacrée à l'examen DHS sur des échantillons globaux devrait être remaniée avec le concours d'experts DHS au Danemark afin de cibler les conseils à l'intention des examinateurs DHS et qu'elle devrait remplacer des modèles statistiques détaillés par une référence générale à des méthodes statistiques appropriées. Il est également convenu que l'exemple de la betterave sucrière devrait être remplacé par un exemple de plante pour laquelle il existait des principes directeurs d'examen de l'UPOV (voir le paragraphe 55 du document TC/48/22 "Compte rendu des conclusions").

OBSERVATIONS DES GROUPES DE TRAVAIL TECHNIQUES EN 2012

5 À leurs sessions en 2012, les TWA, TWV, TWC, TWF et TWO ont examiné les documents TWA/41/28, TWV/46/28, TWC/30/28, TWF/43/28 et TWO/45/28, respectivement, et fait les observations suivantes :

| | | |
|-------------|--|-----|
| Généralités | Le TWA a estimé que, s'agissant des échantillons globaux, il n'y avait aucune condition particulière pour l'évaluation de la distinction. Il est convenu que, aussi longtemps que des exemples pratiques ne pouvaient pas être fournis, aucun conseil spécifique pour l'évaluation de l'homogénéité n'était nécessaire (voir le paragraphe 40 du document TWA/41/34 "Report"). | TWA |
| | Le TWV a fait sienne la proposition du TWA, à savoir que, s'agissant des échantillons globaux, il n'y avait aucune condition particulière pour l'évaluation de la distinction (voir le paragraphe 39 du document TWA/46/41 "Report"). | TWV |
| | Le TWV a proposé que soit évaluée la perte de comparaison entre les essais individuels et les différents niveaux de regroupement (voir le paragraphe 40 du document TWA/46/41 "Report"). | TWV |
| | Le TWC a fait sienne la proposition du TWV, à savoir que la perte de comparaison entre les essais individuels et les différents niveaux de regroupement pourrait être évaluée si des données d'échantillons globaux étaient fournies (voir le paragraphe 38 du document TWA/30/41 "Report"). | TWC |
| | Le TWC a estimé que ces conseils seraient utiles pour la détermination du contenu des substances et l'électrophorèse et suggéré que des exemples pratiques de ces utilisations soient fournis (voir le paragraphe 39 du document TWA/30/41 "Report"). | TWC |
| | Le TWF a examiné le document TWF/43/28. Il est convenu que, aussi longtemps que des exemples pratiques ne pouvaient pas être fournis, aucun conseil spécifique pour l'évaluation de l'homogénéité n'était nécessaire (voir le paragraphe 28 du document TWA/43/38 "Report"). | TWF |
| | Le TWO a fait siennes les observations du TWF, à savoir est convenu que, aussi longtemps que des exemples pratiques ne pouvaient pas être fournis, aucun conseil spécifique pour l'évaluation de l'homogénéité n'était nécessaire (voir le paragraphe 37 du document TWA/45/37 "Report"). Le TWO a fait référence à des discussions qui avaient eu lieu dans le passé sur la lavande lorsque des échantillons globaux avaient été pris en considération (voir le paragraphe 38 du document TWA/45/37 "Report"). | TWO |

| | | |
|---|--|-----|
| Nouvelle section 11 : Examen DHS sur des échantillons globaux | Le TWC est convenu des modifications rédactionnelles suivantes dans le document (voir le paragraphe 40 du document TWC/30/41 "Report") : | TWC |
| | <ul style="list-style-type: none">• Introduction, première phrase : remplacer "part" par "parts"• Introduction, dernière phrase : remplacer "3" par "3 bulk samples"• Paragraphe 2, dernière ligne : supprimer "exclude" (duplication)• Testing for uniformity : libeller mean of the characteristic• Paragraphe 2 : libeller "based on the logarithm"• Paragraphe 4 : remplacer "has" par "have"• Paragraphe 4 : remplacer "consequence" par "consequences"• Paragraphe 4 : supprimer "that" (répétition)• Paragraphe 4 : libeller "recommended"• Page 2, deuxième ligne : libeller "as long as there is at least one"• Examples, première ligne : libeller "observations"• Dernier paragraphe : libeller "random variation, the effect of ..."• Page 3, en dessous du tableau : améliorer le libellé | |

OBSERVATIONS DU COMITÉ DE RÉDACTION ÉLARGI (TC-EDC) EN 2013

6. À sa réunion les 9 et 10 janvier 2013, le TC-EDC a examiné le document TC-EDC/Jan13/15 Rev. et fait les propositions suivantes :

| | |
|-----------------------------------|--|
| Observations de caractère général | envisager de remplacer la proposition actuelle par des conseils sur l'utilisation de caractères examinés sur la base d'échantillons globaux afin de s'assurer que les caractères répondent aux critères de base d'un caractère (voir Introduction générale, chapitre 4.2.1). Le TC-EDC a, en particulier, proposé qu'il soit demandé à des experts principaux de principes directeurs d'examen de fournir des données de différentes années pour démontrer que l'expression du caractère est "suffisamment cohérente et susceptible d'être répétée dans un environnement particulier" (voir Introduction générale, chapitre 4.2.1 b)). |
|-----------------------------------|--|

7. L'annexe du présent document (seulement en anglais*) contient le texte proposé pour la nouvelle section 11 – Examen DHS sur des échantillons globaux tel qu'il a été élaboré par M. Kristian Kristensen (Danemark). Les modifications à apporter au texte examiné par les TWP à leurs sessions de 2012 sont indiquées de la manière suivante : les éléments à supprimer sont soulignés et biffés et les éléments à ajouter sont soulignés et soulignés.

8. *Le TC est invité à se demander s'il convient de remplacer le texte proposé pour la nouvelle section 11 – "Examen DHS sur des échantillons globaux" dans l'annexe du présent document par des conseils sur l'utilisation de caractères examinés sur la base d'échantillons globaux afin de s'assurer que les caractères répondent aux critères de base d'un caractère comme indiqué dans le paragraphe 6.*

[L'annexe suit]

* À sa réunion des 9 et 10 janvier 2013, le TC-EDC est convenu qu'il n'était pas opportun de traduire le texte pour la quarante-neuvième session du TC.

ANNEXE

(SEULEMENT EN ANGLAIS)

TGP/8/1 : PART II : NEW SECTION 11 : EXAMINING DUS IN BULK SAMPLES

Introduction

The term "bulk sampling" is here used for the process of merging some or all individual plants or parts of plants before recording the expression of the characteristics. Bulking is usually only applied where the measurement of the characteristic is very expensive or very difficult to obtain for each individual plant. Some examples are: erucic acid in seed of Oilseed rape (TG/36/6 Corr.) which is usually based on a seed sample sent in by the applicant and thus there will be no possibility to have values for individual plants. Another example is the thousand seed mass of Pea (TG/7/10), which is usually bases on a bulked sample, e.g. 3 bulk samples by 100 seeds from each replicate.

There are different degrees of bulking ranging from: 1) merging of pairs of plants, 2) merging 3 or 4 up to all plants within a plot and 3) merging all plants for each variety. The degree of bulking may play an important role for the efficiency of the tests and may ~~exclude~~ even exclude some tests.

Consequences of bulking for DUS examination

The consequences of bulking will be more serious when testing for uniformity than when testing for distinctness.

Testing for Uniformity

If the test for uniformity is based on the number of off-types any bulking may completely mask the off-types as now only the mean of the characteristic over the bulked plants can be evaluated.

For many continuous variables uniformity is tested using the COYU method which is based on ~~the~~ logarithm of the standard deviation of individual plants within each plot. For this method the effect of moderate bulking is mainly caused by a decrease in the number of degrees of freedom and thereby larger uncertainty on the logarithm of the standard deviations. Moderate bulking (bulking pairs of plants) will in most cases decrease the power of tests. Further bulking, up to having only two bulked samples per plot will further decrease the power of the tests which means that the degree of non-uniformity must be much higher for it to be detected – about 3-4 times higher if 30 plants from each of two blocks were bulked into 2 groups of 15 plants for each of the two blocks before the recording was made. These calculations assume that equal amount of material were bulked from each plant. If that is not done the effect of bulking is expected to be larger.

In general, if all plants in a plot are bulked such that only a single sample is available for each plot, it becomes in general impossible to calculate the within plot variability and in such cases no tests for uniformity can be performed. In rare cases, where non-uniformity maybe judged from values that can only be found in mixtures, non-uniformity may be detected even where a single bulk sample for each plot is used. For example, in the characteristic "erucic acid" in oil seed rape, values between 2% and 45% can only arise because of a lack of uniformity. However this only applies in certain special cases and even here the non-uniformity may only show up under certain circumstances.

Bulking across plots ~~have has~~ the consequences ~~that~~ that part of the between plot (and block) variation will be included in the estimated standard deviation between bulks. If this variation is relatively large then this will tend to mask any differences in uniformity between varieties. In addition some noise may also be added because the ratio of material from the different plots may vary from bulk to bulk. Finally the assumptions for the present recommended method, COYU, may not be fulfilled in such cases. Therefore it is recommended only to bulk within plots.

Testing for distinctness

The effect of bulking will usually decrease the power of the distinctness much less than for the uniformity test – and may in some cases result in an ignorable small decrease in power. The reason for this is that both the COYD method and the 2×1% method are based on means (per year and variety for COYD method and per year, block and variety for the 2×1% method). Therefore, the only loss of precision here is the increase in variability caused by fewer measurements. The uncertainty caused by the measurement is usually much

smaller than the uncertainty caused by other sources such as plant, soil and climate. If the uncertainty caused by the measurement is very small (relatively to other sources of variation) it is thus expected that the decrease in power will be ignorable as long as there ~~are is~~ at least one bulked sample per year and variety for the COYD method and one bulked sample per year, block and variety for the 2x1% method. Also here it is assumed that equal amount of material were bulked from each plant. If that is not the case the effect of bulking may not be as small as described here.

Examples

Erucic acid in seed of Oilseed rape (TG/36/6 Corr.). For these data there is only one or two observations per variety and thus no possibility for statistics analysis. In Denmark the results of the analysis is converted to one of two states: erucic acid absent (1) or erucic acid present (9). No statistical analysis is carried out on this characteristic and the characteristic is only used for describing new varieties and thus no tests for distinctness or uniformity are carried out.

Thousand seed mass of fodder peas (TG/7/10). The data for a selected subset of varieties in Germany 2010 and 2011 are shown in table 1. For each replicate there are 3 recorded values each based on 100 seeds. The seeds are taken as a random sample from a bulk sample for each variety in each replicate, and the 100 seeds in each sample may represent up to 100 plants. Data from trials in Germany in 2010 and 2011 were used for the following simulation, but, for practical reasons only the first 20 varieties were used here.

The means across replicates for each variety in each year may be used for testing distinctness by the COYD method and the results show that variety Q was significant different from variety E and M at the 1% level of significance. As the measurement error in determining the thousand seed weight is expected to be small compared to the other sources of random variation, the effect of bulking is expected to be small when testing for distinctness. For the data shown here it can be verified that the effect is small by comparing the actual standard error on a difference between two varieties with the theoretical minimum value that could be obtained if measurements on 30 plants had been used instead of 3 samples in each replicate. The actual standard error was 11.53 and the theoretical minimum value was 11.46. So for this example the effect of bulking on the tests for distinctness using COYD is very small, but for other variables, crops or growing conditions the effect of bulking may be larger.

Table 1 Thousand seed mass for 20 fodder peas varieties for three bulked samples in two replicates in each of two years (variety Q is a candidate variety, while the other are reference varieties)

| Year | 2010 | | | | | | 2011 | | | | | |
|----------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Rep | 1 | | | 2 | | | 1 | | | 2 | | |
| Variety\Sample | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| A | 238 | 236 | 235 | 229 | 228 | 230 | 289 | 290 | 297 | 291 | 294 | 289 |
| B | 241 | 241 | 240 | 236 | 236 | 235 | 294 | 290 | 295 | 296 | 295 | 291 |
| C | 238 | 233 | 232 | 234 | 228 | 235 | 258 | 261 | 258 | 248 | 247 | 245 |
| D | 250 | 247 | 245 | 250 | 251 | 246 | 315 | 313 | 317 | 306 | 310 | 311 |
| E | 215 | 218 | 220 | 216 | 216 | 218 | 250 | 252 | 251 | 259 | 256 | 263 |
| F | 225 | 221 | 219 | 239 | 228 | 233 | 283 | 278 | 274 | 279 | 274 | 276 |
| G | 250 | 252 | 246 | 249 | 248 | 245 | 248 | 241 | 244 | 266 | 258 | 258 |
| H | 267 | 271 | 264 | 262 | 263 | 265 | 325 | 325 | 323 | 327 | 329 | 325 |
| I | 235 | 238 | 243 | 237 | 238 | 237 | 289 | 292 | 293 | 289 | 292 | 288 |
| J | 234 | 238 | 236 | 225 | 231 | 230 | 265 | 269 | 266 | 268 | 269 | 263 |
| K | 261 | 261 | 263 | 270 | 266 | 270 | 311 | 312 | 318 | 309 | 316 | 313 |
| L | 246 | 241 | 239 | 260 | 259 | 259 | 288 | 282 | 284 | 300 | 294 | 302 |
| M | 223 | 223 | 221 | 205 | 201 | 204 | 250 | 254 | 250 | 261 | 259 | 262 |
| N | 231 | 224 | 229 | 219 | 223 | 222 | 269 | 275 | 267 | 272 | 269 | 270 |
| O | 259 | 267 | 261 | 259 | 257 | 260 | 338 | 332 | 330 | 346 | 340 | 342 |
| P | 251 | 252 | 248 | 250 | 248 | 256 | 307 | 305 | 304 | 302 | 301 | 296 |
| Q | 242 | 239 | 238 | 237 | 243 | 245 | 307 | 305 | 304 | 308 | 315 | 311 |
| R | 270 | 262 | 261 | 259 | 262 | 258 | 317 | 318 | 314 | 314 | 322 | 321 |
| S | 255 | 263 | 253 | 263 | 258 | 267 | 318 | 308 | 314 | 310 | 315 | 311 |
| T | 242 | 244 | 241 | 242 | 240 | 246 | 293 | 285 | 289 | 299 | 291 | 293 |

The pooled standard deviations within each year can be used to test for uniformity using the COYU method. The COYU analyses has shown showed that the standard deviation for variety Q was slightly larger than the mean of standard varieties deviation for all reference varieties, but the standard deviation for variety Q was far from being significant ($P>50\%$). However, the power of the test is much lower than if no bulking had been performed. There are three reasons for this:

1. There are only 3 values available in each of two replicates and thus only 4 degrees of freedom (3-1 in replicate one and 3-1 in replicate two) for estimating the standard deviation instead of 58 degrees of freedom if the recordings had been made for each of 30 varieties in each replicate.
2. Each sample will contain observations from several plants which will tend to mask the differences between individual plants.
3. Because of the sampling method applied here seeds from many of the plants may very likely be represented in more samples (or even all samples) from the same replicate. This will make the differences between sample means small because a possible outlying plant will influence all samples where it occurs in the same direction and thus tend to mask the effect of outlying plants.

Remark: In current practice in Germany, the assessment of distinctness is based on the mean values for each variety. Individual replications are not considered for further calculations. There is no test for uniformity in this characteristic.