



TC/52/18

ORIGINAL : anglais

DATE : 27 janvier 2016

UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES

Genève

COMITÉ TECHNIQUE

Cinquante-deuxième session Genève, 14 – 16 mars 2016

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

Document établi par le Bureau de l'Union

Avertissement : le présent document ne représente pas les principes ou les orientations de l'UPOV

RÉSUMÉ

1. L'objet du présent document est de faire rapport sur les faits nouveaux concernant les conseils relatifs à l'examen DHS sur des échantillons globaux aux fins de leur inclusion dans une future version révisée du document TGP/8.
2. Le TC est invité à :
 - a) examiner le document de travail présenté par un expert des Pays-Bas, concernant les critères d'homogénéité s'appliquant aux caractères examinés sur la base d'un échantillon global, qui figure à l'annexe I du présent document, ainsi que les informations sur l'exemple de caractère examiné sur la base d'un échantillon global aux Pays-Bas, qui figurent à l'annexe II du présent document,
 - b) examiner les observations formulées par les TWP à leurs sessions de 2015, et
 - c) examiner la proposition relative à l'élaboration de conseils relatifs à l'examen DHS sur des échantillons globaux aux fins de leur inclusion dans une future version révisée du document TGP/8, présentée au paragraphe 22.
3. Le présent document est structuré comme suit :

RÉSUMÉ	1
INFORMATIONS GÉNÉRALES	2
FAITS NOUVEAUX EN 2015	2
COMITÉ TECHNIQUE	2
GROUPE DE TRAVAIL TECHNIQUE	2
PROPOSITION	4
ANNEXE I : DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES CRITÈRES D'HOMOGENÉITÉ S'APPLIQUANT AUX CARACTÈRES EXAMINÉS SUR LA BASE D'UN ÉCHANTILLON GLOBAL	
ANNEXE II : EXEMPLE DE CARACTÈRE EXAMINÉ SUR LA BASE D'UN ÉCHANTILLON GLOBAL AUX PAYS-BAS : TENEUR EN GLUCORAPHANINE	

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

TC :	Comité technique
TWA :	Groupe de travail technique sur les plantes agricoles
TWC :	Groupe de travail technique sur les systèmes d'automatisation et les programmes d'ordinateur
TWF :	Groupe de travail technique sur les plantes fruitières
TWO :	Groupe de travail technique sur les plantes ornementales et les arbres forestiers
TWP :	Groupes de travail techniques
TWV :	Groupe de travail technique sur les plantes potagères

INFORMATIONS GÉNÉRALES

5. Les informations générales sur cette question sont fournies dans le document TC/51/18 "Révision du document TGP/8 : deuxième partie : Techniques utilisées dans l'examen DHS, nouvelle section : Examen DHS sur des échantillons globaux".

FAITS NOUVEAUX EN 2015

Comité technique

6. À sa cinquante et unième session tenue à Genève du 23 au 25 mars 2015 (voir les paragraphes 140 à 145 du document TC/51/39 "Compte rendu"), le TC :

- est convenu que des informations complémentaires sur le respect des conditions relatives à un caractère DHS devraient être fournies dans l'exemple de caractère examiné sur la base d'un échantillon global;
- est convenu d'examiner plus avant s'il serait nécessaire d'analyser les plantes isolées pour la validation des caractères examinés sur la base d'échantillons globaux, ainsi que les incidences éventuelles en termes de coût, et a invité les groupes de travail technique à proposer d'autres approches pour l'examen de l'homogénéité;
- est convenu d'examiner plus avant si les caractères examinés sur la base d'échantillons globaux devraient être évalués en se fondant sur le nombre de plantes recommandé dans les principes directeurs d'examen au chapitre 4.1.4;
- est convenu que la détermination des niveaux d'expression devrait être fondée sur la variation existante entre les variétés et tenir compte de l'influence de l'environnement; et
- s'est félicité de l'offre de la France visant à fournir d'autres exemples de caractères sur la base d'échantillons globaux et a invité d'autres membres à fournir des exemples.

Groupes de travail techniques

7. Le TWV, le TWC, le TWA, le TWF et le TWO ont respectivement examiné les documents TWV/49/17, TWC/33/17, TWA/44/17, TWF/46/17 et TWO/48/17 (voir les paragraphes 49 à 57 du document TWV/49/32 Rev. "Revised Report", les paragraphes 28 à 35 du document TWC/33/30 "Report", les paragraphes 42 à 47 du document TWA/44/23 "Report", les paragraphes 45 à 50 du document TWF/46/29 Rev. "Revised Report" et les paragraphes 38 à 45 du document TWO/48/26 "Report").

8. Le TWV, le TWC, le TWA, le TWF et le TWO ont noté que le TC, à sa cinquante et unième session, était convenu que des informations complémentaires sur le respect des conditions relatives à un caractère DHS devraient être fournies dans l'exemple de caractère examiné sur la base d'un échantillon global et, à cet égard, ont examiné un document de travail présenté par un expert des Pays-Bas, concernant les critères d'homogénéité s'appliquant aux caractères examinés sur la base d'un échantillon global, qui figure à l'annexe I du présent document.

9. Le TWV a invité l'expert des Pays-Bas, avec le concours de l'Allemagne, de la France et de l'Union européenne, à poursuivre le travail réalisé pour améliorer le document de travail et à fournir des précisions sur les différentes approches possibles pour l'examen DHS et en ce qui concerne un caractère spécifique par rapport à la version présentée au TWV.

10. Le TWV est également convenu que les caractères devant être examinés sur la base d'échantillons globaux devaient être évalués avec attention avant d'être inclus dans les principes directeurs d'examen.

11. Le TWV a noté que la France, à la cinquante et unième session du TC, avait offert de fournir d'autres exemples de caractères sur la base d'échantillons globaux et a invité d'autres membres à fournir des exemples, en particulier pour les plantes potagères.

12. Le TWC est convenu que les éléments a) "Contrôle du caractère avant qu'il soit accepté dans les principes directeurs d'examen correspondants", d) "Sous-parcelles", g) "Analyse de l'ADN" et i) "Nombre de plantes" pourraient être davantage élaborés afin de servir de point de départ pour des conseils relatifs à l'analyse des caractères examinés sur la base d'échantillons globaux.

13. Le TWA a examiné le document de travail présenté par un expert des Pays-Bas, concernant les critères d'homogénéité s'appliquant aux caractères examinés sur la base d'un échantillon global, qui figure à l'annexe I du présent document. Le TWA a formulé les conclusions suivantes :

- avant d'inclure un caractère observé sur la base d'un échantillon global dans des principes directeurs d'examen, il conviendrait de s'assurer qu'il présente un intérêt réel pour l'examen DHS;
- les approches a) "Contrôle du caractère avant qu'il soit accepté dans les principes directeurs d'examen correspondants", d) "Sous-parcelles" et i) "Nombre de plantes" devraient être davantage élaborées en ce qui concerne l'analyse des conditions auxquelles doit satisfaire un caractère examiné sur la base d'échantillons globaux avant de pouvoir être utilisé aux fins de l'examen DHS ou de l'établissement d'une description variétale;
- l'approche g) "Analyse de l'ADN" est trop générale et ne fournit aucune information utile pour l'évaluation de l'homogénéité de caractères observés sur la base d'échantillons globaux. Le TWA a rappelé que les marqueurs moléculaires pouvaient être utilisés pour examiner les caractères DHS s'il existait une corrélation fiable entre le marqueur et le caractère, auquel cas l'évaluation sur la base d'échantillons globaux ne serait pas nécessaire.

14. Le TWO a fait siennes les conclusions du TWA et est également convenu que l'analyse de l'ADN présenterait un intérêt uniquement pour l'évaluation des caractères qui satisfont aux critères indiqués dans l'Introduction générale et lorsqu'il y a vérification de la fiabilité de la liaison entre le marqueur et le caractère, comme indiqué dans le document TGP/15 "Conseils en ce qui concerne l'utilisation des marqueurs biochimiques et moléculaires dans l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité (DHS)".

15. Le TWO a noté que certaines variétés de plantes ornementales étaient mises au point à des fins nouvelles, par exemple pour leur contenu chimique, et est convenu qu'il serait utile de poursuivre l'analyse des conditions auxquelles doit satisfaire un caractère examiné sur la base d'échantillons globaux avant de pouvoir être utilisé aux fins de l'examen DHS.

16. Le TWV, le TWC et le TWA ont examiné les informations fournies par l'expert des Pays-Bas, sur l'exemple de caractère examiné sur la base d'un échantillon global aux Pays-Bas, à savoir la teneur en glucoraphanine. Ces informations figurent à l'annexe II du présent document. Le TWA est convenu qu'il faudrait analyser les données obtenues à partir de l'évaluation du caractère pour comprendre les conclusions présentées.

17. Le TWV, le TWC et le TWA ont noté que le TC, à sa cinquante et unième session, était convenu d'examiner plus avant s'il serait nécessaire d'analyser les plantes isolées pour la validation des caractères examinés sur la base d'échantillons globaux, ainsi que les incidences éventuelles en termes de coût, et avait invité les groupes de travail technique à proposer d'autres approches pour l'examen de l'homogénéité.

18. Le TWV est convenu que les caractères examinés sur la base d'échantillons globaux devraient être évalués en se fondant sur le nombre de plantes recommandé dans les principes directeurs d'examen au chapitre 4.1.4.

19. Le TWC s'est interrogé sur la question de savoir si les caractères examinés sur la base d'échantillons globaux devraient être évalués en se fondant sur le nombre de plantes recommandé dans les principes directeurs d'examen au chapitre 4.1.4. Il est convenu que cette approche serait préférable d'un point de vue statistique, mais qu'elle n'était pas applicable à l'exemple fourni en raison du coût de l'analyse de la teneur en glucoraphanine sur des plantes isolées.

20. Le TWF s'est interrogé sur la question de savoir si les caractères examinés sur la base d'échantillons globaux devraient être évalués en se fondant sur le nombre de plantes recommandé dans les principes directeurs d'examen au chapitre 4.1.4 et a noté que chez certains membres, les observations visuelles sur des fruits de plantes fruitières multipliées par voie végétative étaient généralement effectuées sur 20 fruits et que l'évaluation de certains caractères, tels que l'acidité, le goût sucré ou la fermeté de la chair, entraînant la destruction de l'échantillon, portait sur 10 fruits.

21. Le TWF est convenu que les prélèvements effectués aux fins de l'évaluation des caractères, qui entraînaient la destruction de l'échantillon, consistait généralement à récolter les fruits typiques sur la même partie de l'arbre (même stade de développement, partie médiane de l'arbre) et à les mélanger. Le nombre approprié de fruits (10 ou 20) était alors sélectionné au hasard pour l'évaluation de chacun des caractères.

PROPOSITION

22. Compte tenu des observations formulées par le TC et les TWP, il est proposé d'examiner les points ci-après en vue de l'élaboration de conseils relatifs à l'examen DHS sur des échantillons globaux aux fins de leur inclusion dans une future version révisée du document TGP/8 :

- a) le caractère devrait remplir les conditions relatives à un caractère, énoncées dans l'Introduction générale à l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité et à l'harmonisation des descriptions des obtentions végétales" (voir la section 4.2.1 du document TG/1/3);
- b) des informations devraient être disponibles sur le déterminisme génétique du caractère;
- c) la pertinence du caractère devrait être validée par une évaluation initiale de l'homogénéité à partir de plantes isolées;
- d) des informations devraient être fournies sur la variabilité des plantes et leurs différences au cours des cycles de végétation (données extraites de mesures courantes relatives à un caractère sur plusieurs années);
- e) une description complète de la méthode d'évaluation devrait être fournie;
- f) la détermination des niveaux d'expression devrait être fondée sur la variation existante entre les variétés et tenir compte de l'influence de l'environnement.

23. *Le TC est invité à :*

- a) *examiner le document de travail présenté par un expert des Pays-Bas, concernant les critères d'homogénéité s'appliquant aux caractères examinés sur la base d'un échantillon global, qui figure à l'annexe I du présent document, ainsi que les informations sur l'exemple de caractère examiné sur la base d'un échantillon global aux Pays-Bas, qui figurent à l'annexe II du présent document,*
- b) *examiner les observations formulées par les TWP à leurs sessions de 2015, et*
- c) *examiner la proposition relative à l'élaboration de conseils relatifs à l'examen DHS sur des échantillons globaux aux fins de leur inclusion dans une future version révisée du document TGP/8, présentée au paragraphe 22.*

[Les annexes suivent]

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES CRITÈRES D'HOMOGENÉITÉ S'APPLIQUANT AUX CARACTÈRES EXAMINÉS SUR LA BASE D'UN ÉCHANTILLON GLOBAL

Document établi par un expert des Pays-Bas

1. Il existe différentes approches pour démontrer que les critères d'homogénéité peuvent être satisfaits dans le cas d'un caractère examiné sur la base d'un échantillon global. Dans ce document, nous examinons les solutions possibles pour évaluer l'homogénéité dans le cas d'un caractère examiné sur la base d'un échantillon global avec un seul échantillon par parcelle. Dans le cas où il y aurait plusieurs échantillons par parcelle, voir : TGP 8 (Protocole d'essai) et TGP/10 (critères d'homogénéité).

2. Il existe différentes approches pour vérifier l'homogénéité qui ne sont pas examinées dans les documents TGP actuels. Afin de déterminer quelles sont les approches les plus pertinentes pour l'UPOV, celles-ci sont énumérées ci-après. Les discussions au sein de l'UPOV visent deux objectifs : le premier est de dresser une liste exhaustive des approches possibles et le second de s'assurer de la pertinence de chacune de ces approches. En outre, les approches jugées pertinentes devront par la suite être étoffées.

3. Les approches possibles sont énumérées ci-après :

- a) Contrôle du caractère avant qu'il soit accepté dans les principes directeurs d'examen correspondants.

Avant d'accepter un nouveau caractère en tant que caractère examiné sur la base d'un échantillon global dans des principes directeurs d'examen de l'UPOV, il faut en vérifier l'homogénéité sur un nombre important de variétés selon une analyse plante par plante pour le nombre de plantes requis dans les principes directeurs d'examen correspondants. On peut déterminer que le caractère convient en tant que caractère UPOV si l'homogénéité peut être vérifiée.

- b) Vérifier si l'homogénéité doit être évaluée selon le type de caractère et le type de plante.

Le choix de procéder ou non à une évaluation de l'homogénéité dépend dans une large mesure du type de caractère et du type de plante. Dans le cas d'une variété multipliée par voie végétative, on peut s'appuyer sur d'autres caractères pour l'examen de l'homogénéité sur la base de l'homogénéité génétique de la variété compte tenu du type de reproduction ou de multiplication. S'il existe un ou plusieurs caractères présentant un lien avec le caractère examiné sur la base d'un échantillon global, on peut s'appuyer sur l'homogénéité de ces autres caractères. Dans le cas du haricot, il existe 11 caractères relatifs au grain. Pour le haricot, le poids pour 1000 grains est un caractère examiné sur la base d'un échantillon global. Il existe 10 autres caractères relatifs au grain dont on vérifie l'homogénéité.

- c) Vérification aléatoire.

Vérification aléatoire d'un caractère utilisé en tant que caractère examiné sur la base d'un échantillon global. Dans le cas de la chicorée industrielle, la teneur en sucre est un caractère examiné sur la base d'un échantillon global, pour des questions de coût. On peut examiner des variétés de façon aléatoire, plante par plante, pour établir l'homogénéité.

- d) Sous-parcelles.

Utilisation de sous-parcelles pour obtenir une indication de l'homogénéité du caractère. Une seule observation par parcelle, mais l'essai compte un plus grand nombre de sous-parcelles. On peut citer l'exemple de la teneur en matière sèche pour l'oignon. On compte trois sous-échantillons dans l'essai. On peut travailler avec trois sous-échantillons et obtenir une indication de l'homogénéité (voir : TGP/8.6).

- e) Autre façon de vérifier l'homogénéité : l'analyse d'images.

Utilisation de l'analyse d'images. Poids de 1000 grains dans le cas du haricot. On peut utiliser l'analyse d'images pour vérifier l'homogénéité de ce caractère. Dans une image, on peut observer ou calculer le nombre de grains avec un certain degré d'incertitude. Le même caractère peut ainsi être observé d'une autre façon.

L'analyse d'images peut également être utilisée pour vérifier l'homogénéité en général pour la variété dans son ensemble. La conclusion tirée de l'analyse d'images remplace alors la vérification de l'homogénéité pour d'autres caractères.

- f) Seuls les caractères importants doivent faire l'objet d'une vérification de l'homogénéité.

Liste succincte des caractères d'une plante devant faire l'objet d'un examen de l'homogénéité. Il faut déterminer quels sont les caractères importants de la plante et en sélectionner plusieurs aux fins de l'examen de l'homogénéité au sein du groupe de travail technique correspondant de l'UPOV.

- g) Analyse de l'ADN.

Utilisation de l'analyse de l'ADN. Au lieu de vérifier l'homogénéité du caractère examiné sur la base d'un échantillon global, on peut procéder à un essai supplémentaire pour établir l'homogénéité générale sur la base d'un ensemble de marqueurs d'ADN. Il s'agit là d'une source d'informations qui offre un essai supplémentaire pour établir l'homogénéité. Dans certains cas, cette solution sera meilleur marché qu'une mesure plante par plante du caractère concerné.

Comme pour l'analyse d'images, l'ensemble de la vérification de l'homogénéité de la variété peut être remplacée par un test d'ADN.

- h) Culture.

Choisir une autre façon de cultiver la variété pour vérifier l'homogénéité. Si, dans le déroulement habituel de l'essai, les plantes sont disposées en ligne, on peut envisager une autre disposition pour vérifier, plante par plante, l'homogénéité de la variété dans son ensemble.

- i) Nombre de plantes.

Utilisation d'un nombre de plantes différent de celui indiqué dans les principes directeurs d'examen pour le caractère devant être examiné, mais adapté à la nature du caractère. Par exemple, dans certains principes directeurs d'examen, il est indiqué que 60 plantes doivent être examinées en vue d'établir l'homogénéité. Si le nombre ne convient pas pour ce type de caractère, on peut proposer un nombre inférieur de plantes, par exemple cinq plantes.

[L'annexe II suit]

ANNEXE II

EXEMPLE DE CARACTÈRE EXAMINÉ SUR LA BASE D'UN ÉCHANTILLON GLOBAL AUX PAYS-BAS :
TENEUR EN GLUCORAPHANINE

- 1) Examen de la question de savoir si le caractère est approprié pour l'examen DHS
- 2) Description du caractère
- 3) Méthode de détection

- 1) Examen de la question de savoir si le caractère est approprié pour l'examen DHS

Des informations sur le choix des caractères figurent dans les conseils techniques de l'UPOV (page 9 du document TG/1/3).

Nous allons examiner si le caractère Teneur en glucoraphanine dans le brocoli remplit les conditions d'un caractère selon l'UPOV.

4.2 Sélection des caractères

4.2.1 *Pour qu'un caractère puisse être utilisé aux fins de l'examen DHS ou de l'établissement d'une description variétale, il est essentiel que son expression :*

a) *résulte d'un certain génotype ou d'une certaine combinaison de génotypes; (cette condition est énoncée à l'article 1.vi) de l'Acte de 1991 de la Convention UPOV, mais est fondamentale en toute hypothèse);*

La teneur en glucoraphanine est stable au sein d'une variété sur plusieurs années mais varie entre les variétés.

b) *soit suffisamment claire et reproductible dans un milieu donné;*

La teneur en glucoraphanine est stable au sein d'une variété sur trois années considérées. Les résultats relatifs à la teneur figurant dans le questionnaire technique sont conformes aux données enregistrées dans le cadre de l'essai effectué à Naktuinbouw.

c) *témoigne d'une variabilité suffisante entre les variétés pour permettre d'établir la distinction;*

Très nette.

d) *puisse être décrite et reconnue avec précision; (cette condition est énoncée à l'article 6 des actes de 1961/1972 et de 1978 de la Convention UPOV mais reste une condition fondamentale en toute hypothèse);*

Oui, voir la méthode.

e) *permette de vérifier le critère d'homogénéité;*

À l'heure actuelle, nous n'avons aucune raison de mettre en doute l'homogénéité de ce caractère. Comme indiqué plus haut, les résultats par variété sont stables sur plusieurs années avec seulement trois plantes par variété. Cela indique que le caractère est homogène entre les plantes de la variété. En raison du coût, nous n'avons pas encore effectué d'essai sur l'homogénéité de 20 plantes appartenant à plusieurs variétés. Toutefois, cet essai est techniquement réalisable.

f) *permette de vérifier le critère de stabilité, c'est-à-dire produise des résultats cohérents et reproductibles à la suite de reproductions ou multiplications successives ou, le cas échéant, à la fin de chaque cycle de reproduction ou de multiplication.*

Oui. La teneur en glucoraphanine est vérifiée sur plusieurs années.

Conclusion :

En principe, toutes les conditions définies par l'UPOV sont remplies. Le respect du critère d'homogénéité n'est pas totalement avéré.

2) Description du caractère

Type de caractère

Caractère quantitatif

Caractère :

Teneur en glucoraphanine

1. Faible
2. Moyenne
3. Élevée

Stade de croissance

Maturité de récolte

Type d'observation du caractère

MG – Mensuration unique d'un ensemble de plantes
(précisions sur le protocole, voir la méthode)

Niveaux d'expression ($\mu\text{mol/g DW}$)

1. 0-15
2. 16-35
3. > 35

Observations

Bien que la génétique joue un rôle très important dans les niveaux de glucoraphanine, les valeurs peuvent varier en fonction des conditions de culture et des lieux géographiques, de sorte que les résultats des mesures devraient concerner des variétés indiquées à titre d'exemple. Les valeurs indiquées dans cet exemple sont issues des essais répétés effectués à Naktuinbouw (Pays-Bas).

Variétés indiquées à titre d'exemple

Faible : Ironman

Moyenne : Steel

Élevée : BRM533934

3) Méthode de détection (en anglais seulement)

INB Sample Collection Protocol

Composite samples will be collected for glucosinolate analysis of INB varieties as outlined below.

- Randomly select three market-mature heads from the test plot. Harvested samples must be 5-7 inches in diameter. Trim the sample using the 'square cut' method, such that the height to width ratio of the trimmed head is 1:1. For example a crown that 5 inches in diameter should have the stem trimmed so that the total height is also 5 inches.
- Harvest crowns from the middle of the plot area if possible.
- Harvest should occur early in the morning or late in the afternoon in order to avoid potentially harmful effect of elevated temperatures on plant sample quality.
- Place the three trimmed heads into a plastic bag, accompanied by a single barcode to identify the sample. Label the bags on the outside to include variety name.
- Repeat the selection, harvest, trimming, labeling, and barcode identification process for each plot in the trial.
- All samples should be placed into a cooler with wet or blue ice (no dry ice) to keep them cool until shipped. Samples should be packed in blue ice for overnight shipment.

If possible, all samples should be collected on the same day. Since varieties mature at different rates, it is acceptable to harvest samples that would represent 1st, 2nd or 3rd cuts on the same day and ship as single shipment; as long as all harvested samples represent mature samples that would be commercially acceptable.

Note: In previous years, 3 composite samples (each comprised of 3 heads) were collected and shipped for analysis. Data collect over the previous years on INB varieties have demonstrate that there is little within-plot variation ($\pm 12\%$). Since samples within plots provide very consistent values for glucosinolates, we will collect a single composite sample for each plot going forward. These three head composite samples will generate a single data point.

[Fin de l'annexe II et du document]