



TG/81/7(proj.5)

ORIGINAL : Anglais

DATE : 2022-10-10

UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES

Genève

PROJET

TOURNESOL*

Code(s) UPOV : HLNTS_ANN

Helianthus annuus L.

PRINCIPES DIRECTEURS

POUR LA CONDUITE DE L'EXAMEN

DE LA DISTINCTION, DE L'HOMOGENÉITÉ ET DE LA STABILITÉ

*établis par un expert de la Hongrie**pour examen par le**Comité technique à sa cinquante-huitième session
se tiendra à Genève les 24 et 25 octobre 2022**Avertissement : le présent document ne représente pas les principes ou les orientations de l'UPOV*

Autres noms communs :*

Nom botanique	anglais	français	allemand	espagnol
<i>Helianthus annuus</i> L.	Common Sunflower	Soleil, Tournesol	Sonnenblume	Girasol

Ces principes directeurs ("principes directeurs d'examen") visent à approfondir les principes énoncés dans l'introduction générale (document TG/1/3) et dans les documents TGP qui s'y rapportent afin de donner des indications concrètes détaillées pour l'harmonisation de l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité (DHS) et, en particulier, à identifier des caractères convenant à l'examen DHS et à la production de descriptions variétales harmonisées.

DOCUMENTS CONNEXES

Ces principes directeurs d'examen doivent être interprétés en relation avec l'introduction générale et les documents TGP qui s'y rapportent.

* Ces noms, corrects à la date d'adoption des présents principes directeurs d'examen, peuvent avoir été révisés ou actualisés. [Il est conseillé au lecteur de se reporter au code taxonomique de l'UPOV, sur le site Web de l'UPOV (www.upov.int), pour l'information la plus récente].

<u>SOMMAIRE</u>	<u>PAGE</u>
1. OBJET DE CES PRINCIPES DIRECTEURS D'EXAMEN.....	3
2. MATERIEL REQUIS.....	3
3. METHODE D'EXAMEN.....	3
3.1 Nombre de cycles de végétation.....	3
3.2 Lieu des essais.....	3
3.3 Conditions relatives à la conduite de l'examen.....	3
3.4 Protocole d'essai.....	4
3.5 Essais supplémentaires.....	4
4. EXAMEN DE LA DISTINCTION, DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE.....	4
4.1 Distinction.....	4
4.2 Homogénéité.....	5
4.3 Stabilité.....	6
5. GROUPEMENT DES VARIETES ET ORGANISATION DES ESSAIS EN CULTURE.....	6
6. INTRODUCTION DU TABLEAU DES CARACTERES.....	7
6.1 Catégories de caractères.....	7
6.2 Niveaux d'expression et notes correspondantes.....	7
6.3 Types d'expression.....	7
6.4 Variétés indiquées à titre d'exemples.....	7
6.5 Légende.....	8
7. TABLE OF CHARACTERISTICS/TABLEAU DES CARACTÈRES/MERKMALSTABELLE/TABLA DE CARACTERES.....	9
8. EXPLICATIONS DU TABLEAU DES CARACTERES.....	20
8.1 Explications portant sur plusieurs caractères.....	20
8.2 Explications portant sur certains caractères.....	20
8.3 Stades de croissance de <i>Helianthus annuus</i> L. adoptés selon l'échelle BBCH (Meier U., 1997) applicable aux plantes individuelles	26
9. BIBLIOGRAPHIE.....	27
10. QUESTIONNAIRE TECHNIQUE.....	28
 ANNEXE Explications additionnelles utiles	

1. Objet de ces principes directeurs d'examen

Ces principes directeurs d'examen s'appliquent à toutes les variétés de *Helianthus annuus* L. (à l'exclusion des variétés ornementales).

2. Matériel requis

2.1 Les autorités compétentes décident de la quantité de matériel végétal nécessaire pour l'examen de la variété, de sa qualité ainsi que des dates et lieux d'envoi. Il appartient au demandeur qui soumet du matériel provenant d'un pays autre que celui où l'examen doit avoir lieu de s'assurer que toutes les formalités douanières ont été accomplies et que toutes les conditions phytosanitaires sont respectées.

2.2 Le matériel doit être fourni sous forme de semences.

2.3 La quantité minimale de matériel végétal à fournir par le demandeur est de :

5000 semences pour les lignées endogames, et
1 kg pour les variétés hybrides ou à fécondation libre.

Pour les variétés hybrides, le demandeur doit fournir 5000 semences supplémentaires pour chaque composant (p. ex. : pour un hybride simple, les lignées femelles (la lignée mâle stérile et la lignée mainteneur) et la lignée mâle). Pour les lignées mâles stériles, le demandeur doit fournir 5000 semences supplémentaires du mainteneur.

Les semences doivent satisfaire aux conditions minimales exigées pour la faculté germinative, la pureté spécifique, l'état sanitaire et la teneur en eau, indiquées par l'autorité compétente. Dans le cas où les semences doivent être maintenues en collection, la faculté germinative doit être aussi élevée que possible et indiquée par le demandeur.

2.4 Le matériel végétal doit être manifestement sain, vigoureux et indemne de tout parasite ou toute maladie importants.

2.5 Le matériel végétal ne doit pas avoir subi de traitement susceptible d'influer sur l'expression des caractères de la variété, sauf autorisation ou demande expresse des autorités compétentes. S'il a été traité, le traitement appliqué doit être indiqué en détail.

3. Méthode d'examen

3.1 *Nombre de cycles de végétation*

3.1.1 En règle générale, la durée minimale des essais doit être de deux cycles de végétation indépendants.

3.1.2 Les deux cycles de végétation indépendants doivent être sous la forme de deux plantations distinctes.

3.1.3 L'examen d'une variété peut être achevé quand le service compétent peut déterminer avec certitude le résultat de l'examen.

3.2 *Lieu des essais*

En règle générale, les essais doivent être conduits en un seul lieu. Pour les essais conduits dans plusieurs lieux, des indications figurent dans le document TGP/9, intitulé "Examen de la distinction".

3.3 *Conditions relatives à la conduite de l'examen*

3.3.1 Les essais doivent être conduits dans des conditions assurant une croissance satisfaisante pour l'expression des caractères pertinents de la variété et pour la conduite de l'examen.

3.3.2 Le stade optimal de développement pour l'observation de chaque caractère est indiqué par une référence dans le tableau des caractères. Les stades de développement correspondant à chaque référence sont décrits au chapitre 8.3.

3.4 *Protocole d'essai*

- 3.4.1 Chaque essai doit être conçu de manière à porter au total sur 40 plantes au moins, qui doivent être réparties en 2 répétitions au moins.
- 3.4.2 Les essais doivent être conçus de telle sorte que l'on puisse prélever des plantes ou parties de plantes pour effectuer des mesures ou des dénombrements sans nuire aux observations ultérieures qui doivent se poursuivre jusqu'à la fin de la période de végétation.

3.5 *Essais supplémentaires*

Des essais supplémentaires peuvent être établis pour l'observation de caractères pertinents.

4. Examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité

4.1 *Distinction*

4.1.1 Recommandations générales

Il est particulièrement important pour les utilisateurs de ces principes directeurs d'examen de consulter l'introduction générale avant toute décision quant à la distinction. Cependant, il conviendra de prêter une attention particulière aux points ci-après.

Pour établir la distinction des hybrides, il est possible d'utiliser les lignées parentales et la formule, en observant les recommandations suivantes :

- i) description des lignées parentales conformément aux principes directeurs d'examen;
- ii) vérification de l'originalité de ces lignées parentales par rapport à la collection de référence, sur la base des caractères décrits dans la section 7 afin de réaliser un criblage des lignées endogames les plus proches;
- iii) vérification de l'originalité de la formule des hybrides par rapport à celle des hybrides notoirement connus, compte tenu des lignées endogames les plus proches;
- iv) établissement de la distinction au niveau des hybrides pour les variétés à formule semblable.

Des indications supplémentaires figurent dans les documents TGP/9 "Examen de la distinction" et TGP/8 "Protocole d'essai et techniques utilisés dans l'examen de la Distinction, de l'Homogénéité et de la Stabilité".

4.1.2 Différences reproductibles

Les différences observées entre les variétés peuvent être suffisamment nettes pour qu'un deuxième cycle de végétation ne soit pas nécessaire. En outre, dans certains cas, l'influence du milieu n'appelle pas plus d'un cycle de végétation pour s'assurer que les différences observées entre les variétés sont suffisamment reproductibles. L'un des moyens de s'assurer qu'une différence observée dans un caractère lors d'un essai en culture est suffisamment reproductible consiste à examiner le caractère au moyen de deux observations indépendantes au moins.

4.1.3 Différences nettes

La netteté de la différence entre deux variétés dépend de nombreux facteurs, et notamment du type d'expression du caractère examiné, selon qu'il s'agit d'un caractère qualitatif, un caractère quantitatif ou encore pseudo-qualitatif. Il est donc important que les utilisateurs de ces principes directeurs d'examen soient familiarisés avec les recommandations contenues dans l'introduction générale avant toute décision quant à la distinction.

4.1.4 Nombre de plantes ou parties de plantes à examiner

Sauf indication contraire, aux fins de la distinction, toutes les observations portant sur des plantes isolées doivent être effectuées sur 36 plantes ou des parties prélevées sur chacune de ces 36 plantes et toutes les autres observations doivent être effectuées sur la totalité des plantes de l'essai, sans tenir compte d'éventuelles plantes hors type.

4.1.5 Méthode d'observation

La méthode recommandée pour l'observation du caractère aux fins de la distinction est indiquée par le code suivant dans le tableau des caractères (voir le document TGP/9 'Examen de la distinction', section 4 'Observation des caractères') :

MG: mensuration unique d'un ensemble de plantes ou de parties de plantes

MS: mensuration d'un certain nombre de plantes isolées ou de parties de plantes

VG: évaluation visuelle fondée sur une seule observation faite sur un ensemble de plantes ou de parties de plantes

VS: évaluation visuelle fondée sur l'observation d'un certain nombre de plantes isolées ou de parties de plantes

Type d'observation: visuelle (V) ou mesure (M)

L'observation "visuelle" (V) est une observation fondée sur le jugement de l'expert. Aux fins du présent document, on entend par observation "visuelle" les observations sensorielles des experts et cela inclut donc aussi l'odorat, le goût et le toucher. Entrent également dans cette catégorie les observations pour lesquelles l'expert utilise des références (diagrammes, variétés indiquées à titre d'exemples, comparaison deux à deux) ou des chartes (chartes de couleur). La mesure (M) est une observation objective en fonction d'une échelle graphique linéaire, effectuée à l'aide d'une règle, d'une balance, d'un colorimètre, de dates, d'un dénombrement, etc.

Type de notation: pour un ensemble de plantes (G) ou des plantes isolées (S)

Aux fins de l'examen de la distinction, les observations peuvent donner lieu à une notation globale pour un ensemble de plantes ou parties de plantes (G), ou à des notations pour un certain nombre de plantes ou parties de plantes isolées (S). Dans la plupart des cas, la lettre "G" correspond à une notation globale par variété et il n'est pas possible, ni nécessaire, de recourir à des méthodes statistiques pour évaluer la distinction.

Lorsque plusieurs méthodes d'observation du caractère sont indiquées dans le tableau des caractères (p.ex. VG/MG), des indications sur le choix d'une méthode adaptée figurent à la section 4.2 du document TGP/9.

4.2 Homogénéité

4.2.1 Il est particulièrement important pour les utilisateurs de ces principes directeurs d'examen de consulter l'introduction générale avant toute décision quant à l'homogénéité. Cependant, il conviendra de prêter une attention particulière aux points ci-après :

4.2.2 Ces principes directeurs d'examen ont été établis pour l'examen des variétés reproduites par voie sexuée. En ce qui concerne les variétés ayant d'autres types de reproduction ou de multiplication, il convient de suivre les recommandations qui figurent dans l'introduction générale et le document TGP/13 intitulé "Conseils pour les nouveaux types et espèces", à la section 4.5 "Examen de l'homogénéité".

4.2.3 L'homogénéité des variétés à fécondation libre doit être déterminée conformément aux recommandations relatives aux variétés allogames qui figurent dans l'introduction générale.

4.2.4 L'homogénéité des variétés hybrides doit être déterminée en fonction de la catégorie d'hybride et conformément aux recommandations sur les variétés hybrides figurant dans l'introduction générale.

4.2.5 Lorsque l'évaluation d'une variété hybride fait appel aux lignées parentales, l'homogénéité de la variété hybride devra, outre l'examen de la variété hybride elle-même, être également évaluée au moyen d'un examen de l'homogénéité de ses lignées parentales.

4.2.6 Pour l'évaluation de l'homogénéité des lignées endogames, il faut appliquer une norme de population de 2 % avec une probabilité d'acceptation d'au moins 95 %. Dans le cas d'un échantillon de 36 plantes, 2 plantes hors type sont tolérées. En outre, les mêmes normes de population et de probabilité d'acceptation doivent être appliquées pour évaluer l'homogénéité dans l'ensemble d'une ligne mâle stérile vis-à-vis des hybrides naturels et de plantes isogéniques mâles fertiles. Pour l'évaluation de l'homogénéité des hybrides simples, il faut appliquer une norme de population de 5 % avec une probabilité d'acceptation d'au moins 95 %. Dans le cas d'un échantillon de 36 plantes, 4 plantes hors type sont tolérées. Pour les hybrides trois voies et les variétés à fécondation libre, la variabilité au sein de la variété ne doit pas être supérieure à la variabilité des variétés comparables déjà connues.

4.3 *Stabilité*

4.3.1 Dans la pratique, il n'est pas d'usage d'effectuer des essais de stabilité dont les résultats apportent la même certitude que l'examen de la distinction ou de l'homogénéité. L'expérience montre cependant que, dans le cas de nombreux types de variétés, lorsqu'une variété s'est révélée homogène, elle peut aussi être considérée comme stable.

4.3.2 Lorsqu'il y a lieu, ou en cas de doute, la stabilité peut être évaluée plus précisément en examinant un nouveau lot de semences, afin de vérifier qu'il présente les mêmes caractères que le matériel fourni initialement.

4.3.3 Lorsqu'il y a lieu, ou en cas de doute, la stabilité d'une variété hybride peut, outre l'examen de la variété hybride elle-même, être déterminée également par examen de l'homogénéité et de la stabilité de ses lignées parentales.

5. Groupement des variétés et organisation des essais en culture

5.1 Pour sélectionner les variétés notoirement connues à cultiver lors des essais avec la variété candidate et déterminer comment diviser en groupes ces variétés pour faciliter la détermination de la distinction, il est utile d'utiliser des caractères de groupement.

5.2 Les caractères de groupement sont ceux dont les niveaux d'expression observés, même dans différents sites, peuvent être utilisés, soit individuellement soit avec d'autres caractères de même nature, a) pour sélectionner des variétés notoirement connues susceptibles d'être exclues de l'essai en culture pratiqué pour l'examen de la distinction et b) pour organiser l'essai en culture de telle sorte que les variétés voisines soient regroupées.

5.3 Il a été convenu de l'utilité des caractères ci-après pour le groupement des variétés :

- a) Feuille : intensité de la couleur verte (caractère 2)
- b) Feuille : cloûre (caractère 3)
- c) Époque du début de la floraison (caractère 11)
- d) Fleur ligulée : couleur (caractère 17)
- e) Fleuron: production de pollen (caractère 22)
- f) Seulement pour les lignées endogames : Plante : hauteur naturelle (caractère 27)
- g) Seulement pour les hybrides et les variétés à fécondation libre : Plante : hauteur naturelle (caractère 28)
- h) Plante : ramification (caractère 29)
- i) Grain : couleur (caractère 39)
- j) Grain : raies sur le bord (caractère 40)
- k) Grain : raies entre les bords (caractère 41)

5.4 Des conseils relatifs à l'utilisation des caractères de groupement dans la procédure d'examen de la distinction figurent dans l'introduction générale et le document TGP/9 "Examen de la distinction".

6. Introduction du tableau des caractères

6.1 *Catégories de caractères*

6.1.1 Caractères standard figurant dans les principes directeurs d'examen

Les caractères standard figurant dans les principes directeurs d'examen sont ceux qui sont admis par l'UPOV en vue de l'examen DHS et parmi lesquels les membres de l'Union peuvent choisir ceux qui sont adaptés à leurs besoins particuliers.

6.1.2 Caractères avec astérisque

Les caractères avec astérisque (signalés par un *) sont des caractères figurant dans les principes directeurs d'examen qui sont importants pour l'harmonisation internationale des descriptions variétales : ils doivent toujours être pris en considération dans l'examen DHS et être inclus dans la description variétale par tous les membres de l'Union, sauf lorsque cela est impossible compte tenu du niveau d'expression d'un caractère précédent ou des conditions de milieu régionales.

6.2 *Niveaux d'expression et notes correspondantes*

6.2.1 Des niveaux d'expression sont indiqués pour chaque caractère afin de définir le caractère et d'harmoniser les descriptions. Pour faciliter la consignation des données ainsi que l'établissement et l'échange des descriptions, à chaque niveau d'expression est attribuée une note exprimée par un chiffre.

6.2.2 Tous les niveaux d'expression pertinents sont présentés dans le caractère.

6.2.3 Des précisions concernant la présentation des niveaux d'expression et des notes figurent dans le document TGP/7 "Élaboration des principes directeurs d'examen".

6.3 *Types d'expression*

Une explication des types d'expression des caractères (caractères qualitatifs, quantitatifs et pseudo qualitatifs) est donnée dans l'introduction générale.

6.4 *Variétés indiquées à titre d'exemples*

Au besoin, des variétés sont indiquées à titre d'exemples afin de mieux définir les niveaux d'expression d'un caractère.

6.5 *Légende*

		English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1	2	3	4	5	6	7	
		Name of characteristics in English	Nom du caractère en français	Name des Merkmals auf Deutsch	Nombre del carácter en español		
		states of expression	types d'expression	Ausprägungsstufen	tipos de expresión		

- 1 Numéro de caractère
- 2 (*) Caractère avec astérisque – voir le chapitre 6.1.2
- 3 Type d'expression
 QL Caractère qualitatif – voir le chapitre 6.3
 QN Caractère quantitatif – voir le chapitre 6.3
 PQ Caractère pseudo qualitatif – voir le chapitre 6.3
- 4 Méthode d'observation (et type de parcelle, si applicable)
 MG, MS, VG, VS – voir le chapitre 4.1.5
- 5 (+) Voir les explications du tableau des caractères au chapitre 8.2
- 6 (a) Voir les explications du tableau des caractères au chapitre 8.1
- 7 Échelle des stades de croissance Voir l'explication du tableau des caractères au chapitre 8.3

7. Table of Characteristics/Tableau des caractères/Merkmalstabelle/Tabla de caracteres

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1.	QN	VG		10			
	Seedling: anthocyanin coloration of hypocotyl	Plantule : pigmentation anthocyanique de l'hypocotyle	Keimpflanze: Anthocyanfärbung des Hypokotyls	Plántula: pigmentación antocianica del hipocótilo			
	absent or very weak	absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	T0954LM	1	
	weak	faible	gering	débil	OB724	2	
	medium	moyenne	mittel	media	TRC3285	3	
	strong	forte	stark	fuerte	F7AW1MOA	4	
	very strong	forte à très forte	sehr stark	muy fuerte	Kisvárdai	5	
2. (*)	QN	VG	(a)	51-55			
	Leaf: intensity of green color	Feuille : intensité de la couleur verte	Blatt: Intensität der Grünfärbung	Hoja: intensidad del color verde			
	very light	très claire	sehr hell	muy clara	F5DN3MA, T0243HG	1	
	light	claire	hell	clara		2	
	medium	moyenne	mittel	media	H11050R	3	
	dark	foncée	dunkel	oscura		4	
	very dark	très foncée	sehr dunkel	muy oscura	13013	5	
3. (*)	QN	VG	(a)	51-55			
	Leaf: blistering	Feuille : cloûre	Blatt: Blasigkeit	Hoja: abullonado			
	absent or very weak	absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	F5DN3MA	1	
	very weak to weak	très faible à faible	sehr gering bis gering	muy débil a débil		2	
	weak	faible	gering	débil	F7AX2JA, IR79DMR	3	
	weak to medium	faible à moyenne	gering bis mittel	débil a medio		4	
	medium	moyenne	mittel	medio	HA89, IB1088DMR	5	
	medium to strong	moyenne à forte	mittel bis stark	medio a fuerte		6	
	strong	forte	stark	fuerte	TRC2342	7	
	strong to very strong	forte à très forte	stark bis sehr stark	fuerte a muy fuerte		8	
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte		9	

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
4. (*)	QN	VG	(+)	(a)	51-55			
	Leaf: serration	Feuille : dentelure	Blatt: Randeinschnitte	Hoja: serrado				
	isolated or very fine	isolée ou très fine	vereinzelt oder sehr fein	aislado o muy fino	99D40R			1
	very fine to fine	très fine à fine	sehr fein bis fein	muy fino a fino				2
	fine	fine	fein	fino	IR79DMR			3
	fine to medium	fine à moyenne	fein bis mittel	fino a medio				4
	medium	moyenne	mittel	medio	HA89, TRC2342			5
	medium to coarse	moyenne à grossière	mittel bis grob	medio a grosero				6
	coarse	grossière	grob	grosero	PB1458DMR			7
	coarse to very coarse	grossière à très grossière	grob bis sehr grob	grosero a muy grosero				8
	very coarse	très grossière	sehr grob	muy grosero				9
5.	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: shape in cross section	Feuille : forme en section transversale	Blatt: Form im Querschnitt	Hoja: forma en sección transversal				
	strongly concave	fortement concave	stark konkav	fuertemente cóncava	RT9513			1
	weakly concave	faiblement concave	schwach konkav	débilmente cóncava				2
	flat	plate	gerade	plana	PH5002R			3
	weakly convex	faiblement convexe	schwach konvex	débilmente convexa				4
	strongly convex	fortement convexe	stark konvex	fuertemente convexa				5
6.	PQ	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: shape of distal part	Feuille : forme de la partie distale	Blatt: Form des distalen Teils	Hoja: forma de la parte distal				
	lanceolate	lancéolée	lanzettlich	lanceolada	FR810RM1			1
	lanceolate to narrow triangular	lancéolée à triangulaire étroite	lanzettlich bis schmal dreieckig	lanceolado a triangular estrecha	FR81013			2
	narrow triangular	triangulaire étroite	schmal dreieckig	triangular estrecha	RT0976			3
	medium triangular	triangulaire moyenne	mittel dreieckig	triangular media	RT9513			4
	broad triangular	triangulaire large	breit dreieckig	triangular ancha	BT0835			5
	broad triangular to rounded	triangulaire large à arrondie	breit dreieckig bis abgerundet	triangular ancha a redondeada				6
	rounded	arrondie	abgerundet	redondeada				7

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
7. (*)	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: auricles	Feuille : oreillettes	Blatt: Blattöhrchen	Hoja: aurículas				
	absent or very small	absentes ou très petites	fehlend oder sehr klein	ausentes o muy pequeñas	37025			1
	very small to small	très petites à petites	sehr klein bis klein	muy pequeñas a pequeñas				2
	small	petites	klein	pequeñas	T0954LM			3
	small to medium	petites à moyennes	klein bis mittel	pequeñas a medias				4
	medium	moyennes	mittel	medias				5
	medium to large	moyennes à grandes	mittel bis groß	medias a grande				6
	large	grandes	groß	grande	F6AH6MO, HA89			7
	large to very large	grandes à très grandes	groß bis sehr groß	grande a muy grande				8
	very large	très grandes	sehr groß	muy grande	RHA299			9
8.	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: wings	Feuille : ailes	Blatt: Flügel	Hoja: alas				
	none or very weakly expressed	absentes ou très faiblement marquées	nicht oder sehr schwach ausgeprägt	ausentes o muy débilmente definidas	T0954LM			1
	weakly expressed	faiblement marquées	schwach ausgeprägt	débilmente definidas	F7AW1MOA			2
	strongly expressed	fortement marquées	stark ausgeprägt	fuertemente definidas	13013			3
9. (*)	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: angle of lowest lateral veins	Feuille : angle des nervures latérales les plus basses	Blatt: Winkel der untersten Seitenadern	Hoja: ángulo de los nervios laterales inferiores				
	acute	aigu	spitz	agudo	T0860LM			1
	right angle or nearly right angle	droit ou presque droit	rechtwinklig oder fast rechtwinklig	ángulo recto o casi ángulo recto	F7AW1MOA			2
	obtuse	obtus	stumpf	obtuso	TFC3767B			3
10. (*)	QN	MS/VG		(a)	55-57			
	Leaf: size	Feuille : taille	Blatt: Größe	Hoja: tamaño				
	very small	très petite	sehr klein	muy pequeño				1
	very small to small	très petite à petite	sehr klein bis klein	muy pequeño a pequeño				2
	small	petite	klein	pequeño	PH5002R			3
	small to medium	petite à moyenne	klein bis mittel	pequeño a medio				4
	medium	moyenne	mittel	medio	LC1093, OB724			5
	medium to large	moyenne à grande	mittel bis groß	medio a grande				6
	large	grande	groß	grande	IA1169DMR			7
	large to very large	grande à très grande	groß bis sehr groß	grande a muy grande				8
	very large	très grande	sehr groß	muy grande				9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
11. (*)	QN	MG/MS	(+)	61		
	Time of beginning of flowering	Époque du début de la floraison	Zeitpunkt des Blühbeginns	Época de inicio de la floración		
	very early	très précoce	sehr früh	muy temprana	PHA283	1
	very early to early	très précoce à précoce	sehr früh bis früh	muy temprana a temprana		2
	early	précoce	früh	temprana	T0860LM	3
	early to medium	précoce à moyenne	früh bis mittel	temprana a media		4
	medium	moyenne	mittel	media	H11050R, RHA274	5
	medium to late	moyenne à tardive	mittel bis spät	media a tardía		6
	late	tardive	spät	tardía	RT7710	7
	late to very late	tardive à très tardive	spät bis sehr spät	tardía a muy tardía		8
	very late	très tardive	sehr spät	muy tardía	Kisvárdai, LGR27	9
12.	QN	VG	(+)	63-65		
	Ray floret: attitude of base in relation to head	Fleur ligulée: port de la base par rapport au capitule	Zungenblüte: Haltung der Basis im Verhältnis zum Kopf	Flor ligulada: porte de la base en relación con el capítulo		
	right angle	angle droit	rechter Winkel	ángulo recto	T0833HG	1
	right angle to horizontal	angle droit par à l'horizontal	rechtwinklig zur Waagerechten	ángulo recto a horizontal		2
	horizontal	horizontal	waagrecht	horizontal	T0954LM	3
13.	PQ	VG	(+)	63-65		
	Ray floret: type	Fleur ligulée : type	Zungenblüte: Typ	Flor ligulada: tipo		
	flat	plat	eben	plano	HA89, IR79DMR	1
	longitudinal recurved	recourbé longitudinalement	longitudinal gebogen	recurvado longitudinalmente	PH5002R	2
	undulated	ondulé	gewellt	ondulado	F5DN3MA	3
	strongly recurved to back of head	fortement recourbé vers le dos du capitule	stark gebogen zur Korbrückseite	fuertemente recurvado hacia la parte posterior del capítulo		4
14.	QN	VG		63-65		
	Flower: density of ray florets	Fleur : densité des fleurs ligulées	Blüte: Dichte der Zungenblüten	Flor: densidad de las flores liguladas		
	very sparse	très lâche	sehr locker	muy laxa	T0954LM	1
	sparse	lâche	locker	laxa		2
	medium	moyenne	mittel	media	99D40R, HA89	3
	dense	dense	dicht	densa		4
	very dense	très dense	sehr dicht	muy densa	OB724	5

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
15.	QN	MS/VG		63-65		
	Ray floret: length	Fleur ligulée : longueur	Zungenblüte: Länge	Flor ligulada: longitud		
	very short	très courte	sehr kurz bis kurz	muy corta	BT0835	1
	short	courte	kurz	corta		2
	medium	moyenne	mittel	media	SF9074MA	3
	long	longue	lang	larga		4
	very long	très longue	sehr lang bis sehr lang	muy larga	T0954LM	5
16.	QN	MS/VG	(+)	63-65		
	Ray floret: width in relation to length	Fleur ligulée : largeur par rapport à la longueur	Zungenblüte: Breite im Verhältnis zur Länge	Flor ligulada: anchura en relación con la longitud		
	very narrow	très étroite	sehr schmal	muy estrecha	T0954LM	1
	moderately narrow	modérément étroite	mäßig schmal	moderadamente estrecha	HA850, OB724	2
	moderately broad	modérément large	mäßig breit	moderadamente ancha		3
	very broad	très large	sehr breit	muy ancha		4
17. (*)	PQ	VG	(+)	63-65		
	Ray floret: color	Fleur ligulée : couleur	Zungenblüte: Farbe	Flor ligulada: color		
	yellowish white	blanc jaunâtre	gelblichweiß	blanco amarillento	RHA381	1
	light yellow	jaune clair	hellgelb	amarillo claro	F7AW1MOA	2
	medium yellow	jaune moyen	mittelgelb	amarillo medio	RT7710	3
	orange yellow	jaune orange	orangegelb	amarillo anaranjado	U0881BG	4
	orange	orange	orange	naranja	OB724, P211R	5
	purple	pourpre	purpur	púrpura		6
	reddish brown	brun rougeâtre	rötlichbraun	marrón rojizo		7
18.	QL	VG	(+)	63-65		
	Disk floret: anthocyanin coloration of pappus	Fleuron : pigmentation anthocyanique du pappus	Röhrenblüte: Anthocyanfärbung des Pappus	Flósculo: pigmentación antociánica del papus		
	absent	absente	fehlend	ausente	F7EW4IMO	1
	present	présente	vorhanden	presente	OKD4447R, TRC2342	9
19.	PQ	VG		63-65		
	Disk floret: color	Fleuron : couleur	Röhrenblüte: Farbe	Flósculo: color		
	yellow	jaune	gelb	amarillo	STR226, TRC2342	1
	orange	orange	orange	naranja	F7AW1MOA, HA89	2
	purple	pourpre	purpur	púrpura		3

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
20.	QL	VG			63-65	
	Disk floret: anthocyanin coloration of anthers	Fleuron : pigmentation anthocyanique des anthères	Röhrenblüte: Anthocyanfärbung der Antheren	Flósculo: pigmentación antociánica de las anteras		
	absent	absente	fehlend	ausente	R4NO4MJ	1
	present	présente	vorhanden	presente	R5XY3MJS	9
21.	QN	VG	(+)		63-65	
	Disk floret: anthocyanin coloration of stigma	Fleuron : pigmentation anthocyanique du stigmate	Röhrenblüte: Anthocyanfärbung der Narbe	Flósculo: pigmentación antociánica del estigma		
	absent or very weak	absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	SF9074MA	1
	weak	faible	gering	débil	RT7710	2
	medium	moyenne	mittel	media	R6ST2MI, TRC2342	3
	strong	forte	stark	fuerte	F7AW1MOA	4
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	Kisvárdai	5
22. (*)	QL	VG			63-65	
	Disk floret: production of pollen	Fleuron: production de pollen	Scheibenblüte: Pollenproduktion	Flósculo: producción de polen		
	absent	absente	fehlend	ausente	F7AW1MOA, HA89	1
	present	présente	vorhanden	presente	IR79DMR, RHA274	9
23.	PQ	VG	(+)		63-65	
	Bract: shape	Bractée : forme	Hüllblatt: Form	Bráctea: forma		
	narrow acute	aiguë étroite	schmal spitz	aguda estrecha	T0954LM	1
	broad acute	aiguë large	breit spitz	aguda ancha	IR79DMR	2
	rounded	arrondie	abgerundet	redondeada	IB1088DMR	3
24.	QN	MS/VG	(+)		63-65	
	Bract: length of tip	Bractée : longueur de l'extrémité	Hüllblatt: Länge der Spitze	Bráctea: longitud de la punta		
	very short	très courte	sehr kurz	muy corta	IB1088DMR	1
	short	courte	kurz	corta		2
	medium	moyenne	mittel	media	HA89, T0954LM	3
	long	longue	lang	larga		4
	very long	très longue	sehr lang	muy larga	U0881BG	5

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
25.	QN	VG	63-65			
	Bract: intensity of green color of outer side	Bractée : intensité de la couleur verte de la face externe	Hüllblatt: Intensität der Grünfärbung der Außenseite	Bráctea: intensidad del color verde de la cara externa		
	light	claire	hell	clara	T0243HG	1
	medium	moyenne	mittel	media	T0954LM	2
	dark	foncée	dunkel	oscura	RT8711	3
26.	QN	VG	69-73			
	Bract: attitude in relation to head	Bractée : port par rapport au capitule	Hüllblatt: Haltung im Verhältnis zum Korb	Bráctea: porte en relación con n el capítulo		
	not embracing or very slightly embracing	non enveloppante ou très faiblement enveloppante	nicht umfassend oder sehr gering umfassend	no envolvente o muy ligeramente envolvente	HA89, RT0976	1
	slightly embracing	légèrement enveloppante	gering umfassend	ligeramente envolvente	F7AW1MOA	2
	strongly embracing	fortement enveloppante	stark umfassend	fuertemente envolvente	RT9513	3
27. (*)	QN	MS	69-73			
	<u>Only inbred lines:</u> Plant: natural height	<u>Seulement pour les lignées endogames :</u> Plante : hauteur naturelle	<u>Nur Inzuchtlinien:</u> Pflanze: natürliche Höhe	<u>Sólo variedades endógamas:</u> Planta: altura natural		
	very short	très basse	sehr niedrig	muy baja	FR810RM1	1
	very short to short	très basse à basse	sehr niedrig bis niedrig	muy baja a baja		2
	short	basse	niedrig	baja	OB724	3
	short to medium	basse à moyenne	niedrig bis mittel	baja a media		4
	medium	moyenne	mittel	media	U0881BG	5
	medium to tall	moyenne à haute	mittel bis hoch	media a alta		6
	tall	haute	hoch	alta	R6ST2MI	7
	tall to very tall	haute à très haute	hoch bis sehr hoch	alta a muy alta		8
	very tall	très haute	sehr hoch	muy alta	31G03	9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
28. (*)	QN MS		69-73			
	<u>Only hybrids and open-pollinated varieties:</u> Plant: natural height	<u>Seulement pour les hybrides et les variétés à fécondation libre :</u> Plante : hauteur naturelle	<u>Nur Hybriden und freiabblühende Sorten:</u> Pflanze: natürliche Höhe	<u>Sólo híbridos y variedades de polinización libre:</u> Planta: altura natural		
	very short	très basse	sehr niedrig	muy baja	Antonil	1
	very short to short	très basse à basse	sehr niedrig bis niedrig	muy baja a baja		2
	short	basse	niedrig	baja	GK Milia	3
	short to medium	basse à moyenne	niedrig bis mittel	baja a media		4
	medium	moyenne	mittel	media	Sumiko	5
	medium to tall	moyenne à haute	mittel bis hoch	media a alta		6
	tall	haute	hoch	alta	Marley	7
	tall to very tall	haute à très haute	hoch bis sehr hoch	alta a muy alta		8
	very tall	très haute	sehr hoch	muy alta	Kisvárdai	9
29. (*)	QL VG		69-89			
	Plant: branching	Plante : ramification	Pflanze: Verzweigung	Planta: ramificación		
	absent	absente	fehlend	ausente	HA89, OB724	1
	present	présente	vorhanden	presente	RHA274, T0954LM	9
30. (*)	PQ VG	(+)	69-89			
	<u>Only varieties with Plant: branching:</u> present: Plant: type of branching	<u>Seulement les variétés avec Plante :</u> ramification : présente : Plante : type de ramification	<u>Nur Sorten mit Pflanze: Verzweigung:</u> vorhanden: Pflanze: Typ der Verzweigung	<u>Solo variedades con Planta: ramificación:</u> presente: Planta: tipo de ramificación		
	only basal	uniquement basale	nur basal	sólo basal		1
	predominantly basal	prédominance basale	überwiegend basal	predominantement basal		2
	throughout	partout	überall	total	H11050R	3
	predominantly apical	prédominance apicale	überwiegend apikal	predominantement apical	RHA274, T0954LM	4
	only apical	uniquement apicale	nur apikal	sólo apical	TRC2342	5
31.	QN VG		69-89			
	<u>Only varieties with Plant: branching:</u> present: Plant: position of highest lateral head to central head	<u>Seulement les variétés avec Plante :</u> ramification : présente : Plante : position du capitule latéral le plus haut par rapport au capitule central	<u>Nur Sorten mit Pflanze: Verzweigung:</u> vorhanden: Pflanze: Position des höchsten Seitenkorbes zum Hauptkorb	<u>Solo variedades con Planta: ramificación:</u> presente: Planta: posición natural del capítulo lateral más alto, en relación con el capítulo central		
	below	au-dessous	unterhalb	debajo	PH5004R	1
	same level	au même niveau	gleiche Höhe	al mismo nivel	T0954LM	2
	above	au-dessus	oberhalb	encima	99D40R	3

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
32. (*)	QN	VG	(+)	80-89		
	Stem: attitude	Tige : port	Stängel: Haltung	Tallo: porte		
	straight	droit	gerade	recto	U0881BG	1
	slightly curved	légèrement arqué	leicht gebogen	ligeramente arqueado		2
	strongly curved	fortement arqué	stark gebogen	fuertemente arqueado	F7EW2MIA	3
33. (*)	QN	VG	(+)	80-89		
	Head: attitude	Capitule : port	Kopf: Haltung	Capítulo: porte		
	horizontal	horizontal	waagerecht	horizontal	RT8711	1
	inclined	incliné	geneigt	inclinado		2
	vertical	vertical	vertikal	vertical	RT0976	3
	half-turned down	demi-renversé	halbüberhängend	semiinvertido	U0881BG	4
	turned down	renversé	überhängend	invertido	F5DN3MA	5
	over turned	retourné	zurückgebogen	retorcido		6
34. (*)	QN	MS/VG		80-89		
	Head: size	Capitule : taille	Korb: Größe	Capítulo: tamaño		
	very small	très petite	sehr klein	muy pequeño		1
	very small to small	très petite à petite	sehr klein bis klein	muy pequeño a pequeño		2
	small	petite	klein	pequeño	RT0976	3
	small to medium	petite à moyenne	klein bis mittel	pequeño a medio		4
	medium	moyenne	mittel	medio	BT0835, HA89	5
	medium to large	moyenne à grande	mittel bis groß	medio a grande		6
	large	grande	groß	grande	F5DN3MA	7
	large to very large	grande à très grande	groß bis sehr groß	grande a muy grande		8
	very large	très grande	sehr groß	muy grande		9
35. (*)	PQ	VG	(+)	85-87		
	Head: shape of grain side	Capitule : forme de la face portant les grains	Korb: Form der Kornseite	Capítulo: forma de la parte del grano		
	strongly concave	fortement concave	stark konkav	fuertemente cóncavo		1
	weakly concave	faiblement concave	schwach konkav	débilmente cóncavo	R5PG6MJ	2
	flat	plate	gerade	plano	RT8711	3
	weakly convex	faiblement convexe	schwach konvex	débilmente convexo	HA89, R6ST2MI	4
	strongly convex	fortement convexe	stark konvex	fuertemente convexo	T0916LG	5
	deformed	difforme	verformt	deformado	TRC3398R	6

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
36.	QN	MS/VG		99		
	Seed: size	Grain : taille	Korn: Größe	Semilla: tamaño		
	very small	très petite	sehr klein	muy pequeño	PHA283	1
	very small to small	très petite à petite	sehr klein bis klein	muy pequeño a pequeño		2
	small	petite	klein	pequeño	TRC2342	3
	small to medium	petite à moyenne	klein bis mittel	pequeño a medio		4
	medium	moyenne	mittel	medio	HA89, OB724	5
	medium to large	moyenne à grande	mittel bis groß	medio a grande		6
	large	grande	groß	grande	FT2603, Kiszárdai	7
	large to very large	grande à très grande	groß bis sehr groß	grande a muy grande		8
	very large	très grande	sehr groß	muy grande		9
37. (*)	PQ	VG	(+)	99		
	Seed: shape	Grain : forme	Korn: Form	Semilla: forma		
	elongated	allongée	langezogen	alargada	BT0835	1
	narrow ovoid	ovoïde étroite	schmal eiartig	ovoïde estrecha	H11050R	2
	broad ovoid	ovoïde large	breit eiartig	ovoïde ancha	F7AW1MOA, HA89	3
	rounded	arrondie	abgerundet	redondeada		4
38.	QN	MS/VG		99		
	Seed: thickness relative to width	Grain : épaisseur par rapport à la largeur	Korn: Dicke im Verhältnis zur Breite	Semilla: grosor con relación a la anchura		
	very thin	très mince	sehr dünn	muy delgado	RHA801	1
	thin	mince	dünn	delgado		2
	medium	moyenne	mittel	medio	F7AW1MOA, FR83322	3
	thick	épaisse	dick	grueso	85C11R, F7AX2MA	4
	very thick	très épaisse	sehr dick	muy grueso		5
39. (*)	PQ	VG	(+)	99		
	Seed: color	Grain : couleur	Korn: Farbe	Semilla: color		
	white	blanc	weiß	blanco	Labud	1
	purple	pourpre	purpur	púrpura		2
	light brown	brun clair	hellbraun	marrón claro	IR79DMR	3
	medium brown	brun moyen	mittelbraun	marrón medio	H11050R	4
	dark brown	brun foncé	dunkelbraun	marrón oscuro	B0644LM	5
	light grey	gris clair	hellgrau	gris claro	RW666IMI	6
	medium grey	gris moyen	mittelgrau	gris medio	RT9513	7
	dark grey	gris foncé	dunkelgrau	gris oscuro		8
	black	noir	schwarz	negro	HA89, T0954LM	9

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
40. (*)	QN	VG	(+)	99			
	Seed: stripes on margin	Grain : raies sur le bord	Korn: Streifen am Rand	Semilla: rayas en el borde			
	none or very weakly expressed	aucunes ou très faiblement marquées	keine oder sehr schwach ausgeprägt	ausentes o muy débilmente definidas	T0954LM		1
	weakly expressed	faiblement marquées	schwach ausgeprägt	débilmente definidas	OB724		2
	strongly expressed	fortement marquées	stark ausgeprägt	fuertemente definidas	HA89, U0881BG		3
41. (*)	QN	VG	(+)	99			
	Seed: stripes between margins	Grain : raies entre les bords	Korn: Streifen zwischen den Rändern	Semilla: rayas entre los bordes			
	none or very weakly expressed	aucunes ou très faiblement marquées	nicht oder sehr schwach ausgeprägt	ausentes o muy débilmente definidas	T0954LM		1
	weakly expressed	faiblement marquées	schwach ausgeprägt	débilmente definidas	LGR27		2
	strongly expressed	fortement marquées	stark ausgeprägt	fuertemente definidas	HA89, U0881BG		3
42. (*)	PQ	VG		99			
	Seed: color of stripes	Grain : couleur des raies	Korn: Farbe der Streifen	Semilla: color de las rayas			
	white	blanc	weiß	blanco	U0881BG		1
	grey	gris	grau	gris	99D40R		2
	brown	brun	braun	marrón	F1164LM		3
	black	noir	schwarz	negro			4

8. Explications du tableau des caractères

8.1 *Explications portant sur plusieurs caractères*

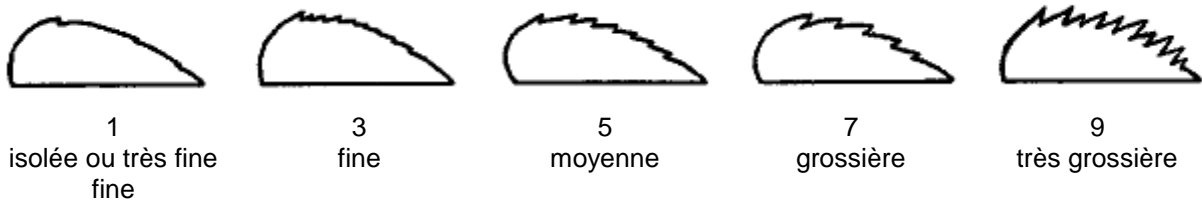
Sauf indication contraire, les observations doivent être effectuées sur la tige principale.

Les caractères auxquels l'un des codes suivants a été attribué dans le tableau des caractères doivent être examinés de la manière indiquée ci-après :

- (a) Les observations doivent être effectuées sur des feuilles entièrement développées du tiers supérieur de la plante.

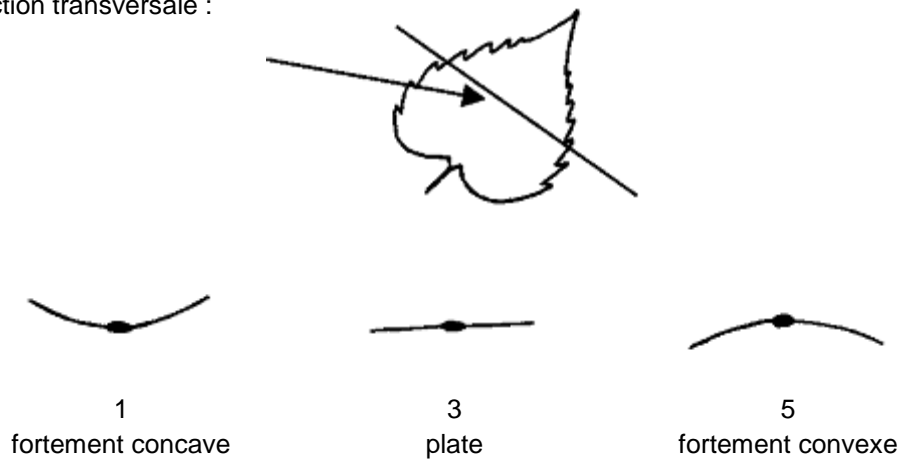
8.2 *Explications portant sur certains caractères*

Ad. 4 : Feuille : dentelure



Ad. 5 : Feuille : forme en section transversale

Section transversale :



Ad. 6 : Feuille : forme de la partie distale

Les observations doivent être effectuées sur les deux tiers supérieurs.

Ad. 7 : Feuille : oreillettes



1
absentes ou très
petites



3
petites



5
moyennes



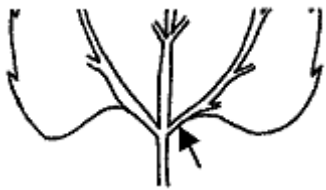
7
grandes



9
très grandes

Ad. 8 : Feuille : ailes

(Parenchyme à la base des nervures latérales)



1
absentes ou très faiblement
marquées



2
faiblement marquées



3
fortement marquées

Ad. 9 : Feuille : angle des nervures latérales les plus basses



1
aigu



2
droit ou presque droit



3
obtus

Ad. 11 : Époque du début de la floraison

L'époque de la floraison est atteinte lorsque 50% des plantes montre au moins une fleur ligulée dressée.

Ad. 12 : Fleur ligulée: port de la base par rapport au capitule



1
angle droit



3
horizontal

Ad. 13 : Fleur ligulée : type



1
plat



2
recourbé
longitudinalement



3
ondulé



4
fortement recourbé vers
le dos du capitule

Ad. 16 : Fleur ligulée : largeur par rapport à la longueur



1
très étroite



2
modérément étroite



3
modérément large



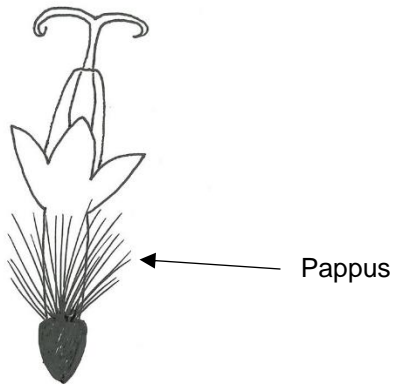
4
très large

Ad. 17 : Fleur ligulée : couleur

Si plusieurs couleurs sont présentes, seule la couleur couvrant la plus grande surface est prise en compte.

Ad. 18 : Fleuron : pigmentation anthocyanique du pappus

Les observations doivent être effectuées sur le tiers intérieur du capitule.

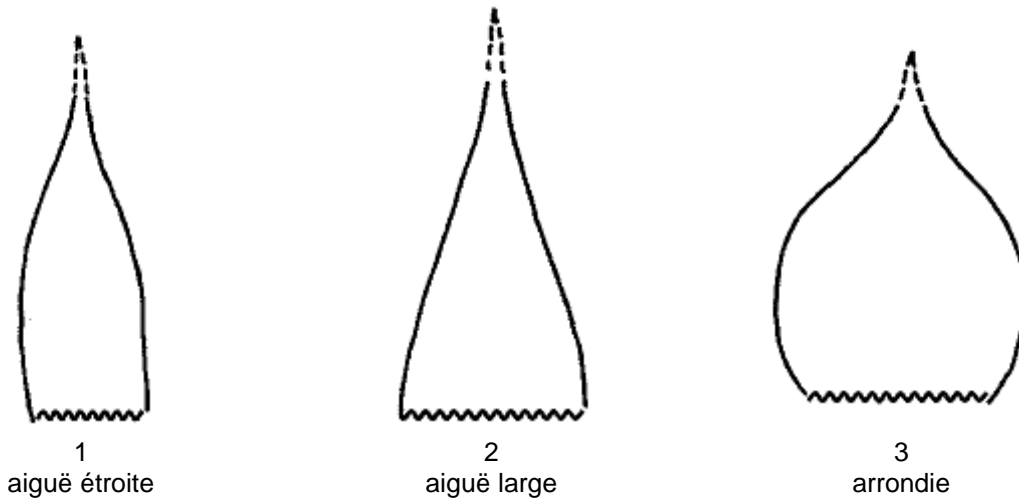


Ad. 21 : Fleuron : pigmentation anthocyanique du stigmat

Les observations doivent être effectuées sur le capitule au moment où le pollen apparaît au sommet des anthères.

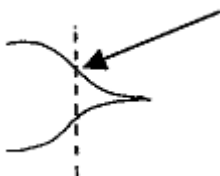
Ad. 23 : Bractée : forme

À observer en excluant l'extrémité différenciée.

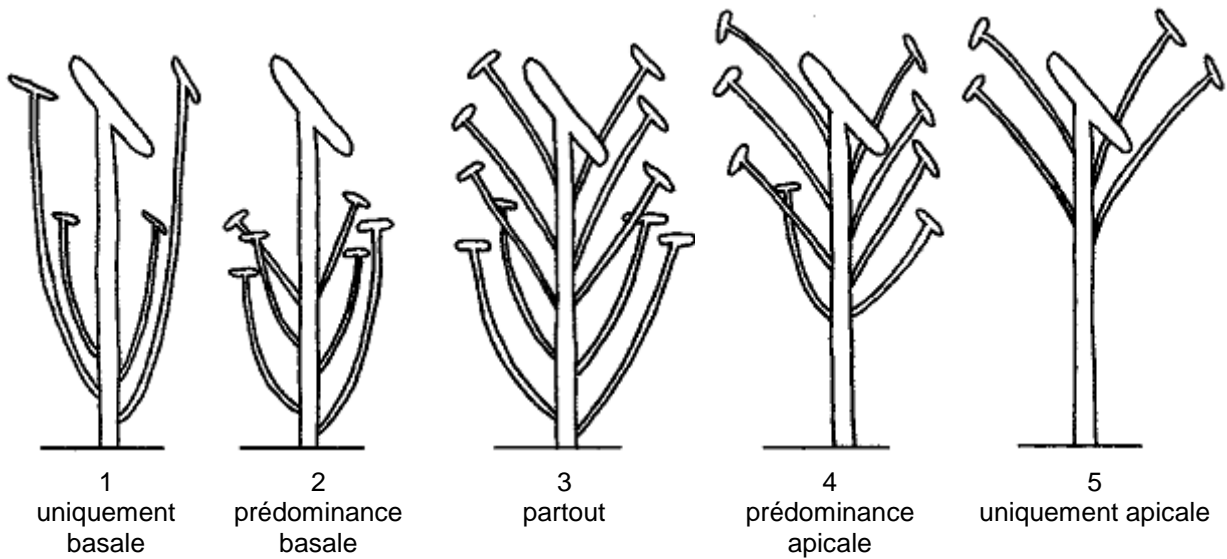


Ad. 24 : Bractée : longueur de l'extrémité

L'extrémité commence à l'endroit où la courbure change de direction



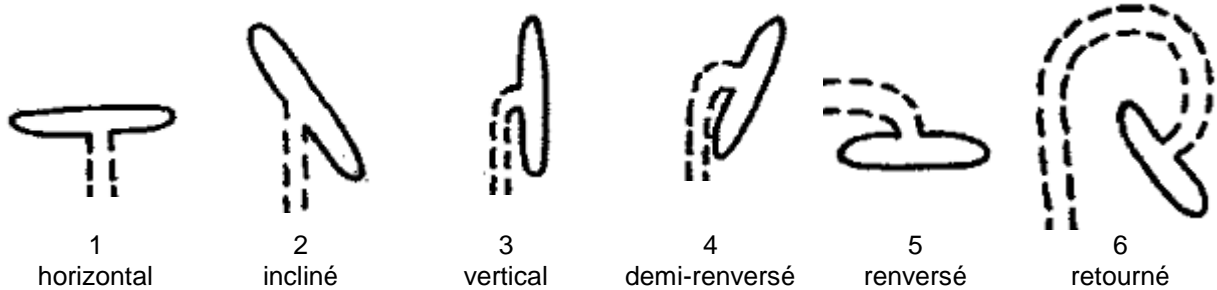
Ad. 30 : Seulement les variétés avec Plante : ramification : présente : Plante : type de ramification



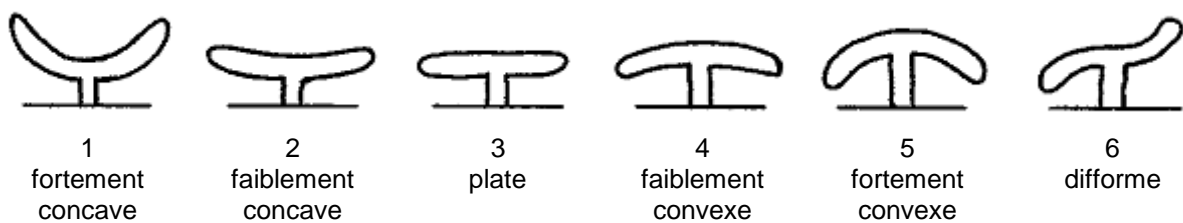
Ad. 32 : Tige : port

Les observations doivent être effectuées sur le tiers supérieur de la tige, au-dessous du capitule.

Ad. 33 : Capitule : port



Ad. 35 : Capitule : forme de la face portant les grains



Ad. 37 : Grain : forme



1
allongée



2
ovoïde étroite



3
ovoïde large



4
arrondie

Ad. 39 : Grain : couleur

La couleur ayant la plus grande surface doit être observée. Lorsque les surfaces des couleurs sont trop similaires pour pouvoir déterminer de manière fiable quelle est la couleur qui occupe la plus grande surface, la couleur la plus foncée doit être observée.

Ad. 40 : Grain : raies sur le bord



Ad. 41 : Grain : raies entre les bords



8.3 Stades de croissance d'*Helianthus annuus* L. adoptés selon l'échelle BBCH (Meier U., 1997) applicable aux plantes individuelles

Code Définition

Stade principal 0 : Germination

- 0 Graine sèche (akène)
- 1 Début de l'inhibition de la graine
- 3 Inhibition complète
- 5 La radicule sort de la graine
- 6 Elongation de la radicule et développement de poils absorbants
- 7 Hypocotyle et cotylédons sortent de la graine
- 8 Hypocotyle et cotylédons se dirigent vers la surface du sol
- 9 Levée : hypocotyle et cotylédons percent la surface du sol

Stade principal 1 : Développement des feuilles*

* L'élongation de la tige principale peut intervenir avant le stade 19, dans ce cas continuez avec le stade de développement principal 3.

- 10 Cotylédons complètement étalés
- 12 Première paire de feuilles étalées (stade 2 feuilles opposées)
- 14 Deuxième paire de feuilles étalées (stade 4 feuilles)
- 15 Première feuille alterne étalée (stade 5 feuilles)
- 16 6 feuilles étalées
- 17 7 feuilles étalées
- 18 8 feuilles étalées
- 19 9 ou davantage de feuilles étalées

Stade principal 3 : Elongation de la tige principale

- 30 Début de l'élongation de la tige principale
- 31 L'élongation du premier entre-noeud est visible
- 32 2 entre-noeuds visibles
- 3 Et ainsi de suite...
- 39 9 ou davantage d'entre-nœuds sont visibles

Stade principal 5 : Apparition de l'inflorescence

- 51 L'inflorescence (capitule) est juste visible entre les plus jeunes feuilles
- 53 L'inflorescence se sépare des feuilles, on distingue les bractées des vraies feuilles
- 55 L'inflorescence est séparée des plus jeunes feuilles
- 57 L'inflorescence est nettement séparée des feuilles
- 59 Les fleurs ligulées sont visibles entre les bractées, le capitule est toujours fermé

Stade principal 6 : La floraison

- 61 Début floraison : fleurs ligulées dressées, fleurs tubuleuses visibles sur le tiers extérieur du capitule
- 63 Fleurs tubuleuses sur le tiers extérieur du capitule en fleurs (étamines et stigmates visibles)
- 65 Pleine floraison : fleurs tubuleuses sur le tiers du milieu du capitule en fleurs (étamines et stigmates visibles)
- 67 La floraison s'achève : fleurs tubuleuses sur le tiers intérieur du capitule en fleurs, (étamines et stigmates visibles)
- 69 Fin de la floraison, la plupart des fleurs tubuleuses ont fleuri, les fleurs ligulées sont sèches ou tombées

Stade principal 7 : Développement du fruit

- 71 Les akènes du bord du capitule sont gris et ont atteint leur taille finale
- 73 Les akènes du bord du tiers extérieur du capitule sont gris et ont atteint leur taille finale
- 75 Les akènes du tiers du milieu du capitule sont gris et ont atteint leur taille finale
- 79 Les akènes du tiers intérieur du capitule sont gris et ont atteint leur taille finale

Stade principal 8 : Maturation des fruits et graines

- 80 Début de la maturation : les akènes au bord du capitule sont noirs et durs, le dessous du capitule est toujours vert
- 81 Les akènes du tiers extérieur du capitule sont noirs et durs, le dessous du capitule est toujours vert
- 83 Le dessous du capitule est vert-jaunâtre, les bractées sont vertes, les akènes contiennent 50 % de matière sèche
- 85 Les akènes du tiers du milieu du capitule sont noirs et durs, le dessous du capitule est jaune, le bord des bractées est brun, les akènes contiennent 60 % de matière sèche
- 87 Maturité physiologique : le dessous du capitule est jaune, les bractées sont marbrées de brun, les akènes contiennent 75-80 % de matière sèche
- 89 Maturation complète : les akènes du tiers intérieur du capitule sont noirs et durs, le dessous du capitule est brun, les bractées sont brunes, les akènes contiennent 85 % de matière sèche

Stade principal 9 : Sénescence

- 92 Sur-maturation : les akènes contiennent 90 % de matière sèche
- 97 Plante desséchée et morte
- 99 Produit après récolte

9. Bibliographie

ASFIS, GEVES, GNIS: Description des géniteurs et variétés de tournesol. édition 2000 (English, French, Spanish) ASFIS, 44, rue du Louvre, 75001 Paris, FR

Meier, U., 1997: Growth stages of mono- and dicotyledonous plants: BBCH-Monograph. Wien Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, DE.

Miller, J.F.: Update on Inheritance of Sunflower Characteristics. USDA - ARS, Northern Crop Science Laboratory, Fargo, North Dakota 58105, USA

10. Questionnaire technique

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
		Date de la demande : (réservé aux administrations)
QUESTIONNAIRE TECHNIQUE à remplir avec une demande de certificat d'obtention végétale		
Si la demande de certificat d'obtention végétale porte sur une variété hybride et si l'examen requiert la remise des lignées parentales, le présent questionnaire doit être rempli pour chacune des lignées parentales en plus de la variété hybride.		
1.	Objet du questionnaire technique	
1.1	Nom botanique	<input type="text" value="Helianthus annuus L."/>
1.2	Nom commun	<input type="text" value="Tournesol"/>
2.	Demandeur	
	Nom	<input type="text"/>
	Adresse	<input type="text"/>
	Numéro de téléphone	<input type="text"/>
	Numéro de télécopieur	<input type="text"/>
	Adresse électronique	<input type="text"/>
	Obtenteur (s'il est différent du demandeur)	<input type="text"/>
3.	Dénomination proposée et référence de l'obteneur	
	Dénomination proposée (le cas échéant)	<input type="text"/>
	Référence de l'obteneur	<input type="text"/>

#4. Renseignements sur le schéma de sélection et le mode de multiplication de la variété

4.1 Schéma de sélection

Variété résultant d'une :

4.1.1 Hybridation

(a) hybridation contrôlée []
(indiquer les variétés parentales)

(.....) x (.....)
parent femelle parent mâle

(b) hybridation à généalogie partiellement inconnue []
(indiquer la ou les variété(s) parentale(s) connue(s))

(.....) x (.....)
parent femelle parent mâle

(c) hybridation à généalogie totalement inconnue []

4.1.2 Mutation []
(indiquer la variété parentale)

[]

4.1.3 Découverte et développement []
(indiquer le lieu et la date de la découverte, ainsi que la méthode de développement)

[]

4.1.4 Autre []
(préciser)

[]

Les autorités peuvent prévoir que certains de ces renseignements seront indiqués dans une section confidentielle du questionnaire technique.

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
-------------------------	-----------------	-----------------------

4.2 Méthode de multiplication de la variété

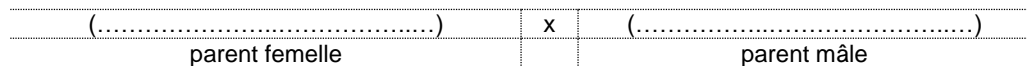
4.2.1 Variétés reproduites par voie sexuée

- | | |
|------------------------------|-----|
| a) Pollinisation croisée | [] |
| i) Population | [] |
| ii) Hybride simple | [] |
| b) Hybride | [] |
| i) Hybride trois voies | [] |
| ii) Hybride mâle stérile | [] |
| iii) Hybride mâle fertile | [] |
| c) Lignée endogame | [] |
| i) Lignée mâle stérile | [] |
| ii) Lignée mâle fertile | [] |
| d) Autre (veuillez préciser) | [] |

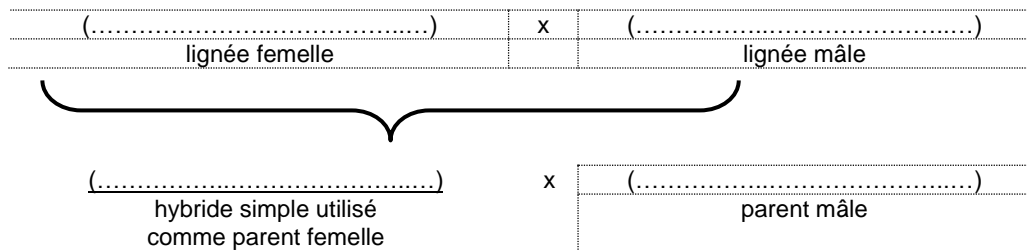
- 4.2.2 Autre (veuillez préciser) []

Dans le cas de variétés hybrides, le schéma de production de l'hybride doit être indiqué sur une feuille à part. Il convient d'indiquer en détail toutes les lignées nécessaires pour la production de l'hybride, par exemple

Hybride simple



Hybride trois voies



et en particulier :

- a) toute lignée mâle stérile
- b) le système de maintien des lignées mâles stériles.

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
-------------------------	-----------------	-----------------------

5. Caractères de la variété à indiquer (Le chiffre entre parenthèses renvoie aux caractères correspondants dans les principes directeurs d'examen; prière d'indiquer la note appropriée.)		
Caractères	Exemples	Note
5.1 (2) Feuille : intensité de la couleur verte		
très claire	F5DN3MA, T0243HG	1 []
claire		2 []
moyenne	H11050R	3 []
foncée		4 []
très foncée	13013	5 []
5.2 (3) Feuille : cloqure		
absente ou très faible	F5DN3MA	1 []
très faible à faible		2 []
faible	F7AX2JA, IR79DMR	3 []
faible à moyenne		4 []
moyenne	HA89, IB1088DMR	5 []
moyenne à forte		6 []
forte	TRC2342	7 []
forte à très forte		8 []
très forte		9 []
5.3 (11) Époque du début de la floraison		
très précoce	PHA283	1 []
très précoce à précoce		2 []
précoce	T0860LM	3 []
précoce à moyenne		4 []
moyenne	H11050R, RHA274	5 []
moyenne à tardive		6 []
tardive	RT7710	7 []
tardive à très tardive		8 []
très tardive	Kisvárdai, LGR27	9 []

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
-------------------------	-----------------	-----------------------

Caractères	Exemples	Note
5.4 (17) Fleur ligulée : couleur		
blanc jaunâtre	RHA381	1 []
jaune clair	F7AW1MOA	2 []
jaune moyen	RT7710	3 []
jaune orange	U0881BG	4 []
orange	OB724, P211R	5 []
pourpre		6 []
brun rougeâtre		7 []
5.5 (22) Fleuron: production de pollen		
absente	F7AW1MOA, HA89	1 []
présente	IR79DMR, RHA274	9 []
5.6 (27) <u>Seulement pour les lignées endogames</u> : Plante : hauteur naturelle		
la variété n'est pas une lignée endogame		[]
très basse	FR810RM1	1 []
très basse à basse		2 []
basse	OB724	3 []
basse à moyenne		4 []
moyenne	U0881BG	5 []
moyenne à haute		6 []
haute	R6ST2MI	7 []
haute à très haute		8 []
très haute	31G03	9 []
5.7 (28) <u>Seulement pour les hybrides et les variétés à fécondation libre</u> : Plante : hauteur naturelle		
la variété n'est pas un hybride ou une variété à fécondation libre		[]
très basse	Antonil	1 []
très basse à basse		2 []
basse	GK Milia	3 []
basse à moyenne		4 []
moyenne	Sumiko	5 []
moyenne à haute		6 []
haute	Marley	7 []
haute à très haute		8 []
très haute	Kisvárdai	9 []

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
-------------------------	-----------------	-----------------------

Caractères	Exemples	Note
5.8 (29) Plante : ramification		
absente	HA89, OB724	1 []
présente	RHA274, T0954LM	9 []
5.9 (39) Grain : couleur		
blanc	Labud	1 []
pourpre		2 []
brun clair	IR79DMR	3 []
brun moyen	H11050R	4 []
brun foncé	B0644LM	5 []
gris clair	RW666IMI	6 []
gris moyen	RT9513	7 []
gris foncé		8 []
noir	HA89, T0954LM	9 []
5.10 (40) Grain : raies sur le bord		
aucunes ou très faiblement marquées	T0954LM	1 []
faiblement marquées	OB724	2 []
fortement marquées	HA89, U0881BG	3 []
5.11 (41) Grain : raies entre les bords		
aucunes ou très faiblement marquées	T0954LM	1 []
faiblement marquées	LGR27	2 []
fortement marquées	HA89, U0881BG	3 []

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
-------------------------	-----------------	-----------------------

6. Variétés voisines et différences par rapport à ces variétés

Veillez indiquer dans le tableau ci-dessous et dans le cadre réservé aux observations en quoi votre variété candidate diffère de la ou des variété(s) voisine(s) qui, à votre connaissance, s'en rapproche(nt) le plus. Ces renseignements peuvent favoriser la détermination de la distinction par le service d'examen.

Dénomination(s) de la ou des variété(s) voisine(s) de votre variété candidate	Caractère(s) par lequel ou lesquels votre variété candidate diffère des variétés voisines	Décrivez l'expression du ou des caractère(s) chez la ou les variété(s) voisine(s)	Décrivez l'expression du ou des caractère(s) chez votre variété candidate
---	---	--	--

<i>Exemple</i>	<i>Époque du début de la floraison</i>	<i>précoce (3)</i>	<i>tardive (7)</i>
----------------	--	--------------------	--------------------

--	--	--	--

--	--	--	--

--	--	--	--

Observations :

--

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
-------------------------	-----------------	-----------------------

#7. Renseignements complémentaires pouvant faciliter l'examen de la variété

7.1 En plus des renseignements fournis dans les sections 5 et 6, existe-t-il des caractères supplémentaires pouvant faciliter l'évaluation de la distinction de la variété?

Oui Non

(Dans l'affirmative, veuillez préciser)

7.2 Des conditions particulières sont elles requises pour la culture de la variété ou pour la conduite de l'examen?

Oui Non

(Dans l'affirmative, veuillez préciser)

7.3 Autres renseignements

1) Utilisation

a) huile et tourteau

b) oisellerie

c) consommation humaine directe (graines décortiquées)

d) consommation humaine directe (graines de confiserie)

e) autre utilisation (veuillez préciser)

2) Résistance aux parasites et aux maladies

a) Mildiou (précisez les races)

b) Orobanche (précisez les races)

c) Autres parasites et aux maladies (veuillez préciser)

3) Teneur en acide oléique

a) basse

b) moyenne

c) élevée

4) Tolérance aux herbicides

a) oui (veuillez préciser)

b) non

Les autorités peuvent prévoir que certains de ces renseignements seront indiqués dans une section confidentielle du questionnaire technique.

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE	Page {x} de {y}	Numéro de référence :
-------------------------	-----------------	-----------------------

8. Autorisation de dissémination

a) La législation en matière de protection de l'environnement et de la santé de l'homme et de l'animal soumet elle la variété à une autorisation préalable de dissémination?

Oui [] Non []

b) Dans l'affirmative, une telle autorisation a-t-elle été obtenue?

Oui [] Non []

Si oui, veuillez joindre une copie de l'autorisation.

9. Renseignements sur le matériel végétal à examiner ou à remettre aux fins de l'examen

9.1 L'expression d'un ou plusieurs caractère(s) d'une variété peut être influencée par divers facteurs, tels que parasites et maladies, traitement chimique (par exemple, retardateur de croissance ou pesticides), culture de tissus, porte greffes différents, scions prélevés à différents stades de croissance d'un arbre, etc.

9.2 Le matériel végétal ne doit pas avoir subi de traitement susceptible d'influer sur l'expression des caractères de la variété, sauf autorisation ou demande expresse des autorités compétentes. Si le matériel végétal a été traité, le traitement doit être indiqué en détail. En conséquence, veuillez indiquer ci-dessous si, à votre connaissance, le matériel végétal a été soumis aux facteurs suivants :

a) micro-organismes (p. ex. virus, bactéries, phytoplasmes)	Oui []	Non []
b) Traitement chimique (p. ex. retardateur de croissance, pesticides)	Oui []	Non []
c) Culture de tissus	Oui []	Non []
d) Autres facteurs	Oui []	Non []

Si vous avez répondu "oui" à l'une de ces questions, veuillez préciser.

.....

10. Je déclare que, à ma connaissance, les renseignements fournis dans le présent questionnaire sont exacts :

Nom du demandeur

Signature Date

[L'annexe suit]

ANNEXE

Explications additionnelles utiles

	<u>SOMMAIRE</u>	<u>PAGE</u>
Partie I :	Introduction	2
Partie II :	Caractères obtenus par l'utilisation de l'électrophorèse	3
Partie III :	Description de la méthode à utiliser	5

Partie I

Introduction

L'annexe suivante comprend une liste des caractères obtenus par l'utilisation de l'électrophorèse et une description de la méthode à appliquer. L'UPOV a décidé de faire figurer ces caractères dans une annexe aux Principes Directeurs, en créant ainsi une catégorie spéciale de caractères, étant donné que la majorité des États membres de l'UPOV sont d'avis qu'il n'est pas possible d'établir la distinction uniquement sur la base d'une différence pour un caractère obtenu par l'utilisation de l'électrophorèse. Ces caractères doivent par conséquent être utilisés uniquement comme complément aux différences constatées pour des caractères morphologiques ou physiologiques. L'UPOV confirme que ces caractères sont considérés comme utiles, mais que, pris isolément, ils ne peuvent pas être suffisants pour établir la distinction. Ils ne doivent pas être utilisés comme caractères de routine, mais seulement sur demande ou avec accord du demandeur.

Partie II

Caractères obtenus par l'utilisation de l'électrophorèse

Nr.	Caractère	Type d'expression	Exemples	Note
42	Expression allélique au locus Me1	Génotype 2/2	IB1088DMR	1
		Génotype 4/4	SF9074MA	2
		Génotype 2/4	Sumiko	3
43	Expression allélique au locus Pgd1	Génotype 2/2	IB1088DMR	1
		Génotype 4/4	SF9074MA	2
		Génotype 2/4	Sumiko	3
44	Expression allélique au locus Pgi2	Génotype 2/2	IB1088DMR	1
		Génotype 4/4	SF9074MA	2
		Génotype 2/4	GK Petrus CLP	3
45	Expression allélique au locus Shdh1	Génotype 2/2	IB1088DMR	1
		Génotype 4/4		2
		Génotype 2/4	Marley	3
46	Expression allélique au locus Pgm4	Génotype 2/2		1
		Génotype 4/4	IB1088DMR	2
		Génotype 2/4	GK Petrus CLP	3

Partie III

Description de la méthode à utiliser

Description de la méthode SGE pour l'analyse des Isoenzymes d'*Helianthus annuus L.*

1. **Nombre de plantules par test :**

- pour la vérification de la formule :
10 plantules de chacune des lignées parentales
4 plantules pour les hybrides simples
10 plantules pour les hybrides trois voies
- pour le test de distinction, homogénéité et stabilité :
au moins 40 plantules pour les lignées, hybrides et variétés - populations

2. **Equipement**

Tout système approprié d'électrophorèse en horizontal peut être utilisé, pourvu que la température de migration des gels puisse être maintenue à 4° C. Un gel d'épaisseur de 10 mm est recommandé. Le générateur électrique utilisé devra pouvoir délivrer un voltage constant.

3. **Produits chimiques**

Tous les produits chimiques doivent être au moins de qualité "Analytical Reagent".

3.1 Produits chimiques pour l'extraction des enzymes :

Tris : Tris (hydroxyméthyl) aminométhane
Acide chlorhydrique
 β -Mercaptoéthanol (ou 2-mercaptoéthanol)

3.2 Produits chimiques pour l'électrophorèse

Bleu de bromophénol
Acide citrique monohydraté
L-Histidine base
Amidon hydrolysé pour électrophorèse (Sigma S-4501 ou équivalent)

3.3 Produits chimiques pour la révélation des enzymes

Acide 6-phosphogluconique, sel trisodique dihydraté
Acide DL-malique, sel monosodique
Acide shikimique
EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique, sel disodique
Ethanol 95 %
D-Fructose 6-phosphate sel disodique
 α -D Glucose 1-phosphate, sel disodique monohydraté
Glucose 6-phosphate déshydrogénase (Sigma G5885)
HCl : Acide chlorhydrique
 $MgCl_2$: Chlorure de magnésium, 6H₂O
MTT : Diméthylthiazol diphényltétrazolium
 β -NADP : β -Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, sel disodique
NaOH : Hydroxyde de sodium (soude)
NBT : Nitro blue tétrazolium
PMS : Phénazine méthosulfate
Tris : Tris- (hydroxyméthyl) aminométhane

4. Solutions

4.1 Tampon d'extraction : Tris HCl 0,1M, pH 7,2 + β -mercaptoéthanol 0,2 % (v/v).

4.2 Tampons d'électrophorèse

4.2.1 Tampons pour l'électrophorèse à pH 6,5

4.2.1.1 Solution - mère : L-histidine-citrate 0,364 M

L-histidine 50,44 g
Acide citrique monohydraté 8,34 g
Eau désionisée q.s.p. 1 l.

4.2.1.2 Tampon de migration : L-histidine-citrate 0,072 M pH 6,5 (solution - mère diluée 5 fois)

Solution - mère (4.2.1.1) 400 ml
Eau désionisée q.s.p. 2 l

4.2.1.3 Tampon de gel : L-histidine-citrate 0,024 M (solution - mère diluée 15 fois)

Solution - mère (4.2.1.1) 80 ml
Eau désionisée q.s.p. 1200 ml

4.2.2 Tampons pour l'électrophorèse à pH 5,7

4.2.2.1 Tampon de migration : 0,067 M L-histidine-citrate pH 5,7 :

L-histidine 20,18 g
Acide citrique monohydraté 8,34 g
Eau désionisée q.s.p. 2 l.

4.2.2.2 Tampon de gel : 0,011 M L-histidine-citrate (tampon de migration dilué 6 fois) :

Tampon de migration t (4.2.2.1) 100 ml
Eau désionisée q.s.p. 1200 ml

4.2.2.3 Solution de Bleu de bromophénol :

Bleu de bromophénol 50 mg
Eau désionisée q.s.p. 100 ml

4.3 Solutions de révélation

4.3.1 Solutions - mères

4.3.1.1 Tris-HCl 1 M, pH 7,5

Tris 121,1 g
Ajusté à pH 7,5 avec HCl 50 %
Eau désionisée q.s.p. 1 l

4.3.1.2 Tris-HCl 1 M pH 8,5

Tris 121,1 g
Ajusté à pH 8,5 avec HCl 50 %
Eau désionisée q.s.p. 1 l

4.3.1.3 Solution de MTT

1.0 g MTT ajusté à 100 ml avec de l'eau désionisée.

4.3.1.4 Solution de NBT

1.0 g NBT ajusté à 100 ml avec de l'eau désionisée.

4.3.1.5 Solution de PMS

200 mg PMS ajusté à 100 ml avec de l'eau désionisée.

4.3.1.6 Solution de MgCl₂

10 g chlorure de magnésium ajusté à 100 ml avec de l'eau désionisée.

4.3.1.7 Solution de malate de sodium

2.5 g DL- acide malique
Ajusté à pH 8,0 avec NaOH 1M.
Eau désionisée q.s.p. 50 ml

4.3.2 Solutions des révélations enzymatiques

4.3.2.1 Solution de révélation des EM

100 ml Tris HCl 0,1M pH 7,5 (4.3.1.1 dilué 10 fois)
4 ml Solution de malate de sodium (4.3.1.7.)
1 ml Solution NBT (4.3.1.4.)
1 ml Solution PMS (4.3.1.5.)
1,8 ml Solution MgCl₂
17,5 mg NADP

4.3.2.2 Solution de révélation des PGD et des PGI

Les PGI migrent dans les deux premiers centimètres du gel.

Les PGD migrent au-dessus des PGI.

Il est donc possible de révéler ces deux enzymes sur la même tranche de gel.

100 ml Tris HCl 0,1M pH 7,5 (4.3.1.1. dilué 10 fois)
100 mg D-fructose 6-phosphate, sel disodique
60 mg Acide 6-phosphogluconique, sel trisodique
10 mg NADP
1 ml Solution MTT (4.3.1.3.)
1,5 ml Solution PMS (4.3.1.5.)
100 mg Solution MgCl₂ (4.3.1.6.)
40 unités Glucose 6-phosphate déshydrogénase (SIGMA G5885)

Pour ne révéler que les PGI, ne pas mettre d'acide 6-phosphogluconique dans la solution de révélation.

Pour ne révéler que les PGD, ne pas mettre de D-fructose 6-phosphate disodique et de glucose 6-phosphate déshydrogénase dans la solution de révélation.

4.3.2.3 Solution de révélation des ShDH

100 ml Tris HCl 0,2M pH 8,5 (4.3.1.2 dilué 5 fois)
50 mg Acide shikimique
1 ml Solution MTT (4.3.1.3.)
1.25 ml Solution PMS (4.3.1.5.)
12 mg NADP

4.3.2.4 Solution de révélation des PGM

100 ml Tris HCl 0,1M pH 8,5 (4.3.1.2. dilué 10 fois)
150 mg α -D-glucose 1-phosphate monohydraté, sel disodique
150 mg EDTA, sel disodique
10 mg NADP
1,5 ml Solution MTT (4.3.1.3.)
1 ml Solution PMS (4.3.1.5.)
4 ml Solution $MgCl_2$ (4.3.1.6.)
40 unités Glucose 6-phosphate déshydrogénase (SIGMA G5885)

5. Manipulation

5.1 Extraction des enzymes

Mettre les graines à germer sur du papier filtre à saturation d'eau, dans une étuve à 25°C et à l'obscurité, pendant 2 à 3 jours. Enlever les téguments et broyer les cotylédons à 4° C avec un pilon, dans des microtubes de 1,5 ml contenant 300 μ l de tampon extraction (4.1).

Les extraits peuvent être conservés à -30 ° C ou -80.

5.2 Préparation du gel d'amidon

Préparer les gels, la veille de la migration

Pour faire deux gels à 12,5 % d'amidon (18 x 18 x 1 cm), mélanger 128 g d'amidon avec 1020 ml tampon de gel (4.2.1.3. or 4.2.2.2.) dans une fiole à vide de 1000 ml
Chauffer le mélange à 78 ° C en agitant (par exemple avec un agitateur à pales entraîné par un moteur).
Dégazer le mélange avec une trompe à eau, pendant 30 s.
Couler les gels dans les moules, selon ce qui est décrit dans le manuel d'utilisation de l'appareil. Eviter la formation de bulles d'air. Laisser refroidir les gels pendant 45 mn, puis les placer au réfrigérateur pendant 1 h. Les recouvrir d'un film de polyéthylène et les conserver à température ambiante jusqu'au lendemain. Les refroidir à 4°C environ 1 heure avant la migration.

5.3 Electrophorèse

Chaque bac à électrode est rempli avec le volume approprié de tampon de migration (4.2.1.2. or 4.2.2.1.) pré-refroidi à 4 ° C.

Soulever le film de polyéthylène et couper deux fentes transversales dans le gel à 3 cm et 4cm de l'extrémité cathodale du moule.

Retirer la bande de gel de 1 cm gel et pratiquer les dépôts des extraits comme suit :

Après décongélation des extraits (5.1), imbiber de chaque extrait, une mèche de papier filtre (1.5 mm x 20 mm, Whatman N° 3).

Insérer les mèches dans le gel, contre la 1^{ère} fente.

Placer à chaque bord du gel, une mèche imbibée de bleu de bromophénol (4.2.2.3) (marqueur de migration).

Replacer très soigneusement la bande de gel. Remettre le film de polyéthylène sur chaque gel.

Placer les deux gels, avec la ligne de dépôt orientée côté cathode, sur les deux bacs à électrodes, dans une enceinte réfrigérée à 4°C.

L'électrophorèse est faite à 4° C, vers l'anode.

Après 15 mn de migration au 1^{er} voltage, retirer les mèches et augmenter le voltage.

Le voltage est maintenu constant pendant chaque phase.

Les conditions électrophorétiques sont indiquées dans le tableau suivant.

Systèmes de tampons	Voltage constant	Distance parcourue par le bleu de bromophénol	Durée de migration
Histidine citrate pH 5,7	260 V pendant 15 mn puis 290 V	13 cm	5 h
Histidine citrate pH 6,5	240 V pendant 15 mn puis 280 V	11 cm	5 h

Les ME, PGD et PGI sont séparées par électrophorèse à pH 5,7. Les ShDH et PGM sont séparées par électrophorèse à pH 6,5.

5.4 Révélations enzymatiques

Après coupure du courant, procéder au découpage des gels. Couper le gel horizontalement tranches de 1 mm d'épaisseur avec un fil d'acier très fin ou un fil à pêche. Eliminer la tranche supérieure. Mettre à incuber chaque tranche à 37 ° C, à l'obscurité dans une solution de révélation spécifique de l'enzyme :

Pour les EM :	solution 4.3.2.1	Temps d'incubation :15 h
pour les PGD et PGI :	solution 4.3.2.2	Temps d'incubation :1 h
pour les ShDH :	solution 4.3.2.3.	Temps d'incubation :1 h
pour les PGM :	solution 4.3.2.4	Temps d'incubation :1/2 h

Après coloration, rincer les tranches de gel à l'eau désionisée et les fixer dans une solution d'éthanol à 40 %. Pour un stockage des gels de longue durée, on peut soit les sécher entre deux feuilles de Cellophane, après trempage dans une solution de glycérol à 5 %, soit les conserver sous plastique scellé.

6. Description des allèles codant pour les isoenzymes

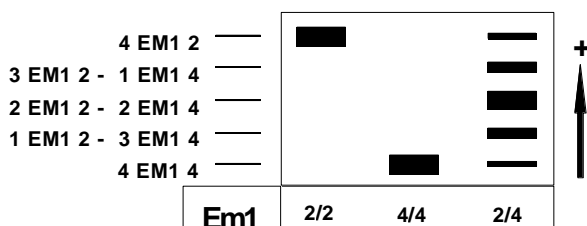
6.1 Description des allèles codant pour les EM

6.1.1 Interprétation génétique des zymogrammes

Enzyme	Structure quaternaire	Locus	Allèles
Enzyme malique (EM)	Tetramérique	Em1	2 4

6.1.2 Schématisation des zymogrammes

Bandes

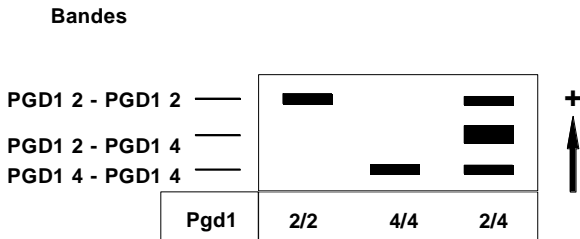


6.2 Description des allèles codant pour les PGD

6.2.1 Interprétation génétique des zymogrammes

Enzyme	Structure quaternaire	Locus	Allèles
6-phosphogluconate déshydrogénase (PGD)	Dimérique	Pgd1	2 4

6.2.2 Schématisation des zymogrammes



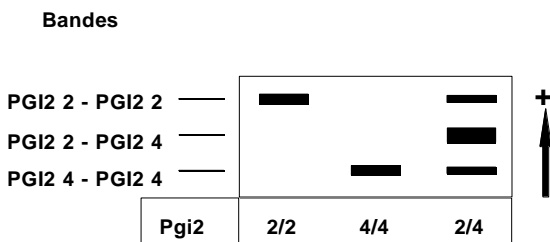
On observe deux zones de migration ; seules les bandes les plus lentes sont polymorphes.

6.3 Description des allèles codant pour les PGI

6.3.1 Interprétation génétique des zymogrammes

Enzyme	Structure quaternaire	Locus	Allèles
Phosphoglucoisomérase (PGI)	Dimérique	Pgi2	2 4

6.3.2 Schématisation des zymogrammes



On observe deux zones de migration ; seules les bandes les plus lentes sont interprétées.

6.4 Description des allèles codant pour les ShDH

6.4.1 Interprétation génétique des zymogrammes

Enzyme	Structure quaternaire	Locus	Allèles
Shikimate déshydrogénase (SHDH)	Monomérique	Shdh1	2 4

6.4.2 Schématisation des zymogrammes

Bandes



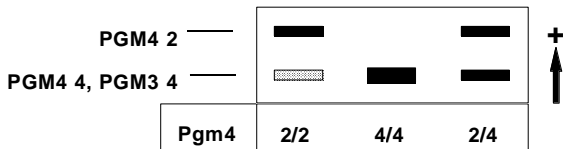
6.5 Description des allèles codant pour les PGM

6.5.1 Interprétation génétique des zymogrammes

Enzyme	Structure quaternaire	Locus	Allèles
Phosphoglucomutase	Monomérique	Pgm4	2 4

6.5.2 Schématisation des zymogrammes

Bandes



On observe plusieurs zones de migration ; seule la zone rapide est polymorphe. Il y a un autre gène non pris en compte. Celui-ci a été désigné Pgm3, codifiant pour une enzyme qui co-migre avec PGM4 4.

C'est pourquoi, les génotypes Pgm4 2/2 and Pgm4 2/4 donnent un zymogramme à deux bandes. Ces deux génotypes diffèrent seulement par l'intensité relative des bandes.

[Fin du document]