



TC-EDC/Jan15/15  
ORIGINAL : anglais  
DATE : 27 août 2014

**UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES**  
Genève

**COMITE DE RÉDACTION ÉLARGI**

**Genève, 7 et 8 janvier 2015**

REVISION PARTIELLE DES PRINCIPES DIRECTEURS D'EXAMEN DU HARICOT  
(DOCUMENT TG/12/9 REV.)

*Document établi par le Bureau de l'Union*

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

1. À sa quarante-huitième session, tenue à Paestum (Italie) du 23 au 27 juin 2014, le Groupe de travail technique sur les plantes potagères (TWV) a examiné une révision partielle des principes directeurs d'examen du haricot sur la base des documents TG/12/9 Rev. et TWV/48/29 "*Partial Revision of the Test Guidelines for French Bean (Document TG/12/9 Rev.)*" et proposé de réviser comme suit les principes directeurs d'examen du haricot (voir le paragraphe 97 du document TWV/48/43 "*Report*") :
  - a) proposition de révision des caractères 69 à 76;
  - b) proposition visant à inclure un format révisé pour les caractères de résistance aux maladies sous le chapitre 8.2.
2. Les révisions proposées sont présentées dans l'annexe du présent document.

[L'annexe suit]

## ANNEXE

Proposition de révision des caractères 69 à 76*Libellé actuel :*

49. (+)	Resistance to Bean anthracnose ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )	Résistance à l'anthracnose du Haricot ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )	Resistenz gegen Brennfleckenkrankheit ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )	Resistencia a la antracnosis de la judía ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )		
49.1 (*)	VS/ VG	Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6	
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, Masaï, Michelet	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9
49.2	VS/ VG	Race Kappa	Pathotype Kappa	Pathotyp Kappa	Patotipo Kappa	
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, Masaï, Michelet	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9

*Nouveau libellé proposé :*

49. (+)	Resistance to Bean anthracnose ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )	Résistance à l'anthracnose du Haricot ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )	Resistenz gegen Brennfleckenkrankheit ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )	Resistencia a la antracnosis de la judía ( <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> )		
49.1 (*)	VS/ VG	Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6	
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, <u>Masai</u> , <u>Michelet à longue cosse</u>	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9
49.2	VS/ VG	Race Kappa	Pathotype Kappa	Pathotyp Kappa	Patotipo Kappa	
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Goldrush, <u>Masai</u> , <u>Michelet à longue cosse</u>	1
	present	présente	vorhanden	presente	Booster, Pastoral	9

Libellé actuel :

50. (*) (+)	VS/ VG	Resistance to Bean Common Mosaic Necrosis Virus (BCMNV)	Résistance au virus de la mosaïque nécrotique commune du Haricot (BCMNV)	Resistenz gegen Gewöhnliches nekrotisches Bohnenmosaikvirus (BCMNV)	Resistencia al virus del mosaico necrotico común de la judía (BCMNV)		
PQ		absent	absente	fehlend	ausente	Dufrix, Flandria	1
		present with necrosis	présente avec nécroses	vorhanden mit Nekrose	presente con necrosis	Booster, Odessa	2
		present without symptoms	présente sans symptômes	vorhanden ohne Symptome	presente sin síntomas	Bizet	3

Nouveau libellé proposé :

50. (*) (+)	VS/ VG	Resistance to <b>Bean</b> <b>common mosaic</b> <b>necrosis virus</b> (BCMNV)	Résistance au virus de la mosaïque nécrotique commune du Haricot (BCMNV)	Resistenz gegen Gewöhnliches nekrotisches Bohnenmosaikvirus (BCMNV)	Resistencia al virus del mosaico necrotico común de la judía (BCMNV)		
PQ		absent	absente	fehlend	ausente	Dufrix, Flandria	1
		present with necrosis	présente avec nécroses	vorhanden mit Nekrose	presente con necrosis	Booster, Odessa	2
		present without symptoms	présente sans symptômes	vorhanden ohne Symptome	presente sin síntomas	Bizet	3

Libellé actuel :

51. (+)	VS/ VG	Resistance to Halo Blight ( <i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> )	Résistance à la graisse à halo ( <i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> )	Resistenz gegen Fettfleckenkrankheit ( <i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> )	Resistencia a la grasa ( <i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> )		
		Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6		
QL		absent	absente	fehlend	ausente	Michelet (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Masai (D), Vaillant (D)	9

Nouveau libellé proposé :

51. (+)	VS/ VG	Resistance to <b><i>Pseudomonas</i></b> <b><i>savastanoi</i></b> pv. <b><i>phaseolicola</i></b>	Résistance à <b><i>Pseudomonas</i></b> <b><i>savastanoi</i></b> pv. <b><i>phaseolicola</i></b>	Resistenz gegen <b><i>Pseudomonas</i></b> <b><i>savastanoi</i></b> pv. <b><i>phaseolicola</i></b>	Resistencia a <b><i>Pseudomonas</i></b> <b><i>savastanoi</i></b> pv. <b><i>phaseolicola</i></b>		
		Race 6	Pathotype 6	Pathotyp 6	Patotipo 6		
QL		absent	absente	fehlend	ausente	<u>Michelet à longue cosse</u> (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Masai (D), Vaillant (D)	9

Libellé actuel :

52.	VG	Resistance to Common Blight ( <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> ), Isolate 422	Résistance à la graisse commune ( <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> ), Isolate 422	Resistenz gegen Bohnenbrand ( <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> ), Isolat 422	Resistencia a la grasa común ( <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> ), Isolate 422		
	QL	absent	absente	fehlend	ausente	Echo (D), Keygold (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Walley (US line) (D)	9

Nouveau libellé proposé :

52.	VG	Resistance to Common Blight ( <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> )	Résistance à la graisse commune ( <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> )	Resistenz gegen Bohnenbrand ( <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> )	Resistencia a la grasa común ( <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> )		
	QL	absent	absente	fehlend	ausente	Echo (D), Keygold (D)	1
		present	présente	vorhanden	presente	Walley (US line) (D)	9

Proposition visant à inclure un format révisé pour les caractères de résistance aux maladies

*Libellé actuel :*

Ad. 49 : Résistance à l'antracnose du Haricot (*Colletotrichum lindemuthianum*)

Maintien des pathotypes	Dans une éprouvette, sur de la gélose de glucose-peptone.
Prégermination du grain (quatre à cinq jours environ)	Au moins deux fois 10 grains sont placés à 20°C dans des boîtes de Pétri sur de la vermiculite humide. Après le début de la germination (lorsque la longueur de la racine est de 1 à 2 cm), le tégument est enlevé.
Inoculum et inoculation	Culture du champignon pendant 12 à 14 jours sur de la gélose de glucose-peptone dans des bouteilles en verre d'un litre. Prélèvement de l'inoculum au moyen d'un grattoir. Les grains germés sont immergés pendant deux minutes dans une suspension de spores de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , dont la concentration doit être de 1 million de spores par ml.
Semis :	Semis en pots dans du sable; le grain doit être recouvert d'une épaisseur de sable d'1 cm.
Culture des plantes :	Les pots sont placés dans une chambre climatisée à 20°C et reçoivent la lumière du jour pendant 16 heures. Un arrosage régulier est nécessaire; il n'y a pas d'exigences particulières en ce qui concerne l'humidité de l'air.
Observation :	Les symptômes sont visibles lors de la levée des plantes et jusqu'à 10 jours après. Les observations peuvent être faites au bout de 10 à 14 jours.
Mode d'observation :	<u>Résistance présente</u> : plantes saines ne présentant aucun symptôme, ou une légère réponse avec de petites nécroses superficielles ayant la forme de ponctuations ou de stries. <u>Résistance absente</u> : réponse moyenne avec jusqu'à cinq panaches nécrotiques sur la tige, ou forte réponse avec des nécroses profondes d'un diamètre supérieur à 3 mm, ou plantes mourantes avec importante formation de nécroses au moment de la levée ou ultérieurement.

Nouveau libellé proposé :

Ad. 49 : Résistance à l'antracnose du Haricot (*Colletotrichum lindemuthianum*)

1.	Agent pathogène	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (anthracnose)
2.	État de quarantaine	Non
3.	Espèce hôte	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Source de l'inoculum	GEVES (FR), Naktuinbouw (NL), INIA (ES)
5.	Isolat	6, Kappa
6.	Identification de l'isolat	Sur différentiels :

Ancienne dénominationm de pathotype :			-	(ne figure plus dans les principes directeurs d'examen) Lambda	Kappa
Dénomination du binaire pathotype :			6	55	31
<b>Différentiel</b>	Gène	Binaire			
A Michelite		1	R	S	S
B Michigan Dark Red Kidney	Co-1	2	S	S	S
C Perry Marrow	Co-1 <sup>3</sup>	4	S	S	S
D Cornell 49242	Co-2 (Are)	8	R	R	S
E Widusa	Co-1 <sup>5</sup>	16	R	S	S
F Kaboon	Co-1 <sup>2</sup>	32	R	S	R
G Mexico 222	Co-3	64	R	R	R
H PI 207262		128	R	R	R
I TO	Co-4	256	R	R	R
J TU	Co-5	512	R	R	R
K AB 136	Co-6	1024	R	R	R
L G 2333	Co-4-2/5/7	2048	R	R	R

7.	Détermination du pouvoir pathogène	Sur une variété sensible
8.	Multiplication de l'inoculum	
8.1	Milieu de multiplication	PDA (gélose dextrosée à la pomme de terre) ou Mathur (20-25°C)
8.2	Variété multipliée	-
8.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	Semences pour trempage Plantules de 5 jours pour pulvérisation
8.4	Milieu d'inoculation	-
8.5	Méthode d'inoculation	Trempage ou pulvérisation des plantules
8.6	Récolte de l'inoculum	Grattage des spores avec un grattoir sur des plaques de culture datant de 7 à 20 jours à une température de 20-25°C
8.7	Vérification de l'inoculum récolté	Compter les spores et ajuster à 10 <sup>6</sup> spores par ml
8.8	Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	Environ 4 heures Stockage à long terme des souches : -80° C dans une solution de glycérol à 20%
9.	Format de l'essai	
9.1	Nombre de plantes par génotype	Au moins 20 plantes
9.2	Nombre de répétitions	-

9.3	Variétés témoins	
	Sensibles :	Goldrush, Michelet à longue cosse, Masai
	Résistantes au pathotype 6 et au pathotype Lambda :	Booster, Pastoral
9.4	Protocole d'essai	-
9.5	Installation d'essai	Chambre climatisée
9.6	Température	20-22°C
9.7	Lumière	-
9.8	Saison	-
9.9	Mesures spéciales	Les plantes sont placées dans un environnement où l'humidité est élevée
10.	Inoculation	
10.1	Préparation de l'inoculum	Culture sur milieu PDA ou Mathur
10.2	Quantification de l'inoculum	Compter les spores et ajuster à 10 <sup>6</sup> spores par ml
10.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	Semences prégermées pour trempage Plantules de 5 jours pour pulvérisation
10.4	Méthode d'inoculation	L'une des deux méthodes suivantes peut être employée : - trempage des semences prégermées dans une suspension de spores pendant 2 minutes. Les semences sont plantées dans le sol après inoculation; - pulvérisation des cotylédons avec une suspension d'inoculum 5 jours après le semis
10.5	Première observation	7 jours après l'inoculation
10.6	Seconde observation	12 jours après l'inoculation
10.7	Observations finales	14 jours après l'inoculation
11.	Observations	
11.1	Méthode	Observation visuelle des symptômes
11.2	Échelle d'observation	0 : aucun symptôme 1 : légère réponse avec de petites nécroses superficielles (ponctuations ou stries) 2 : lésions nécrotiques d'un diamètre supérieur à 3 mm ou lésions nécrotiques profondes sur les hypocotyles ou les tiges 3 : plantes mourantes
11.3	Validation de l'essai	Les normes doivent permettre de faire apparaître les symptômes attendus
11.4	Hors-types	-
12.	Interprétation des données en termes de niveaux d'expression des caractères de l'UPOV	-
	Pour les semences à tremper :	Résistantes [9] : classe 0 et 1 Sensibles [1] : classe 2 et 3
	Pour les cotylédons à pulvériser :	Quelques taches de nécrose peuvent apparaître sur la tige et les cotylédons des variétés résistantes
13.	Points critiques de contrôle	Vérifier la pression de l'inoculation à l'aide d'une variété adaptée, par exemple Pastoral. Cette variété présente une résistance faible et peut donner une indication de l'agressivité de l'essai.

*Libellé actuel:*

Ad. 50 : Résistance au virus de la mosaïque nécrotique commune du Haricot (BCMNV)

Production de matériel infectieux

Nature du milieu :	Plante ou feuilles sèches
Conditions particulières :	Culture en serre (plantes) ou feuilles congelées
Identification :	Utilisation de la souche virale "NL 3"
<u>Conduite des essais</u>	
Stade de la plante :	Deux feuilles
Température :	20-25°C, puis, après inoculation, 30°C pendant 8 jours
Lumière :	Lumière naturelle, avec ombrage si nécessaire
Culture :	En serre
Type d'inoculation :	Mécanique, par frottement des feuilles après l'inoculum
<u>Durée des essais</u>	
- Du semis à l'inoculation :	8 à 9 jours
- De l'inoculation à l'observation :	6 à 21 jours
Nombre de plantes examinées :	60 (20 pots contenant 3 plantes chacun)

Description de la méthode

1) Obtention de l'inoculum.— La souche virale "NL 3" sert à examiner la résistance, étant donné qu'elle recouvre la quasi-totalité des groupes de souches de la mosaïque commune du haricot. Tout d'abord, des haricots nains de la variété "Dufrix" ou d'une autre variété extrêmement sensible au virus sont infectés, vers le début du printemps, par frottement avec le jus contenant le virus, extrait de la culture de conservation elle-même ou de feuilles lyophilisées fournies, par exemple, par l'Institut de biochimie et des maladies virales de l'Institut fédéral de biologie à Brunswick (souche "NL 3"). Les plantes infectées servent ensuite, environ deux mois plus tard, à produire le jus contenant le virus avec lequel les plantes examinées sont inoculées.

2) Inoculation.— Le jus extrait des plantes contenant le virus est dilué à raison approximativement d'une partie de jus pour deux parties d'eau avant inoculation. Après avoir enduit les deux feuilles de carborundum ou de diatomite, on les frotte avec une éponge ferme imbibée de la dilution. Environ 15 à 20 minutes plus tard, on les rince à l'eau (versée en pluie fine au moyen d'un arrosoir).

3) Incubation.— Après l'inoculation, la température de l'air dans la serre doit être maintenue à 30° C pendant au moins une semaine. (Important : il importe que la température soit constante aussi bien au cours de la journée que de la nuit.) Trois à quatre jours plus tard, les premières lésions peuvent déjà apparaître. Dès la première semaine suivant l'inoculation, une nécrose apicale se manifestera. Les variétés sans tolérance présentent les symptômes types de la mosaïque au bout de deux semaines environ. Les observations finales peuvent être faites dans les trois semaines qui suivent l'inoculation.

4) Observation : La première observation est effectuée le sixième jour suivant le jour de l'inoculation. Les symptômes de la mosaïque et ceux du "blackrott" peuvent être distingués comme suit :

i) Symptômes de la mosaïque : décoloration des feuilles; mosaïque de couleurs vert clair et vert foncé; cloûres des parties de couleur vert foncé entre les nervures; bandes chlorotiques étroites le long des nervures et enroulement du bord de la feuille. Divers symptômes peuvent apparaître à des niveaux d'expression divers. Les symptômes de la mosaïque peuvent être enregistrés sur l'échelle de 1 à 9 pour évaluer la réaction de la variété candidate (1 = pas de symptôme, 9 = niveau d'expression le plus élevé). Si une variété candidate ne montre aucun symptôme de la mosaïque, tandis que les variétés témoins susceptibles le font, ladite variété candidate doit être considérée comme résistante à la mosaïque.

ii) Symptômes du blackroot : on distingue deux types de nécrose (en particulier si l'on utilise la souche "NL3") à classer sous "blackroot."



La nécrose locale (l'hypersensibilité locale) : caractérisée par des réseaux nécrotiques bruns (les nervures) localisés sur une partie du limbe;

La nécrose systématique (la nécrose apicale) : caractérisée par le développement rapide de la nécrose partout le long de la tige, du pétiole et des racines, provoquant la nécrose apicale ou la nécrose complète de la plante. Le faisceau vasculaire de la tige, le pétiole et finalement les racines, si inoculés au stade de la plante jeune, deviennent bruns, d'où le terme de "blackroot".

Les variétés ou les lignes qui présentent les symptômes du "blackroot" (hypersensibilité locale ou nécrose apicale) s'avèrent généralement résistantes à la mosaïque en plein champ.

Au cours de l'examen de la résistance, la plupart des lésions locales se transforment en nécrose apicale.

Remarque :

Les mécanismes génétiques de la résistance au virus de la mosaïque commune du Haricot (BCMV) et/ou au blackroot sont basés sur plusieurs gènes récessifs aspécifiques et spécifiques dont certains sont alléliques. Drijfhout a trouvé au moins 4 gènes, à savoir :

bc-u  
bc-1/bc-1<sup>2</sup>  
bc-2/bc-2<sup>2</sup>  
and bc-3.

Le gène de la nécrose dominant "I" interfère avec les gènes de résistance mentionnés ci-dessus. La forme recessive 'I+' en combinaison avec bc-3 et bc-2<sup>2</sup> donne une résistance complète au BCMV et au blackroot (variété exemple : Great Northern 31).

(Pour plus de détails, voir Drijfhout (1978))

Nouveau libellé proposé:

Ad. 50 : Résistance au virus de la mosaïque nécrotique commune du Haricot (BCMNV)

1.	Agent pathogène	Virus de la mosaïque nécrotique commune du Haricot (BCMNV)
2.	État de quarantaine	Non
3.	Espèce hôte	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Source de l'inoculum	GEVES (FR), Naktuinbouw (NL), INIA (ES)
5.	Isolat	NL3 ou NL5 (groupe pathogène VI)
6.	Identification de l'isolat	Sur les différentiels Widusa et Top Crop; Widusa (I) doit présenter une nécrose apicale ou une nécrose des nervures; Top Crop (bc-1, I) doit présenter uniquement une nécrose locale
7.	Détermination du pouvoir pathogène	Sur une variété sensible
8.	Multiplication de l'inoculum	
8.1	Milieu de multiplication	-
8.2	Variété multipliée	Dufrix ou Flandria
8.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	Première feuille déployée (8-12 jours)
8.4	Milieu d'inoculation	PBS (soluté salin tamponné aux phosphates) et carborundum
8.5	Méthode d'inoculation	Frottement
8.6	Récolte de l'inoculum	Prélever des feuilles atteintes de la mosaïque ou des feuilles enroulées 14 jours après l'inoculation sur la variété sensible
8.7	Vérification de l'inoculum récolté	-
8.8	Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	Très longue sur des feuilles sèches ou lyophilisées
9.	Format de l'essai	
9.1	Nombre de plantes par génotype	20
9.2	Nombre de répétitions	2
9.3	Variétés témoins	
	Sensibles :	Dufrix, Flandria
	Résistantes avec nécrose :	Booster, Odessa
	Résistante sans nécrose:	Bizet
9.4	Protocole d'essai	Serre ou chambre climatisée
9.5	Installation d'essai	Serre
9.6	Température	Initiale 5 à 7 jours après l'inoculation : 25°C le jour et 18°C la nuit ou 30° C jour et nuit Après 5 à 7 jours : 25° C jour et nuit
9.7	Lumière	Voir 13.
9.8	Saison	-
9.9	Mesures spéciales	Rincer les feuilles après l'inoculation pour limiter l'effet du carborundum
10.	Inoculation	
10.1	Préparation de l'inoculum	Macération dans du PBS
10.2	Quantification de l'inoculum	-
10.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	Première feuille déployée (8 à 12 jours après le semis)
10.4	Méthode d'inoculation	Frottement
10.5	Première observation	6 jours après l'inoculation
10.6	Seconde observation	9 jours après l'inoculation
10.7	Observations finales	14 jours après l'inoculation
11.	Observations	

11.1	Méthode	Observation visuelle
11.2	Échelle d'observation	1 : mosaïque ou enrroulement des feuilles 2 : nécrose apicale, nécrose des nervures ou petites lésions nécrotiques 3 : aucun symptôme
11.3	Validation de l'essai	Les normes doivent permettre de faire apparaître les symptômes attendus
11.4	Hors-types	-
12.	Interprétation des données en termes de niveaux d'expression des caractères de l'UPOV	Ranger dans les trois classes correspondantes à l'aide de l'échelle d'observation : 1 : résistante absente 2 : résistante présente avec nécrose 3 : résistante présente sans nécrose
13.	Points critiques de contrôle	Expression de symptômes selon la température sur certaines variétés, nécrose augmentant avec la température. La lumière peut aussi accélérer l'apparition des symptômes.

*Libellé actuel*

Ad. 51 : Résistance à la graisse à halo (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*)

Maintien des souches

Nature du milieu :

Feuilles sèches infectées

Conditions particulières :

Des essais préliminaires ont montré que les souches européennes – qui appartiennent probablement à la race africaine (J.D. Taylor, H.R.I. Wellesbourne) – présentent une virulence plus élevée que la race 1 et la race 2 des États-Unis d'Amérique. L'agressivité des pathogènes est mesurée par la taille des taches apparaissant sur les gousses de la variété sensible. Les isolats employés pour l'examen doivent produire des taches de 3 mm au minimum

Réalisation du test

Nature du milieu :

Lorsque les première et deuxième feuilles trifoliolées ont atteint une longueur de 2 à 3 cm

Température :

Jour : 24°C; nuit : 18°C

Humidité :

100% d'humidité relative jusqu'à ce que les feuilles infectées aient atteint leur complet développement

Méthode de culture :

En serre

Inoculum :

Suspension avec une concentration de  $10^8$  cellules bactériennes/ml

Mode d'inoculation :

Mécanique, à l'aide d'un pinceau à poils de chameau

Durée de l'examen

– inoculation – lecture :

Jusqu'à ce que les feuilles infectées aient atteint leur complet développement

Nombre de plantes étudiées :

10 à 20 plantes

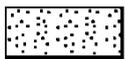
Multiplication des bactéries :

Bouillon d'agar (2 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 2 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 3 g NaCl, 25 g bouillon d'agar/1000 ml d'eau distillée)

Remarques :

– La réaction sur feuilles est aujourd'hui très couramment étudiée. La réaction sur gousses est de type polygénique, et il n'existe aucune liaison génétique entre la réaction sur feuilles et celle sur gousses. Il n'existe à ce jour aucune variété présentant une résistance sur gousses  
– "Résistance" signifie que cet hôte possède le gène récessif sans ou avec des modificateurs; au cas où des modificateurs sont présents, les sources de ces gènes sont : PI 150 414 (USA), CNRA-HW5A (Fr.)  
– Il est possible d'évaluer les lésions sur feuilles à complet développement. Les différents types de symptômes sont indiqués ci-après

Légende de l'illustration ci-après



tissu sain



tissu chlorotique toxique



lésion imbibée d'eau sans décoloration



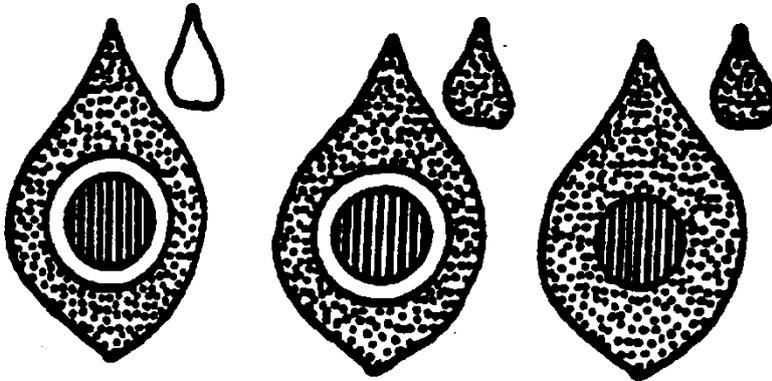
lésion imbibée d'eau avec décoloration



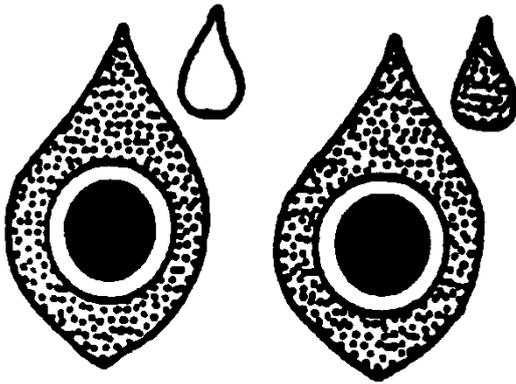
présence de quelques taches brun rougeâtre, d'hypersensibilité nécrotique de la taille d'une cellule

Schéma d'observation

Résistance absente

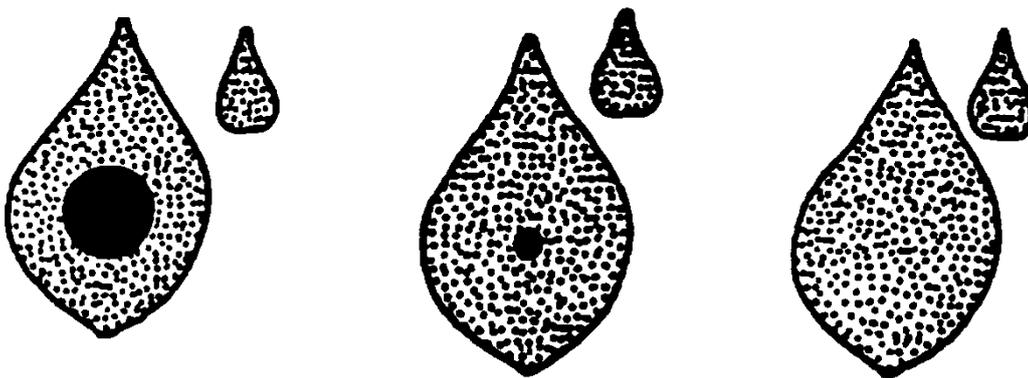


lésion imbibée d'eau avec auréole chlorotique toxique, chlorose systémique;  
lésion imbibée d'eau avec auréole, pas de chlorose systémique;  
lésion imbibée d'eau sans auréole, pas de chlorose systémique



décoloration des lésions imbibées d'eau avec auréole, chlorose systémique;  
décoloration des lésions imbibées d'eau avec auréole, pas de chlorose systémique

Résistance présente



taches nécrotiques de 1 à 2 mm de diamètre, pas de chlorose systémique ou présence de quelques taches d'hypersensibilité nécrotique brun rougeâtre, de la taille d'une cellule ou sujet sain, non infecté

Nouveau libellé proposé :

Ad. 51 : Résistance à *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*

1.	Agent pathogène	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i>
2.	État de quarantaine	Non
3.	Espèce hôte	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Source de l'inoculum	GEVES (FR), Naktuinbouw (NL), HRI (GB), INIA (ES)
5.	Isolat	Pathotype 6
6.	Identification de l'isolat	Tous les différentiels devraient être sensibles (Canadian Wonder, A52, Red Mexican UI3, Mesunka, A53, A43, Guatemala 196-B)
7.	Détermination du pouvoir pathogène	Sur une variété sensible
8.	Multiplication de l'inoculum	
8.1	Milieu de multiplication	King B ou gélose dextrosée à la levure à 27°C
8.2	Variété multipliée	-
8.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	Première feuille (9 à 14 jours après le semis)
8.4	Milieu d'inoculation	Eau de robinet ou solution saline (0,85% NaCl)
8.5	Méthode d'inoculation	-
8.6	Récolte de l'inoculum	4 jours après le lancement de la culture pure
8.7	Vérification de l'inoculum récolté	-
8.8	Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	Le nombre de sous-cultures avant l'inoculation ne doit pas excéder 2 et l'inoculation doit être faite dans les 2 ou 3 jours.
9.	Format de l'essai	
9.1	Nombre de plantes par génotype	20
9.2	Nombre de répétitions	2
9.3	Variétés témoins	
	Sensible	Michelet à longue cosse
	Résistantes	Masai, Vaillant
9.4	Protocole d'essai	-
9.5	Installation d'essai	Serre ou chambre climatisée
9.6	Température	20/22°C jour/nuit ou 20°C jour et nuit
9.7	Lumière	-
9.8	Saison	-
9.9	Mesures spéciales	Humidité élevée nécessaire durant les 1 à 3 premiers jours après l'inoculation
10.	Inoculation	
10.1	Préparation de l'inoculum	Rincer les bactéries de la plaque à l'eau de robinet et ajouter 2 g de carborundum pour 100 ml ou rincer les bactéries avec une solution saline (0,85% NaCl).
10.2	Quantification de l'inoculum	10 <sup>8</sup> cfu/ ml ou 1 à 2 plaques pleinement développées pour 100 ml d'eau pour 100 plantes
10.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	Première paire de feuilles de déployant (9 à 14 jours après le semis)
10.4	Méthode d'inoculation	Frotter avec une éponge ou inoculation en pulvérisant les feuilles avec pression (2 bars) jusqu'à ruissellement. Plusieurs types d'équipements peuvent être utilisés à cet effet : vaporisateur ou pinceau avec pression.
10.5	Première observation	7 jours après l'inoculation
10.6	Seconde observation	14 jours après l'inoculation
10.7	Observations finales	-
11.	Observations	

11.1	Méthode	Observation visuelle
11.2	Échelle d'observation	
	Résistantes [9]	Aucun symptôme ni point nécrotique
	Sensibles [1]	Auréole de lumière vert clair autour des minuscules lésions Lésions imbibées d'eau ("huileuses") (peu nombreuses ou nombreuses) Lésions imbibées d'eau devenant ultérieurement nécrotiques Déformation et chlorose des premières feuilles trifoliées Nécrose des tiges Plantes mourantes
11.3	Validation de l'essai	Les normes doivent faire apparaître les symptômes attendus
11.4	Hors-types	-
12.	Interprétation des données en termes de niveaux d'expression des caractères de l'UPOV	11.2
13.	Points critiques de contrôle	L'inoculation doit altérer les plantes sensibles et résistantes. Maintien de l'isolat : attention, la colonie peut mourir après 3 semaines sur une plaque.

*Libellé actuel :*

Ad. 52 : Résistance à la graisse commune (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*), Isolate 422

Maintien des souches

Nature du milieu :

Feuilles sèches infectées

Réalisation du test

Stade des plantes :

Lorsque les première et deuxième feuilles trifoliolées ont une longueur de 2 à 3 cm

Température :

Jour : 26°C; nuit : 20°C

Humidité :

100% d'humidité relative au moment de l'inoculation ainsi qu'un à deux jours après, ensuite humidité relative normale

Méthode de culture :

En serre

Inoculum :

Suspension avec une concentration de  $10^8$  cellules bactériennes/ml

Mode d'inoculation :

Mécanique, à l'aide d'un pinceau à poils de chameau

Durée de l'examen

– inoculation – lecture :

Jusqu'à ce que les feuilles infectées aient atteint leur complet développement

Nombre de plantes étudiées :

10 à 20 plantes

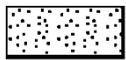
Multiplication des bactéries :

20 g d'extrait de poudre de levure, 20 g de glucose, 20 g CaCO<sub>3</sub>, 20 g d'agar-d'agar/1000 ml d'eau distillée

Remarques :

– Isolate 422 peut être obtenu au Vegetable Research Institute, 1775 Budapest, P.O. Box 95, Hongrie.  
– La réaction sur gousses à *X. phaseoli* n'a pas encore été assez clairement établie

Légende de l'illustration ci-après



su sain



tissu chlorotique



(2) tissu dégénéréscnt



(3) présence de quelques taches brun rougeâtre d'hypersensibilité nécrotique de la taille d'une cellule



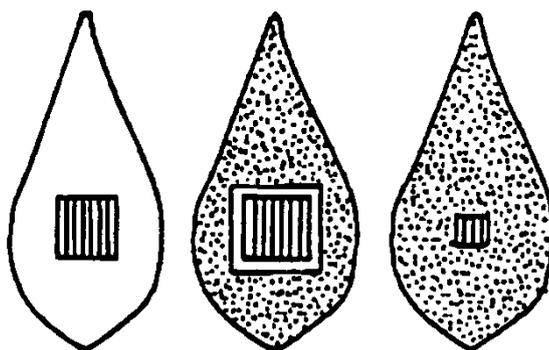
Schéma d'observation

Si des tissus chlorotiques (1) et/ou des tissus dégénérés (2) sont observés, la variété doit être considérée comme non résistante.

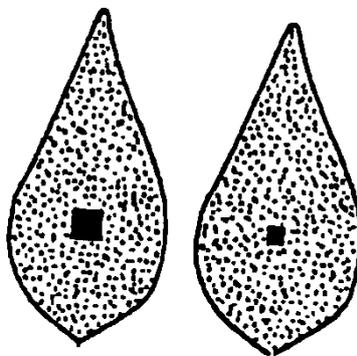
S'il n'y a que quelques taches brun rougeâtre d'hypersensibilité nécrotique de la taille d'une cellule (3), la variété doit être considérée comme résistante.

Combinaisons possibles des symptômes

Résistance absente



Résistance présente



Nouveau libellé proposé :

Ad. 52 : Résistance à la graisse commune (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*)

1.	Agent pathogène	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> (graisse commune)
2.	État de quarantaine	Oui
3.	Espèce hôte	<i>Phaseolus vulgaris</i>
4.	Source de l'inoculum	Vegetable Research Institute, Budapest (HU)
5.	Isolat	Isolat 422
6.	Identification de l'isolat	-
7.	Détermination du pouvoir pathogène	-
8.	Multiplication de l'inoculum	
8.1	Milieu de multiplication	Gélose dextrosée à la levure (20 g de poudre d'extrait de levure, 20 g de glucose, 20 g CaCO <sub>3</sub> , 20 g d'agar/1000 ml d'eau distillée)
8.2	Variété multipliée	-
8.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	Première paire de feuilles de 2 à 3 cm de long
8.4	Milieu d'inoculation	-
8.5	Méthode d'inoculation	Humidité relative de 100% durant 2 jours après l'inoculation, puis humidité normale
8.6	Récolte de l'inoculum	-
8.7	Vérification de l'inoculum récolté	-
8.8	Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	-
9.	Format de l'essai	
9.1	Nombre de plantes par génotype	-
9.2	Nombre de répétitions	-
9.3	Variétés témoins	-
9.4	Protocole d'essai	-
9.5	Installation d'essai	
9.6	Température	26/20°C jour/nuit ou 28/25°C jour/nuit
9.7	Lumière	-
9.8	Saison	-
9.9	Mesures spéciales	Humidité relative de 100% durant 2 jours après l'inoculation, puis humidité normale
10.	Inoculation	
10.1	Préparation de l'inoculum	-
10.2	Quantification de l'inoculum	10 <sup>8</sup> cfu/ml
10.3	Stade de la plante lors de l'inoculation	-
10.4	Méthode d'inoculation	Mécanique, à l'aide d'un pinceau à poils de chameau, ou inoculation en pulvérisant les feuilles avec pression (2 bars) jusqu'à ruissellement. Plusieurs types d'équipements peuvent être utilisés à cet effet : vaporisateur ou pinceau avec pression.
10.5	Première observation	7 jours après l'inoculation
10.6	Seconde observation	14 jours après l'inoculation
10.7	Observations finales	Lorsque les feuilles infectées ont atteint leur complet développement
11.	Observation	
11.1	Méthode	-
11.2	Échelle d'observation	Visuelle

	Sensibles [1]	Nécrose étendue parfois entourée d'un cercle de plus en plus grand de tissu chlorotique
	Résistantes [9]	Taches nécrotiques brunâtres ou rouges de la taille d'une cellule
11.3	Validation de l'essai	-
11.4	Hors-types	-
12.	Interprétation des données en termes de niveaux d'expression des caractères de l'UPOV	11.2
13.	Points critiques de contrôle	-

[Fin de l'annexe et du document]