



TG/19/11(proj.3)
ORIGINAL : English
DATE : 2018-02-15

UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES

Genève

PROJET

ORGE

UPOV Code(s):
HORDE_VUL

Hordeum vulgare L. sensu lato

PRINCIPES DIRECTEURS

POUR LA CONDUITE DE L'EXAMEN

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

*établis par un expert de l'Allemagne
pour examen par le
Comité de rédaction élargi à sa réunion,
qui se tiendra à Genève les 26 et 27 mars 2018*

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

Autres noms communs :*

<i>Nom botanique</i>	<i>anglais</i>	<i>français</i>	<i>allemand</i>	<i>espagnol</i>
<i>Hordeum vulgare L. sensu lato</i>	Barley	Orge	Gerste	Cebada

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.....	<u>4</u>
2. MATERIEL REQUIS.....	<u>4</u>
3. METHODE D'EXAMEN.....	<u>5</u>
3.1 Nombre de cycles de végétation.....	<u>5</u>
3.2 Lieu des essais.....	<u>5</u>
3.3 Conditions relatives à la conduite de l'examen.....	<u>5</u>
3.4 Protocole d'essai.....	<u>5</u>
3.5 Essais supplémentaires.....	<u>5</u>
4. EXAMEN DE LA DISTINCTION, DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE.....	<u>6</u>
4.1 Distinction.....	<u>6</u>
4.2 Homogénéité.....	<u>7</u>
4.3 Stabilité.....	<u>8</u>
5. GROUPEMENT DES VARIETES ET ORGANISATION DES ESSAIS EN CULTURE.....	<u>9</u>
6. INTRODUCTION DU TABLEAU DES CARACTERES.....	<u>10</u>
6.1 Catégories de caractères.....	<u>10</u>
6.2 Niveaux d'expression et notes correspondantes.....	<u>10</u>
6.3 Types d'expression.....	<u>10</u>
6.4 Variétés indiquées à titre d'exemples.....	<u>11</u>
6.5 Légende.....	<u>12</u>
7. TABLE OF CHARACTERISTICS/TABLEAU DES CARACTÈRES/MERKMALSTABELLE/TABLA DE CARACTERES.....	<u>13</u>
8. EXPLICATIONS DU TABLEAU DES CARACTERES.....	<u>22</u>
8.1 Explications portant sur certains caractères.....	<u>22</u>
9. BIBLIOGRAPHIE.....	<u>22</u>
10. QUESTIONNAIRE TECHNIQUE.....	<u>34</u>

ANNEXE EXPLICATIONS UTILES ADDITIONNELLES

1. Objet de ces principes directeurs d'examen

Ces principes directeurs d'examen s'appliquent à toutes les variétés de *Hordeum vulgare* L. *sensu lato*.

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 et épis (si demandé).

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

Semences : 3 kg
Épis : 120

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.

Les épis doivent être bien développés et contenir un nombre suffisant de semences viables pour l'établissement d'une ligne de plantes permettant d'effectuer les observations.

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*

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

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.

3.4 *Protocole d'essai*

- 3.4.1 Chaque essai doit être conçu de manière à porter au total sur 2000 plantes au moins, qui doivent être réparties en deux répétitions au moins.
- 3.4.2 L'évaluation du caractère "Type de développement" doit être réalisée sur 300 plantes au moins.
- 3.4.3 Si des essais avec épis-lignes sont réalisés, au moins 100 épis-lignes doivent être observés.
- 3.4.4 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 10 plantes ou des parties prélevées sur chacune de ces 10 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.

Dans le cas d'observations portant sur des parties de plantes isolées, le nombre de parties à prélever sur chacune des plantes est de 1.

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 autogames et des variétés hybrides. 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 hybrides doit être déterminée en fonction de la catégorie d'hybride et conformément aux recommandations sur les variétés hybrides figurant dans l'introduction générale.
- 4.2.4 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.
- 4.2.5 La taille de l'échantillon recommandée pour la détermination de l'homogénéité est indiquée par le code suivant dans le tableau des caractères :
- A : échantillon de 100 plantes ou parties de plantes ou épis-lignes
B : échantillon de 2000 plantes
- 4.2.6 Pour l'évaluation de l'homogénéité, dans le cas d'un échantillon de 2000 plantes, il faut appliquer les normes suivantes
- Pour des variétés autogames, il faut appliquer une norme de population de 0,1% et une probabilité d'acceptation d'au moins 95%. Dans le cas d'un échantillon de 2000 plantes, cinq plantes hors-type sont tolérées.
- Pour des lignées mâles stériles, il faut appliquer une norme de population de 0,2% et une probabilité d'acceptation d'au moins 95%. Dans le cas d'un échantillon de 2000 plantes, huit plantes hors-type sont tolérées.
- Pour des hybrides simples mâles stériles utilisés comme parents dans un hybride trois voies, il faut appliquer une norme de population de 0,5% et une probabilité d'acceptation d'au moins 95%. Dans le cas d'un échantillon de 2000 plantes, 15 plantes hors-type sont tolérées.
- 4.2.7 Pour l'évaluation de l'homogénéité, dans le cas d'un échantillon 100 épis-lignes, plantes ou parties de plantes, il faut appliquer une norme de population de 1% et une probabilité d'acceptation d'au moins 95%. Dans le cas d'un échantillon de 100 épis-lignes, plantes ou parties de plantes, trois plantes hors-type sont tolérées. Un épi-ligne est considéré comme hors-type si l'on compte plus d'une plante hors-type dans cet épi-ligne.
- 4.2.8 Pour les caractères "A", à l'exception du caractère 1, l'évaluation de l'homogénéité peut être faite en deux étapes. Lors de la première étape, 20 plantes sont observées. Si aucune plante hors-type n'est observée, la variété est considérée comme homogène. Si plus de trois plantes hors-type sont observées, la variété est considérée comme non homogène. Si une à trois plantes hors-type sont observées, un échantillon supplémentaire de 80 plantes ou parties de plantes doit être observé.
- 4.2.9 Pour l'évaluation de l'homogénéité des variétés hybrides, il faut appliquer une norme de population de 10% et une probabilité d'acceptation d'au moins 95%. Pour les caractères indiqués par B, la taille de l'échantillon pour la détermination de l'homogénéité peut être ramenée à 200 plantes. Dans le cas d'un échantillon de 200 plantes, 27 plantes hors-type sont tolérées. Dans le cas d'un échantillon de 100 épis-lignes, plantes ou parties de plantes, 15 plantes hors-type sont tolérées.

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) Feuilles de la base : pilosité de la gaine (caractère 4)
- (b) Épi : nombre de lignes (caractère 14)
- (c) Épi : développement d'épillets stériles (caractère 15)
- (d) Grain : type de pilosité de la baguette (caractère 24)
- (e) Grain : type (caractère 26)
- (f) Grain : pilosité du sillon (caractère 27)
- (g) Type de développement (caractère 28)

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 Dans le cas de caractères qualitatifs et pseudo qualitatifs (voir le chapitre 6.3), tous les niveaux d'expression pertinents sont présentés dans le caractère. Toutefois, dans le cas de caractères quantitatifs ayant cinq niveaux ou davantage, une échelle abrégée peut être utilisée afin de réduire

la taille du tableau des caractères. Par exemple, dans le cas d'un caractère quantitatif comprenant neuf niveaux d'expression, la présentation des niveaux d'expression dans les principes directeurs d'examen peut être abrégée de la manière suivante :

<i>Niveau</i>	<i>Note</i>
petit	3
moyen	5
grand	7

Toutefois, il convient de noter que les neuf niveaux d'expression ci-après existent pour décrire les variétés et qu'ils doivent être utilisés selon que de besoin :

<i>Niveau</i>	<i>Note</i>
très petit	1
très petit à petit	2
petit	3
petit à moyen	4
moyen	5
moyen à grand	6
grand	7
grand à très grand	8
très grand	9

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.

Les variétés indiquées sont les suivantes :

- (S) - orge de printemps
- (W) - orge d'hiver.

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 8.1
- 6 non applicable
- 7 Échelle des stades de croissance Voir l'explication du tableau des caractères au chapitre 8.

A : échantillon de 100 plantes ou parties de plantes ou épis-lignes
 B : échantillon de 2000 plantes

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

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1.	PQ	VG A		00			
	Kernel: color of aleurone layer		Grain nu : couleur de la couche d'aleurone	Nacktes Korn: Farbe der Aleuronschicht	Núcleo carnosos: color de la capa de aleurona		
	whitish		blanchâtre	weißlich	blanquecina	(S) Grace, (W) California	1
	light grey blue		bleu gris clair	helles Graublau	azul grisáceo claro	(S) Henley, (W) SY Leoo	2
	dark grey blue		bleu gris foncé	dunkles Graublau	azul grisáceo oscuro	(S) ---, (W) Saffron	3
	purple		violet	purpurn	púrpura		4
	black		noir	schwarz	negro		5
2. (*)	QN	VG B	(+)	25-29			
	Plant: growth habit		Plante : port	Pflanze: Wuchsform	Planta: hábito de crecimiento		
	erect		dressé	aufrecht	erguido	(S) ---, (W) ---	1
	semi-erect		demi-dressé	halbaufrecht	semi erguido	(S) Pirona, (W) ---	3
	intermediate		intermédiaire	mittel	medio	(S) Grace, (W) California	5
	semi-prostate		demi-étalé	halb liegend	semipostrado	(S) Quench, (W) KWS Joy	7
	prostate		étalé	liegend	postrado	(S) ---, (W) ---	9
3.	QN	VG B		25-29			
	Plant: intensity of green color		Plante : intensité de la couleur verte	Pflanze: Intensität der Grünfärbung	Planta: intensidad del color verde		
	weak		faible	gering	débil	(S) ---, (W) Lomerit	1
	medium		moyenne	mittel	medio	(S) Conchita, (W) Henriette	2
	strong		forte	stark	oscuro	(S) Quench, (W) KWS Meridian	3

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
4.	(*) QL VG A		25-29			
	Lowest leaves: hairiness of leaf sheath	Feuilles de la base : pilosité de la gaine	Basalblätter: Behaarung der Blattscheide	Hojas inferiores: vellosidad de la vaina de las hojas		
	absent	absente	fehlend	ausente	(S) Grace, (W) California	1
	present	présente	vorhanden	presente	(S) ---, (W) Henriette	9
5.	(*) QN VG B		45-49			
	Flag leaf: anthocyanin coloration of auricles	Dernière feuille : pigmentation anthocyanique des oreillettes	Fahnenblatt: Anthocyanfärbung der Auricula	Hoja bandera: pigmentación antociánica de las aurículas		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	(S) ---, (W) California	1
	weak	faible	gering	débil	(S) Pirona, (W) ---	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Conchita, (W) SY Leoo	5
	strong	forte	stark	fuerte	(S) Grace, (W) Semper	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	(S) ---, (W) Meseta	9
6.	QN VG B	(+)	49-51			
	Flag leaf: attitude	Dernière feuille : port	Fahnenblatt: Haltung	Hoja bandera: porte		
	erect	dressé	aufrecht	erecto	(S) ---, (W) Hobbit	1
	semi-erect	demi-dressé	halbaufrecht	semierecto	(S) Natasia, (W) California	3
	horizontal	horizontal	waagerecht	horizontal	(S) Quench, (W) Saffron	5
	semi-drooping	demi-retombant	halbüberhängend	semicolgante	(S) Arcadia, (W) Matros	7
	drooping	retombant	überhängend	colgante	(S) ---, (W) Augusta	9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
7. (*)	QN	MG B	(+)			
	Time of ear emergence	Époque d'épiaison	Zeitpunkt des Ährenschiebens	Época de espigado		
	very early	très précoce	sehr früh	muy precoz	(S) ---, (W) ---	1
	early	précoce	früh	precoz	(S) Lilly, (W) Meseta	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Natasia, (W) California	5
	late	tardive	spät	tardía	(S) ---, (W) Saffron	7
	very late	très tardive	sehr spät	muy tardía	(S) ---, (W) ---	9
8.	QN	VG B		50-60		
	Flag leaf: glaucosity of sheath	Dernière feuille : glaucescence de la gaine	Fahnenblatt: Bereifung der Blattscheide	Hoja bandera: glaucescencia de la vaina		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	(S) ---, (W) ---	1
	weak	faible	gering	débil	(S) ---, (W) Barbara	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Pirona, (W) Saffron	5
	strong	forte	stark	fuerte	(S) Grace, (W) California	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	(S) ---, (W) Henriette	9
9. (*)	QN	VG B		60-65		
	Awns: anthocyanin coloration of tips	Barbes : pigmentation anthocyanique des pointes	Grannen: Anthocyanfärbung der Spitzen	Aristas: pigmentación antociánica de las puntas		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	(S) ---, (W) California	1
	weak	faible	gering	débil	(S) Pirona, (W) Lomerit	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Ebson, (W) Marielle	5
	strong	forte	stark	fuerte	(S) Grace, (W) Semper	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	(S) Wilma, (W) ---	9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
10. (*)	QN	VG B			65-75	
	Ear: glaucosity	Épi : glaucescence	Ähre: Bereifung	Espiga: glaucescencia		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	(S) Sunshine, (W) Henriette	1
	weak	faible	gering	débil	(S) Michelle, (W) Matros	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Arcadia, (W) Semper	5
	strong	forte	stark	fuerte	(S) Natasia, (W) KWS Meridian	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	(S) ---, (W) ---	9
11.	QN	VG B	(+)		70-80	
	Ear: attitude	Épi : port	Ähre: Haltung	Espiga: porte		
	erect	dressé	aufrecht	erecta	(S) ---, (W) ---	1
	semi-erect	demi-dressé	halbaufrecht	semierecta	(S) Quench, (W) KWS Meridian	3
	horizontal	horizontal	waagerecht	horizontal	(S) Grace, (W) Saffron	5
	semi-drooping	demi-retombant	halbüberhängend	semicolgante	(S) Ingmar, (W) Augusta	7
	drooping	retombant	überhängend	colgante	(S) ---, (W) ---	9
12.	QN	VG B			80-85	
	Grain: anthocyanin coloration of nerves of lemma	Grain : pigmentation anthocyanique des nervures de la glumelle inférieure	Korn: Anthocyanfärbung der Nerven der Deckspelze	Grano: pigmentación antocianica de la nervadura de la lema		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	(S) ---, (W) California	1
	weak	faible	gering	débil	(S) Chamonix, (W) Hobbit	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Quench, (W) Marielle	5
	strong	forte	stark	fuerte	(S) Grace, (W) Atenon	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	(S) ---, (W) Matros	9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
13. (*)	QN MG B	(+)	80-92			
	Plant: length	Plante : longueur	Pflanze: Länge	Planta: longitud		
	very short	très courte	sehr kurz	muy corta	(S) ---, (W) ---	1
	short	courte	kurz	corta	(S) Frontier, (W) Findora	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Quench, (W) Henriette	5
	long	longue	lang	larga	(S) Pirona, (W) Semper	7
	very long	très longue	sehr lang	muy larga	(S) ---, (W) ---	9
14. (*)	QL VG B		80-92			
	Ear: number of rows	Épi : nombre de lignes	Ähre: Anzahl der Reihen	Espiga: número de hileras		
	two	deux	zwei	dos	(S) Grace, (W) California	1
	six	six	sechs	seis	(S) Olsok, (W) Henriette	2
15. (*)	QL VG B	(+)	80-92			
	Ear: development of sterile spikelets	Épi : développement d'épillets stériles	Ähre: Ausbildung steriler Ährchen	Espiga: desarrollo de las espiguillas estériles		
	none or rudimentary	aucun ou rudimentaires	keine oder rudimentär	ninguno o rudimentario	(S) Grace, (W) California	1
	full	nombreux	vollständig	pleno	(S) Quench, (W) Casanova	2
16. (*)	QN VG B	(+)	80-92			
	Sterile spikelet: attitude	Épillets stériles : port	Steriles Ährchen: Haltung	Espiguilla estéril: porte		
	parallel	parallèle	parallel	paralelas	(S) Pirona, (W) California	1
	parallel to divergent	parallèle à divergent	parallel bis abstehend	paralelas a divergentes	(S) Henley, (W) KWS Joy	2
	divergent	divergent	abstehend	divergentes	(S) Quench, (W) Casanova	3

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
17. (*)	PQ	VG B	(+)		80-92			
	Ear: shape	Épi : forme	Ähre: Form	Espiga: forma				
	strongly tapering	fortement fuselé	stark pyramidenförmig	muy piramidal	(S) KWS Irina, (W) California			1
	slightly tapering	légèrement fuselé	leicht pyramidenförmig	ligeramente piramidal	(S) Arcadia, (W) Hobbit			2
	parallel	parallèle	parallel	paralela	(S) Natasia, (W) Semper			3
	fusiform	fusiforme	spindelförmig	fusiforme	(S) ---, (W) ---			4
18. (*)	QN	MS B VG B			80-92			
	Ear: density	Épi : densité	Ähre: Dichte	Espiga: densidad				
	very sparse	très lâche	sehr locker	muy laxa	(S) ---, (W) ---			1
	sparse	lâche	locker	laxa	(S) Ingmar, (W) Casanova			3
	medium	moyen	mittel	media	(S) Quench, (W) KWS Meridian			5
	dense	dense	dicht	densa	(S) Belgravia, (W) Findora			7
	very dense	très dense	sehr dicht	muy densa	(S) Mercada, (W) ---			9
19.	QN	MS B VG B	(+)		80-92			
	Ear: length	Épi : longueur	Granne: Länge	Espiga: longitud				
	very short	très court	sehr kurz	muy corta	(S) ---, (W) ---			1
	short	court	kurz	corta	(S) Mercada, (W) Champagne			3
	medium	moyen	mittel	media	(S) Quench, (W) Findora			5
	long	long	lang	larga	(S) Ingmar, (W) California			7
	very long	très long	sehr lang	muy larga	(S) ---, (W) ---			9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
20.	(*)	QN	MS B VG B	(+)	80-92	
	Awn: length	Barbe : longueur	Granne: Länge	Arista: longitud		
	very short	très courte	sehr kurz	muy corta	(S) Pirona, (W) ---	1
	short	courte	kurz	corta	(S) Marthe, (W) KWS Meridian	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Natasia, (W) Augusta	5
	long	longue	lang	larga	(S) Quench, (W) Lomerit	7
	very long	très longue	sehr lang	muy larga	(S) ---, (W) ---	9
21.	QN	MG A MS A VG A			92	
	Rachis: length of first segment	Rachis : longueur du premier article	Spindel: Länge des untersten Gliedes	Raquis: longitud del primer segmento		
	very short	très court	sehr kurz	muy corto	(S) ---, (W) ---	1
	short	court	kurz	corto	(S) Quench, (W) SY Leo	3
	medium	moyen	mittel	medio	(S) Natasia, (W) KWS Meridian	5
	long	long	lang	largo	(S) Belgravia, (W) California	7
	very long	très long	sehr lang	muy largo	(S) ---, (W) ---	9
22.	QN	VG A	(+)		92	
	Rachis: curvature of first segment	Rachis : incurvation du premier article	Spindel: Krümmung des untersten Gliedes	Raquis: curvatura del primer segmento		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	(S) ---, (W) ---	1
	weak	faible	gering	débil	(S) KWS Aliciana, (W) Henriette	3
	medium	moyenne	mittel	media	(S) Henley, (W) California	5
	strong	forte	stark	fuerte	(S) Ingmar, (W) KWS Joy	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	(S) ---, (W) ---	9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
23. (*)	QN	VG A	(+)		92	
	Median spikelet: length of glume and its awn relative to grain	Épillet médian : longueur de la glume et de sa barbe par rapport au grain	Mittleres Ährchen: Länge der Hüllspelze und ihrer Granne im Verhältnis zum Korn	Espiguilla media: longitud de la gluma y su arista en relación con el grano		
	shorter	plus courte	kürzer	más corta	(S) ---, (W) ---	1
	equal	égale	gleich lang	igual	(S) Quench, (W) California	2
	slightly longer	légèrement plus longue	etwas länger	ligeramente mas larga	(S) ---, (W) Cierzo	3
	much longer	beaucoup plus longue	viel länger	mucho más larga	(S) ---, (W) Champagne	4
24. (*)	QL	VG A	(+)		80-92	
	Grain: rachilla hair type	Grain : type de pilosité de la baguette	Korn: Behaarung der Basalborste	Grano: tipo de pelo de la raquilla		
	short	courte	kurz	corto	(S) Quench, (W) KWS Joy	1
	long	longue	lang	largo	(S) Grace, (W) California	2
25.	QN	VG A	(+)		80-92	
	Grain: spiculation of inner lateral nerves of dorsal side of lemma	Grain : denticulation des nervures latérales internes de la face dorsale de la glumelle inférieure	Korn: Bezahnung der inneren seitlichen Rückennerven der Deckspelze	Grano: dentado de la nervadura lateral interna de la cara dorsal de la lema		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	(S) Grace, (W) California	1
	weak	faible	gering	débil	(S) Chamonix, (W) KWS Joy	3
	medium	moyenne	mittel	medio	(S) Henley, (W) Champagne	5
	strong	forte	stark	fuerte	(S) ---, (W) Semper	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	(S) ---, (W) ---	9
26. (*)	QL	VG A			92	
	Grain: type	Grain : type	Korn: Typ	Grano: tipo		
	non-husked	sans glume	nicht bespelzt	sin cáscara	(S) Pirona, (W) ---	1
	husked	avec glume	bespelzt	con cáscara	(S) Grace, (W) Henriette	9

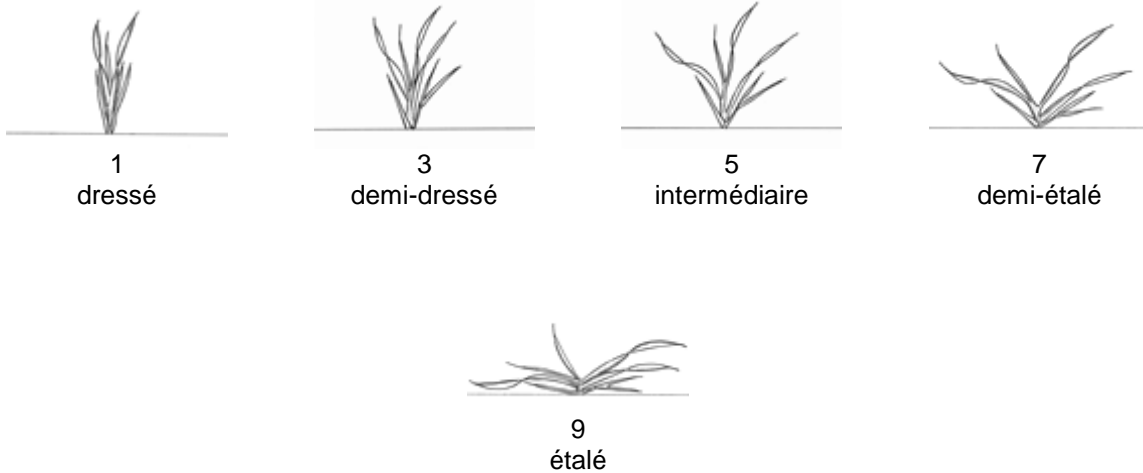
	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
27. (*)	QL	VG A	(+)	92			
	Grain: hairiness of ventral furrow		Grain : pilosité du sillon	Korn: Behaarung der Bauchfurche	Grano: vellosidad del surco ventral		
	absent		absente	fehlend	ausente	(S) Grace, (W) Henriette	1
	present		présente	vorhanden	presente	(S) ---, (W) Saffron	9
28. (*)	PQ	VG	(+)	92			
	Seasonal type		Type de développement	Wechselverhalten	Tipo de desarrollo		
	winter type		type hiver	Winterform	tipo de invierno	(S) ---, (W) Henriette	1
	alternative type		type alternatif	Wechselform	tipo alternativo	(S) ---, (W) Farandole	2
	spring type		type printemps	Sommerform	tipo de primavera	(S) Grace, (W) Cierzo, (W) Genie	3
29.	QL	VG A	(+)	92			
	Lemma: shape of base		Glumelle inférieure : forme de la base	Deckspelze: Form der Basis	Lema: forma de la base		
	non-bevelled		non biseautée	nicht abgeschrägt	no oblicua	(S) Steffi, (W) Montana	1
	bevelled		biseautée	abgeschrägt	oblicua	(S) Grace, (W) Henriette	2

8. Explications du tableau des caractères

8.1 *Explications portant sur certains caractères*

Ad. 2: Plante : port

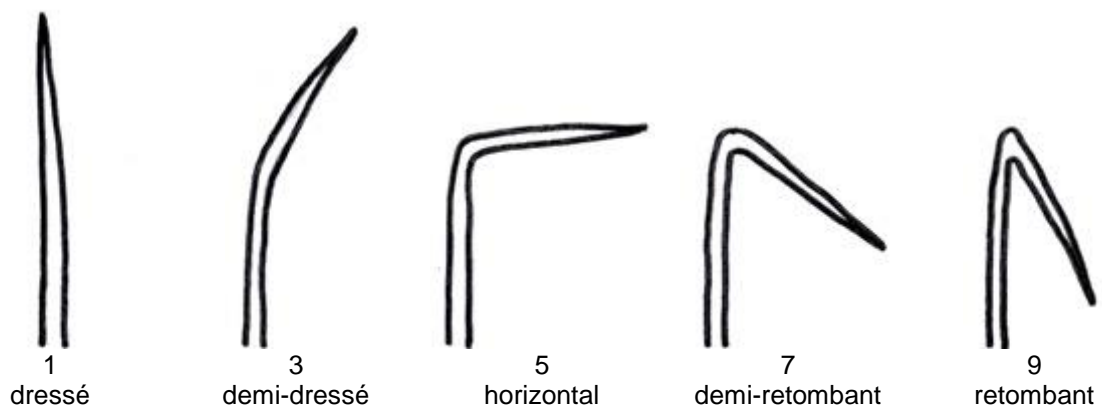
Le port doit être évalué visuellement d'après le port des feuilles et des tiges. On utilisera l'angle formé par les feuilles externes et les tiges par rapport à un axe vertical imaginaire.



Ad. 6: Dernière feuille : port

Le port de la dernière feuille est sensible au stade de développement de la plante. Par conséquent, l'observation au stade approprié (stades 49 à 51 de l'échelle de Zadoks) est particulièrement importante.

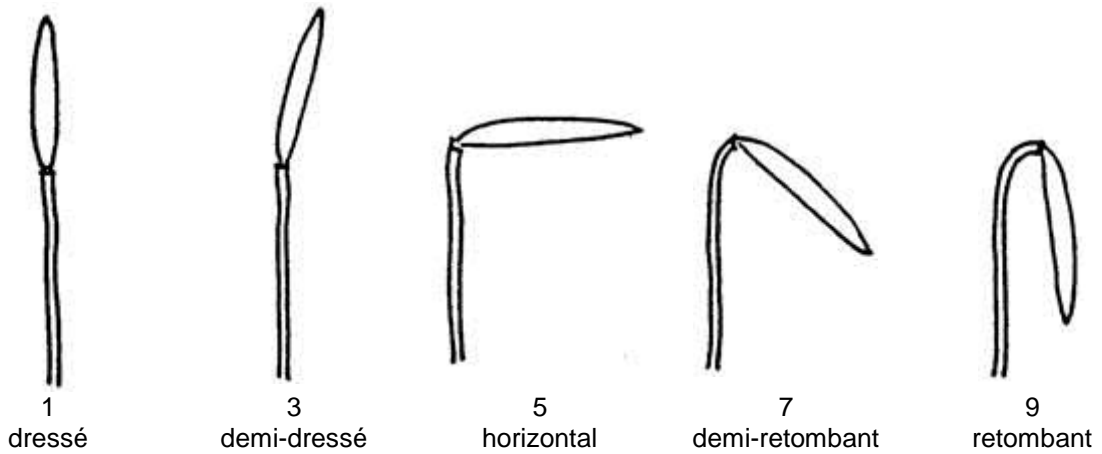
Le port de la dernière feuille est liée à l'angle entre l'axe principal (la tige) et le dernier limbe. L'expression de la majorité des plantes doit être notée sans tenir compte des plantes individuelles ayant un port différent.



Ad. 7: Époque d'épiaison

L'époque d'épiaison commence lorsque le premier épillet est visible sur 50% des épis.

Ad. 11: Épi : port



Ad. 13: Plante : longueur

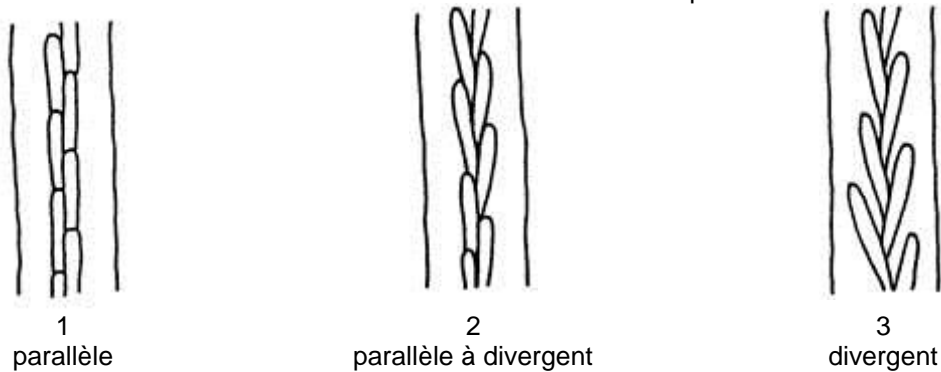
La longueur de la plante inclut la tige, l'épi et les barbes.

Ad. 15: Épi : développement d'épillets stériles

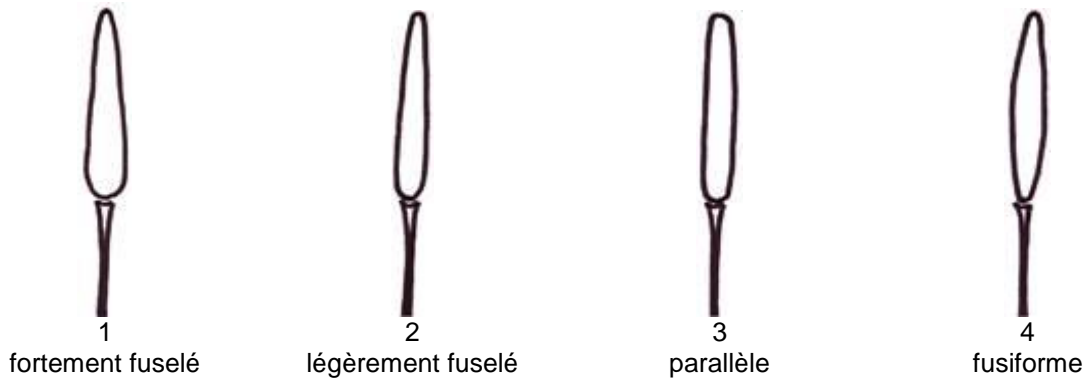
L'observation des épillets stériles n'est possible que sur les variétés à deux lignes.

Ad. 16: Épillets stériles : port

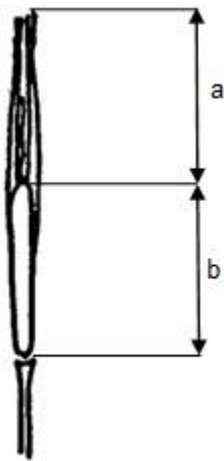
Le port des épillets stériles doit être observé uniquement sur les variétés ayant des épillets pleinement développés. Les observations doivent être faites au tiers médian de l'épi.



Ad. 17: Épi : forme



Ad. 19: Épi : longueur



a = longueur de la barbe
b = longueur de l'épi

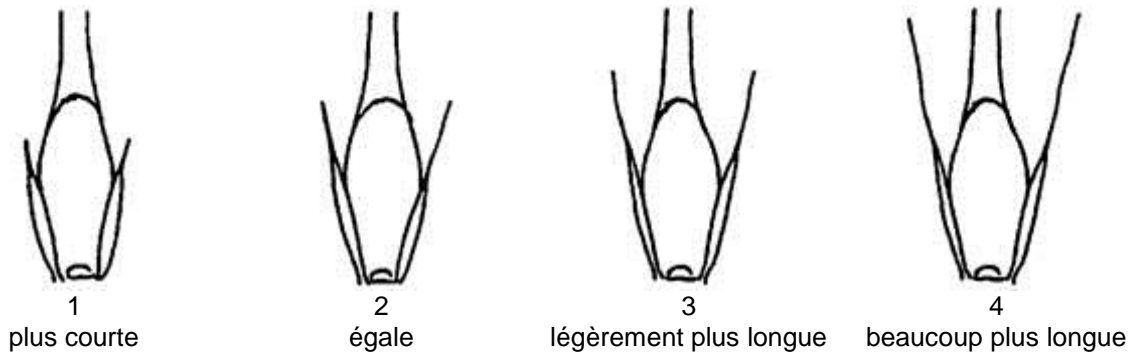
Ad. 20: Barbe : longueur

Voir Ad. 19

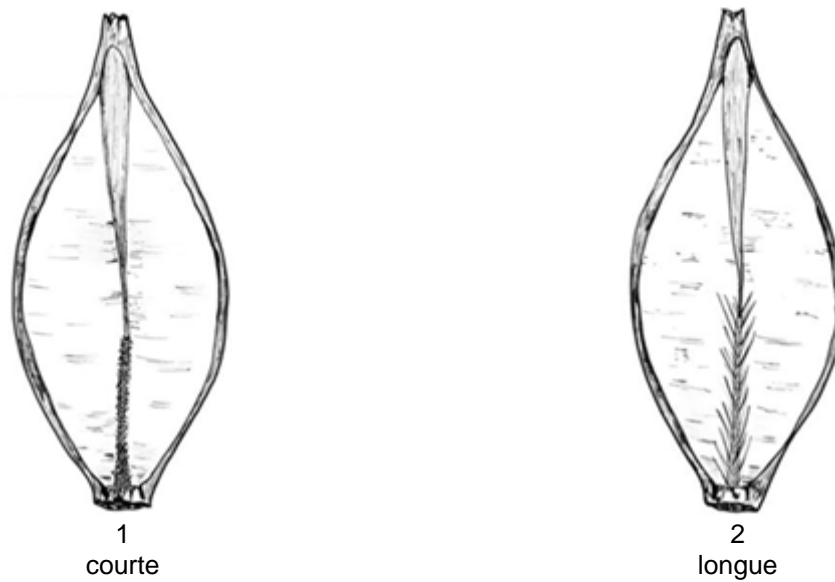
Ad. 22: Rachis : incurvation du premier article



Ad. 23: Épillet médian : longueur de la glume et de sa barbe par rapport au grain

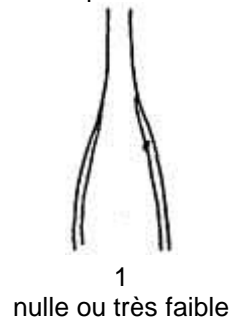


Ad. 24: Grain : type de pilosité de la baquette



Ad. 25: Grain : denticulation des nervures latérales internes de la face dorsale de la glumelle inférieure

aucun ou
occasionnellement
un ou deux petits
spicules



10 grands spicules
réguliers ou plus



Ad. 27: Grain : pilosité du sillon

Le sillon doit être observé après retrait de la baguette. Il est particulièrement important d'avoir installé la source de lumière au bon endroit. Très peu de poils doivent être évalués comme "présents".



Ad. 28: Type de développement

Le type de développement (besoin de vernalisation) doit être observé sur des parcelles ensemencées au printemps. Les variétés données à titre d'exemples doivent toujours être incluses dans les essais. Si les variétés données à titre d'exemples se comportent comme indiqué dans le tableau des caractères, les variétés candidates peuvent être décrites. Le stade de développement atteint par les variétés doit être observé au stade de pleine maturité (stade de développement 91-92 de l'échelle de Zadoks) de la variété de printemps la plus tardive. Les niveaux d'expression sont définis comme suit :

1 - Type hiver (besoin élevé de vernalisation) : les plantes ont atteint au maximum le stade 45 de l'échelle de Zadoks (gonflement).

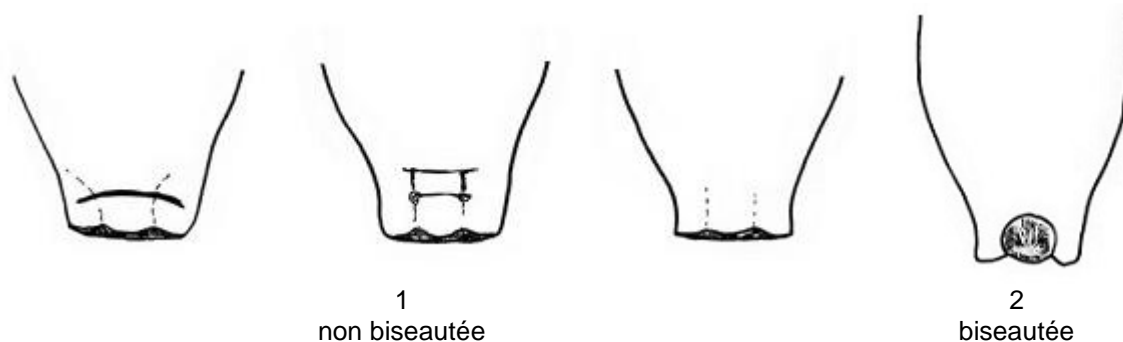
2 - Type alternatif (besoin partiel de vernalisation) : les plantes ont excédé le stade 45 de l'échelle de Zadoks (en règle générale, elles ont excédé le stade 75) et ont atteint au maximum le stade 90.

3 - Type printemps (pas besoin ou très peu besoin de vernalisation) : les plantes ont excédé le stade 90 de l'échelle de Zadoks.

Le type de développement n'est pas lié à la robustesse en hiver. Les variétés de printemps n'ont pas besoin de vernalisation mais peuvent présenter une robustesse en hiver.

Ad. 29: Glumelle inférieure : forme de la base

Les observations doivent être effectuées au tiers médian de l'épi. Dans le cas de variétés à six lignes, les observations doivent être effectuées sur la ligne médiane des épillets.



8.2 *Définition des stades de développement de l'échelle de Zadoks pour les céréales (ZADOKS et al., 1974)*

Échelle de Zadoks	Description	Échelle de Zadoks	Description
	<u>Germination</u>		<u>Gonflement</u>
00	Grain sec	41	Extension de la gaine de la dernière feuille
01	Début de l'imbibition	43	Gonflement à peine visible
03	Imbibition complète	45	Gonflement
05	Sortie de la racine	47	Ouverture de la gaine de la dernière feuille
07	Sortie du coléoptile	49	Premières barbes visibles
09	Feuille juste au sommet du coléoptile		
	<u>Croissance de la plantule</u>		<u>Épiaison</u>
10	Première feuille traversant le coléoptile	50	Premier épillet de l'inflorescence visible
11	Première feuille étalée	53	1/4 de l'inflorescence dégagé
12	deux feuilles étalées	55	1/2 de l'inflorescence dégagée
13	trois feuilles étalées	57	3/4 de l'inflorescence dégagés
14	quatre feuilles étalées	59	Inflorescence complètement dégagée
15	cinq feuilles étalées		<u>Anthèse</u>
16	six feuilles étalées	60	Début de l'anthèse
17	sept feuilles étalées	65	Mi-anthèse
18	huit feuilles étalées	69	Anthèse complète
19	neuf feuilles étalées ou plus		
	<u>Tallage</u>		<u>Stade laiteux</u>
20	Maître brin seulement	71	Stade aqueux de la maturation des caryopses
21	Maître brin et une talle	73	Début laiteux
22	Maître brin et deux talles	75	Mi-laiteux
23	Maître brin et trois talles	77	Fin laiteux
24	Maître brin et quatre talles		<u>Stade pâteux</u>
25	Maître brin et cinq talles	83	Début pâteux
26	Maître brin et six talles	85	Pâteux tendre
27	Maître brin et sept talles	87	Pâteux dur
28	Maître brin et huit talles		<u>Maturation</u>
29	Maître brin et neuf talles ou plus	91	Les caryopses sont durs (difficiles à couper avec l'ongle)
	<u>Élongation de la tige</u>	92	Les caryopses sont durs (ne peuvent plus du tout être entamés avec l'ongle)
30	Redressement de la partie aérienne	93	Caryopses se détachant dans la journée
31	Premier nœud décelable	94	Surmaturité, la paille est morte et s'affaisse
32	Deuxième nœud décelable	95	Semence dormante
33	Troisième nœud décelable	96	Semence viable donnant 50% de germination
34	Quatrième nœud décelable	97	Semence non dormante
35	Cinquième nœud décelable	98	Dormance secondaire induite
36	Sixième nœud décelable	99	Dormance secondaire levée
37	Dernière feuille à peine visible		
39	Ligule ou collerette de la dernière feuille à peine visible		

9. Bibliographie

Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F., 1974: A Decimal code for the Growth Stages of Cereals. Weed Research. NL, 14: 415-421

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="Hordeum vulgare L. sensu lato"/>	
1.2 Nom commun	<input type="text" value="Orge"/>	
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'obtenteur		
Dénomination proposée (le cas échéant)	<input type="text"/>	
Référence de l'obtenteur	<input type="text"/>	

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

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

4.1.3 Mutation []
(indiquer la variété parentale)

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) Autofécondation
- (b) Hybride
- (c) 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

(.....) x (.....)

parent femelle parent mâle

Hybride trois voies

(.....) x (.....)

parent femelle parent mâle

(.....) x (.....)

hybride simple utilisé comme parent femelle parent mâle

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 Feuilles de la base : pilosité des gaines (4)		
absente	(S) Grace, (W) California	1 []
présente	(S) ---, (W) Henriette	9 []
5.2 Époque d'épiaison (7)		
très précoce	(S) ---, (W) ---	1 []
très précoce à précoce		2 []
précoce	(S) Lilly, (W) Meseta	3 []
précoce à moyenne		4 []
moyenne	(S) Natasia, (W) California	5 []
moyenne à tardive		6 []
tardive	(S) ---, (W) Saffron	7 []
tardive à très tardive		8 []
très tardive	(S) ---, (W) ---	9 []
5.3 Barbes : pigmentation anthocyanique des pointes (9)		
nulle ou très faible	(S) ---, (W) California	1 []
très faible à faible		2 []
faible	(S) Pirona, (W) Lomerit	3 []
faible à moyenne		4 []
moyenne	(S) Ebson, (W) Marielle	5 []
moyenne à forte		6 []
forte	(S) Grace, (W) Semper	7 []
forte à très forte		8 []
très forte	(S) Wilma, (W) ---	9 []

Caractères	Exemples	Note
5.4 Plante : longueur (13)		
très courte	(S) ---, (W) ---	1 []
très courte à courte		2 []
courte	(S) Frontier, (W) Findora	3 []
courte à moyenne		4 []
moyenne	(S) Quench, (W) Henriette	5 []
moyenne à longue		6 []
longue	(S) Pirona, (W) Semper	7 []
longue à très longue		8 []
très longue	(S) ---, (W) ---	9 []
5.5 Épi : nombre de lignes (14)		
deux	(S) Grace, (W) California	1 []
six	(S) Olsok, (W) Henriette	2 []
5.6 Épi : développement d'épillets stériles (15)		
aucun ou rudimentaires	(S) Grace, (W) California	1 []
nombreux	(S) Quench, (W) Casanova	2 []
5.7 Grain : type de pilosité de la baguette (24)		
courte	(S) Quench, (W) KWS Joy	1 []
longue	(S) Grace, (W) California	2 []
5.8 Grain : type (26)		
sans glume	(S) Pirona, (W) ---	1 []
avec glume	(S) Grace, (W) Henriette	9 []
5.9 Grain : pilosité du sillon (27)		
absente	(S) Grace, (W) Henriette	1 []
présente	(S) ---, (W) Saffron	9 []
5.10 Type de développement (28)		
type hiver	(S) ---, (W) Henriette	1 []
type alternatif	(S) ---, (W) Farandole	2 []
type printemps	(S) Grace, (W) Cierzo, (W) Genie	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>Épi : glaucescence</i>	<i>faible</i>	<i>moyenne à forte</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	

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]

AnnexeExplications utiles additionnellesTABLE DES MATIÈRES

Partie I	Introduction
Partie II	Caractères dérivés par polymorphisme protéique
Partie III	Description de la méthode à utiliser

Partie I**Introduction**

L'annexe suivante comprend une liste des caractères fondés sur des isoenzymes révélés par électrophorèse et une description de la méthode à appliquer. L'UPOV a décidé de faire figurer ces caractères dans une annexe aux principes directeurs d'examen, créant ainsi une catégorie spéciale de caractères, car la majorité des 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 fondé sur de tels marqueurs révélés par 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.

Pour analyser les hordéines, il est recommandé de pratiquer l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS PAGE). Les hordéines sont codées par trois loci complexes appelés Hor-1, Hor-2 et Hor-3, localisés sur le chromosome 5 (Hor-1 et Hor-2 sur le bras court, Hor-3 sur le bras long). À chaque locus, plusieurs allèles peuvent être identifiés, et l'analyse des hordéines est fondée sur la reconnaissance de ces allèles à partir des protéines qui apparaissent sur les gels sous la forme de bandes ou groupes de bandes bien définies. Les loci codent différents groupes de protéines que l'on peut révéler par électrophorèse, appelées hordéines B-, C- et D- par ordre décroissant de mobilité. Les allèles identifiés à chaque locus peuvent être désignés par des lettres, des chiffres ou une combinaison des deux. La mobilité électrophorétique relative (REM) de chaque bande peut également être déterminée.

Si seules les hordéines C-(Hor-1) et B-(Hor-2) présentent un intérêt, il est possible d'appliquer la méthode de référence acide PAGE de l'Association internationale d'essais de semences (ISTA).

Partie II

Caractères dérivés par polymorphisme protéique

Le tableau ci-après indique les valeurs REM des principales bandes présentes dans les allèles des hordéines B-, C- et D- analysées au moyen des méthodes SDS PAGE et acide PAGE. Si l'on compare les deux méthodes, il apparaît que les variétés indiquées à titre d'exemples et les notes attribuées pour les différents niveaux d'expression sont identiques.

Caractères		Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
Position de la bande avec la <u>méthode SDS PAGE</u>	Position de la bande avec la <u>méthode acide PAGE</u>		
30. QL VG			
Composition de l'hordéine D- : expression de l'allèle occupant le locus Hor-3			
bande 34		(W) California	1
bande 33		(W) Medina	2
bande 35		(W) Saturn	3
bande 32.5		(W) Iris	4
bande 32		(W) Princesse	5
31. QL VG			
Composition de l'hordéine C- : expression de l'allèle occupant le locus Hor-1			
bandes 62+65+68	bandes 27+30+32+37+39	(W) California	1
bandes 62+65+66+68	bandes 27+30+32+34+37+39	(W) Lomerit	2
bandes 65 + 68	bandes 27+30+32+37	(W) Medina	3
bandes 66.5 + 71	bandes 32+37+41	(W) Sandra	4
bandes 61.5+66.5+71	bandes 27+30+32+37+39+41	(S) Meltan	5
bande 65	bandes 32+37+38	(S) Armada	6
bandes 60 +67.5+68.5	bandes 35 + 38	(W) Roseval	7
bandes 61+65+68+73	bandes 32+37+39+41	(W) Semper	8
bandes 60+69+72	bandes 38+41+42	(S) Sydney	9
bandes 64 + 66.5	bandes 30+32+37	(W) Saturn	10
bandes 67 + 71	bandes 34 + 37	(S) Pastello	11
bandes 65+68+69+70	bandes 34+39+41+42	(W) Albacete	12
bandes 61.5+68+71	bandes 31+34+37+38+41	(W) Borwina	13
bandes 65 + 67.5	bandes 32+37+41+43	(W) Kendo	14
bandes 65.5 + 70.5		(W) Delita	15
bandes 66 + 70.5		(W) Maybrit	16

Caractères		Example Varieties	Note/
Position de la bande avec la <u>méthode SDS</u>	Position de la bande avec la <u>méthode</u>	Exemples	Nota
<u>PAGE</u>	<u>acide PAGE</u>	Beispielssorten	
		Variedades ejemplo	
32. QL VG			
Composition de l'hordéine D- : expression de l'allèle occupant le locus Hor-2			
bandes 79+86+88+100	bandes 71+79+83+86+94+100	(S) Quench	1
bandes 79+88+91+95+97+101	bandes 71+82+89+100	(S) Overture	2
bandes 79+91+92+95+97+101	bandes 76+82+83+86+100	(S) Hellana	3
bandes 75+82+87+91+97	bandes 66+71+76+86+93+100	(W) Caribic	4
bandes 79+86+88+97+101	bandes 71+78+79+90+94	(W) Pirolina	5
bandes 78+84+95+101	bandes 76+81+94	(W) Ingmar	6
bandes 79+90+91+94+100	bandes 71+72+75+82+85+86+100	(S) Sebastian	7
bandes 78+86+91+95+100	bandes 72+76+79+90+94	(W) Sandra	8
bandes 79+82+88+91+92+100	bandes 71+76+79+86	(S) Ebson	9
bandes 76+79+86+88+100	bandes 71+78+83+86+94+100	(S) Trebon	10
bandes 79+86+89+92+95+101	bandes 71+79+83+86+90	(W) Sigma	11
bandes 79+95+101	bandes 71+76+79	(W) Midas	12
bandes 78+89+92+101	bandes 71+89	(W) Lomerit	13
bandes 75+78+79+81+89+101	bandes 79+83+86+90	(W) Findora	14
bandes 75+78+79+81+83+86+88+94+95+100	bandes 67+69+71+72+78+79+85+89+94	(W) Cresse	15
bandes 81+84+88+90+101	bandes 71+79+83+88+94	(W) Reseda	16
bandes 75+78+79+81+83+86	bandes 69+76+79+83+93	(W) Baronesse	17
bandes 82+88+100	bandes 71+72+79+85+86+91+100	(W) Albacete	18
bandes 81+100	bandes 72+76+100	(S) Basic	19
bandes 75+79+83+89+91	bandes 61+71+76+79+83	(W) Camargue	20
bandes 79+84+92	bandes 76+81+94+100	---	21
bandes 79+91+92		(W) Libelle	22
bandes 75+79+91+92+95+97+101		(W) Anja	23
bandes 75+79+90+94+99		(W) Hiberna	24
bandes 79+(83-85)+(89-91)+(94-96) +102		(W) Jerka	25

Partie III

Description de la méthode à utiliser

1. Méthode SDS PAGE pour l'analyse des hordéines de *Hordeum vulgare*

1.1 Matériel et équipement

Tout système d'électrophorèse verticale peut être utilisé à condition que les gels puissent être maintenus à température constante. Il est recommandé d'employer un gel d'au plus 1,5 mm d'épaisseur. Le générateur utilisé doit pouvoir fournir un courant et une tension d'alimentation constants.

1.2 Produits chimiques

Tous les produits chimiques doivent être de qualité "réactif analytique", voire mieux :

Acrylamide (spécialement purifié pour l'électrophorèse)
Bisacrylamide (spécialement purifié pour l'électrophorèse)
Tris (hydroxyméthyle) méthylamine (TRIS)
Dodécylsulfate de sodium (sodium dodecyl sulphate – SDS)
Persulfate d'ammonium (ammonium persulphate – APS)
2-mercaptoéthanol
NNN'N'-Tétraméthyléthylènediamine (TEMED)
Acide trichloroacétique (TCA)
Acide chlorhydrique
Acide acétique glacial
Glycine
n-Butanol
Pyronine
Glycérol (d = 1,256)
Méthanol
Bleu de Coomassie R-250 (ou équivalent)
Bleu de Coomassie G-250 (ou équivalent)

1.3 Solutions

1.3.1 Solution d'extraction

Solution-mère :

Tampon : TRIS HCl 1M, pH 6,8 (voir 1.3.3.2) : 6,25 ml

Eau distillée : 12,05 ml

SDS : 2 g

Pyronine : 10 mg

Glycérol : 10 ml

Cette solution peut être conservée deux mois à 4 °C.

Juste avant utilisation, la solution d'extraction est préparée comme suit :

28,33 ml de solution-mère tampon plus 7,91 ml de 2-mercaptoéthanol et ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée. Cette solution doit être préparée juste avant d'être utilisée et ne peut pas être conservée.

1.3.2 Tampon de migration

Solution-mère :

Glycine : 141,1 g

TRIS : 30 g

SDS : 10 g

Ajuster à un litre avec de l'eau distillée.

Juste avant utilisation, la solution-mère base est diluée à 1/10 avec de l'eau distillée.

La solution-mère tampon peut être conservée deux mois à température ambiante. Ne pas conserver la solution tampon diluée plus d'une semaine. Le pH du tampon doit être voisin de 8,3.

1.3.3 Solutions pour la préparation des gels

1.3.3.1 Tampon de gel de séparation (TRIS HCl 1 M, pH 8,8)

121,14 g de TRIS plus environ 20 ml de HCl (d = 1,19). Ajuster à un litre avec de l'eau distillée. Ce tampon peut être conservé à 4 °C pendant deux mois.

1.3.3.2 Tampon de gel de concentration (TRIS HCl 1 M, pH 6,8)

121,14 g de TRIS plus environ 78 ml de HCl (d = 1,19). Ajuster à un litre avec de l'eau distillée. Ce tampon peut être conservé à 4 °C pendant deux mois.

1.3.3.3 Solution de SDS à 10% (poids/volume)

10 g de SDS dissous dans de l'eau distillée jusqu'à l'obtention de 100 ml de solution. Cette solution peut être conservée à 4 °C pendant deux mois. Avant de l'utiliser, agiter et chauffer légèrement le mélange pour dissoudre à nouveau le SDS si besoin.

1.3.3.4 Solution de persulphate d'ammonium à 1% (poids/volume)

1 g d'APS dissous dans de l'eau distillée jusqu'à l'obtention de 10 ml de solution. Cette solution doit être préparée juste avant utilisation.

1.3.3.5 Solution-mère d'acrylamide

51,98 g d'acrylamide et ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée.

1.3.3.6 Solution-mère de bisacrylamide

0,3185 g de bisacrylamide et ajuster à 130 ml avec de l'eau distillée.

1.3.4 Solutions de coloration

1.3.4.1 0,25 g de bleu de Coomassie G-250 plus 0,75 g de bleu de Coomassie R-250 et ajuster à 100 ml avec de l'eau.

1.3.4.2 55 g de TCA, 65 ml d'acide acétique glacial, 180 ml de méthanol plus 25 ml de la solution 1.3.4.1, et ajuster à un litre avec de l'eau distillée.

1.4 **Procédure**

1.4.1 Extraction des protéines

Les grains sont broyés au moyen d'un marteau (ou de tout autre instrument). La farine ainsi obtenue est mélangée au tampon d'extraction dilué (1.3.1) dans un tube à hémolyse de 3 ml en polypropylène ou un tube analogue muni d'un couvercle vissé. La proportion est de 50 mg de farine et 0,75 ml de tampon d'extraction. Les échantillons sont extraits pendant deux heures à température ambiante, agités plusieurs fois au moyen d'un mélangeur à turbulence (vortex), chauffés pendant 10 minutes dans un bain d'eau bouillante, puis mis à refroidir. Les tubes sont centrifugés à 18 000 g pendant cinq minutes.

Selon l'épaisseur du gel et la dimension des puits, le volume d'extrait introduit peut varier. Généralement, 10 à 25 µl suffisent.

1.4.2 Préparation du gel

Les cassettes doivent être propres et sèches. Elles sont assemblées en fonction de la configuration du matériel utilisé. Si l'on se sert de ruban adhésif pour les sceller, il est judicieux de les assembler au moins le jour précédent leur utilisation, afin que le ruban adhésif puisse "vieillir" et mieux adhérer.

1.4.2.1 Gel de séparation (principal) (10% d'acrylamide, pH 8,8)

Pour deux plaques de gel de 180 x 160 x 1,5 mm, il faut :
20 ml de solution-mère d'acrylamide (1.3.3.5)
26 ml de solution-mère de bisacrylamide (1.3.3.6)
30 ml de tampon gel (1.3.3.1).

Le mélange doit être à 4 °C. Il est dégazé pendant 10 minutes dans une fiole à vide (flacon de Büchner) de 100 ml. Ajouter à ce mélange :
2 ml d'APS (1.3.3.4)
0,8 ml de SDS (1.3.3.3)
40 µl de TEMED (prélevé directement de la bouteille).

Ensuite, le gel est coulé entre les deux plaques avec précaution, en évitant la formation de bulles d'air. Laisser polymériser à température ambiante.

Les cassettes ne doivent pas être remplies complètement, pour pouvoir couler un gel de concentration d'une hauteur de 3-4 cm. La surface du gel est minutieusement recouverte de n-butanol (ou d'eau distillée) au moyen d'une seringue. Lorsque la polymérisation est terminée (au bout d'une trentaine de minutes), la surface du gel est soigneusement rincée avec de l'eau distillée et séchée avec du papier-filtre.

1.4.2.2 Gel de concentration (3,5% d'acrylamide, pH 6,8)

Dans une fiole à vide (flacon de Büchner) de 50 ml, mélanger :
1,35 ml de solution-mère d'acrylamide (1.3.3.5)
3,17 ml de solution-mère de bisacrylamide (1.3.3.6)
2,50 ml de tampon gel (1.3.3.2)
12,30 ml d'eau distillée.

Après dégazage, ajouter :
0,875 ml d'APS (1.3.3.4)
0,233 ml de SDS (1.3.3.3)
17,5 µl de TEMED (prélevé directement de la bouteille).

Mélanger soigneusement et verser immédiatement la solution de gel de concentration de manière à remplir les cassettes. Le "peigne" servant à former des puits est inséré entre les deux plaques en évitant la constitution de bulles d'air. Laisser polymériser pendant deux heures. Ensuite, retirer avec précaution les peignes des cassettes et rincer les puits au moyen du tampon de migration dilué (1.3.2).

1.4.3 Électrophorèse

La cuve est remplie du volume approprié de tampon de migration (1.3.2) et refroidie à 15 °C. Après avoir introduit l'échantillon, un courant constant de 8 mA/cm² (surface de la section transversale) est appliqué jusqu'à ce que la pyronine G ait traversé le gel de concentration, puis de 16 mA/cm² (maximum 300 V) jusqu'à ce que le marqueur se trouve à l'extrémité du gel. La température doit être maintenue à 15 °C.

1.4.4 Fixation et coloration

Les cassettes sont retirées de la cuve ouverte. Les gels sont fixés pendant 30 minutes au moins dans 250 ml de TCA à 15% (poids/volume), puis rincés dans de l'eau distillée et placés jusqu'au lendemain dans 250 ml de solution de coloration (1.3.4.2) à température ambiante. Il n'est généralement pas nécessaire de les décolorer, mais il faut laver les gels dans de l'eau distillée avant de les stocker dans des sachets de polyéthylène hermétiquement fermés.

D'autres méthodes de coloration peuvent être appliquées avec succès (bleu de Coomassie G ou substance équivalente, dans du TCA uniquement). Pour contrôler la qualité finale du gel, du point de vue à la fois de sa préparation et de sa coloration, les variétés témoins proposées sont analysées pour chaque série de gels. La séparation des bandes et la mobilité électrophorétique relative (poids moléculaire) des variétés témoins doivent être nettes pour que la manipulation soit jugée satisfaisante.

1.5 Reconnaissance des allèles d'hordéines (méthode SDS PAGE)

Le groupe de bandes figurant dans les tableaux pour les hordéines B-, C- et D- est schématique et les différences d'intensité des bandes ont été ignorées.

Hordéines B-, C- et D- : nomenclature de chacune des bandes et reconnaissance des allèles correspondants (méthode SDS PAGE)

Caractère 30 : composition de l'hordéine D- : expression de l'allèle occupant le locus Hor-3

Bande	Exemple California	Note				
		1	2	3	4	5
32						
32.5						
33			--			
34	--	--				
35				--		

Caractère 31 : composition de l'hordéine C- : expression de l'allèle occupant le locus Hor-1

Bande	Exemple California	Note																Bande									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16										
60								--																		60	
61									--																		61
61.5						--																					61.5
62	--	--	--																								62
64													--														64
65	--	--	--	--				--		--						--		--									65
65.5																							--				65.5
66			--																					--			66
66.5						--	--						--														66.5
67														--													67
67.5										--										--							67.5
68	--	--	--	--						--										--	--						68
68.5										--																	68.5
69														--						--							69
70																				--							70
70.5																					--	--					70.5
71					--	--								--													71
72														--													72
73													--														73

Caractère 32 : composition de l'hordéine B- : expression de l'allèle occupant le Hor-2

Bande	Exemple Quench	Note																								Bande		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		25	
75					--																							75
76											--						--	--							--	--		76
78								--	--					--	--	--												78
79	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	79
81															--	--	--	--			--							81
82				--																--								82
83																--	--	--			--							83
84						--											--					--						84
85																												85
86	--	--			--			--		--	--						--											86
87				--																								87
88	--	--	--		--			--	--	--	--						--			--								88
89											--		--	--							--							89
90								--									--											90
91			--	--	--			--	--	--											--	--	--					91
92			--					--		--												--	--	--				92
94								--									--								--	--		94
95			--	--		--	--			--	--						--							--	--			95
96																										--		96
97			--	--	--	--																			--			97
99																										--		99
100	--	--					--	--		--	--						--				--	--						100
101			--	--	--	--		--	--	--	--						--				--	--						101
102																										--		102

2. Méthode acide PAGE pour l'analyse des hordéines B- et C- de *Hordeum vulgare*

Si seules les hordéines B- et C- présentent un intérêt, la méthode acide PAGE peut être utilisée. Elle est la méthode de référence recommandée par l'Association internationale d'essais de semences.

2.1. Matériel et équipement

Diverses configurations d'équipement d'électrophorèse verticale ont été utilisées avec succès, notamment celles qui sont proposées par Biometra, Bio-Rad, Desaga et Pharmacia-LKB. Le générateur utilisé doit pouvoir fournir un courant et une tension d'alimentation constants.

2.2. Produits chimiques

Tous les produits chimiques doivent être de qualité "réactif analytique", voire mieux :

Acrylamide (spécialement purifié pour l'électrophorèse)
Bisacrylamide (spécialement purifié pour l'électrophorèse)
Urée
Acide acétique glacial
Glycine
Sulfate de fer
Acide ascorbique
Peroxyde d'hydrogène
Monothioglycérol
Pyronine G
Acide trichloroacétique (TCA)
Méthanol
2-chloroéthanol
Bleu de Coomassie G-250 (ou équivalent)
Bleu de Coomassie R-250 (ou équivalent)

2.3 Solutions

2.3.1 Solution d'extraction

Pyronine G (0,05%) (poids/volume) dans du 2-chloroéthanol (20%) (volume/volume) contenant de l'urée (18% poids/volume) et du monothioglycérol (1% volume/volume) (conserver au frais ou en préparer un nouveau).

2.3.2 Solution tampon de la cuve

Mélange d'acide acétique glacial (4 ml) et de glycine (0,4 g) ajusté à un 1 litre avec de l'eau distillée, à conserver au froid.

2.3.3 Solution tampon gel

Mélange d'acide acétique glacial (20 ml) et de glycine (1 g) et ajuster à un 1 litre avec de l'eau distillée, à conserver au froid.

2.3.4 Solutions de coloration

0,25 g de bleu de Coomassie G-250 + 0,75 g de bleu de Coomassie R-250 dans 100 ml d'eau.

55 g de TCA, 65 ml d'acide acétique glacial, 180 ml de méthanol, plus 25 ml de la solution 2.3.4.1 et ajuster à un litre avec de l'eau distillée.

2.4 Procédure

2.4.1 Extraction des protéines

Les grains sont écrasés avec des pinces ou des instruments similaires et placés dans des tubes de centrifugation en polypropylène de 1,5 ml ou sur des plaques de microtitration. La solution d'extraction (2.3.1) (0,3 ml) est ajoutée et les tubes ou les plaques sont laissés à incuber toute la nuit à température ambiante. Si besoin, les tubes sont centrifugés à 18 000 g et les éléments surnageant sont utilisés pour l'électrophorèse.

2.4.2 Préparation du gel

Les cassettes doivent être propres et sèches. Elles sont assemblées en fonction de la configuration du matériel. Le fait de traiter les plaques avec de la silicone avant l'assemblage peut faciliter le retrait ultérieur du gel. Les cassettes de gel peuvent contenir un film en plastique (par exemple, un "Gel Bond PAG" de FMC Corporation). Ce film accueille le gel pendant les opérations ultérieures. Pour obtenir 100 ml de milieu gélosé, prendre du tampon gel à 4 °C (2.3.3) (environ 60 ml) et ajouter les produits suivants : acrylamide (10 g), bisacrylamide (0,4 g), urée (6 g), acide ascorbique (0,1 g), sulfate de fer (0,005 g). La solution est mélangée et ajustée à 100 ml avec la solution tampon gel froide (4 °C) (2.3.3). Ajouter une solution de 0,6% (volume/volume) de peroxyde d'hydrogène (0,35 ml pour 100 ml de milieu gélosé) fraîchement préparée, la mélanger rapidement et verser le gel. Un "peigne" en acrylique est placé sur le haut de la cassette, pour former des puits dans le gel. La polymérisation est effectuée à température ambiante et doit prendre 5 à 15 minutes. Dans le cas contraire, il peut être nécessaire d'ajuster le volume de peroxyde d'hydrogène ajouté. Le mélange gélosé doit déborder de la cassette ou être recouvert d'eau pour garantir une polymérisation satisfaisante de la surface supérieure.

2.4.3 Électrophorèse

Le peigne en acrylique est retiré du gel et les puits sont lavés avec la solution tampon de la cuve (2.3.2). La cuve est remplie avec le volume approprié de tampon (2.3.2) (en fonction de l'équipement utilisé). Des échantillons (10 à 20 µl) sont introduits dans les puits et le gel est versé dans le réservoir, en veillant à ce que les puits soient totalement remplis. La température de la chambre de la chambre inférieure doit être maintenue à 15 °C. Un courant constant ne dépassant pas 60V/cm² de gel (surface de la section transversale) est appliqué (correspondant à une tension d'alimentation de 500 V pour deux gels de 16 cm de large et 0,15 cm d'épaisseur) pendant deux fois le temps qu'il faut au marqueur de pyronine G pour disparaître du gel. Il ne faut pas oublier que l'anode (électrode positive) est à l'origine (haut du gel) dans ce système.

2.4.4 Fixation et coloration

La cassette est retirée de la cuve ouverte et le gel est placé jusqu'au lendemain dans une boîte en plastique contenant 200 ml de solution de coloration (2.3.4.2) à température ambiante. Si nécessaire, la décoloration est effectuée en plaçant les gels dans de l'eau pendant deux à trois heures à température ambiante. Les gels peuvent ensuite être séchés ou stockés dans des sachets de polyéthylène hermétiquement fermés à 4 °C.

Il y a lieu de noter que d'autres procédures, comme le recours à des températures plus élevées ou l'utilisation de mélanges de TCA et de bleu de Coomassie G, donneront des colorations satisfaisantes des gels. Pour contrôler la qualité finale du gel, du point de vue à la fois de sa préparation et de sa coloration, les variétés témoins proposées sont analysées pour chaque série de gels. La séparation des bandes désignées et la mobilité électrophorétique relative des variétés témoins doivent être nettes et correctes pour que la manipulation soit jugée satisfaisante.

2.5 Reconnaissance des allèles d'hordéines (méthode acide PAGE)

Hordéines B- et C- : nomenclature de chacune des bandes et reconnaissance des allèles correspondants : méthode acide PAGE

Caractère 31 : composition de l'hordéine C- : expression de l'allèle occupant le locus Hor-1

Bande	Exemple California	Note														Bande		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
25																		25
27	--	--	--	--		--												27
30	--	--	--	--		--					--							30
31														--				31
32	--	--	--	--	--	--	--		--		--						--	32
34			--										--	--	--			34
35									--									35
37	--	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--		--	--			37
38								--	--		--			--	--			38
39	--	--	--			--		--	--				--					39
41					--	--			--	--			--	--	--			41
42									--	--			--	--				42
43													--	--			--	43
		Allèles selon la nomenclature acide PAGE																
		10	10A	1	11	17	6	19	2	4	5	18	14	8	3			

Caractère 31 : composition de l'hordéine C- : expression de l'allèle occupant le locus Hor-2

Bande	Exemple Quench	Note																					Bande
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
61																					--		61
66				--																			66
67															--								67
69															--		--						69
71	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	71
72							--	--							--			--	--				72
75							--																75
76			--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	76
78					--					--					--								78
79	--	--			--			--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	79
81					--																	--	81
82		--	--				--																82
83	--	--							--	--				--	--	--					--		83
85					--										--			--					85
86	--	--	--	--		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	86
88															--								88
89		--								--	--			--									89
90					--		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	90
91																		--					91
93			--														--						93
94	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	94
97																							97
100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	100
		3	4	13	14	-	9	1	7	6	-	-	11	16	-	18	-	19	8	15	12	10	

[Fin de l'annexe et du document]