

## DISCLAIMER

The present version of the national guideline has been accepted by the President of the CPVO for its use in technical examinations carried out on behalf of the CPVO or for the take-over of reports serving as a basis for a CPVO decision.

# Protocole technique d'examen DHS

## Distinction, Homogénéité, Stabilité

# Bugrane

(*Ononis alopecuroides L.*)  
ONONI\_ALO

Version établie en janvier 2018 et consolidée en juin 2020

DOCDHS/AGR/EFG/BUG/PROTO/001/IND1  
8 pages, 1 annexe

Création du protocole

**Ce protocole technique, doit être lu avec le protocole général d'examen DHS pour le groupe d'espèces considéré.**

## Sommaire

1. Conditions d'examen .....	1
2. Déroulement de l'examen .....	1
2.1. Collection de référence.....	1
2.2. Le matériel étudié .....	1
2.3. Dispositif expérimental et conduite culturale .....	1
2.3.1. Le dispositif .....	2
2.3.2. Mise en place et conduite culturale de l'essai .....	2
2.4. Les caractères observés .....	3
2.4.1. Les caractères observés.....	3
2.5. Les caractères additionnels .....	7
2.6. Regroupement des variétés .....	7
2.7. Essais particuliers.....	7
2.8. Traitement des données.....	7
2.8.1. Appréciation de la Distinction .....	8
2.8.2. Appréciation de l'homogénéité .....	8
2.8.3. Appréciation de la stabilité.....	8
3. Visite des essais .....	8
4. Transmission des résultats d'examen .....	8

Annexe 1 : liste des caractères observés

## 1. Conditions d'examen

La recevabilité d'une demande d'examen est conditionnée par :

- le respect des dates des dépôts des dossiers
  - o 15 décembre, tous types de variétés (DEE).
- le respect des dates de fourniture des semences
  - o 15 février, tous types de variétés (DEE).
- la fourniture des semences en qualité et quantité aux exigences requises :
  - o 1kg de semences avec une bonne faculté de germination.
- la fourniture, par le service demandeur :
  - o des questionnaires techniques et administratifs au GEVES.

## 2. Déroulement de l'examen

### 2.1. Collection de référence

Cf. paragraphe 2.1 du protocole général d'examen DHS « Groupe d'espèces agricoles ».

*Renseignements complémentaires :*

- Renouvellement des lots de référence

Le nouveau lot est systématiquement comparé au lot initial de référence sur l'ensemble des caractères en végétation avant remplacement, au minimum sur un cycle. En cas d'anomalie, une nouvelle fourniture est exigée par le service demandeur, à la demande du GEVES.

La quantité de semences à recevoir est de 1kg, non traitées.

### 2.2. Le matériel étudié

Le matériel étudié relève de deux statuts : les variétés candidates (en étude) et les variétés de la collection de référence. La collection de référence n'est pas systématiquement implantée dans son intégralité (Cf. . paragraphe 2.1. du protocole général d'examen DHS « Groupe d'espèces agricoles ».).

Pour les variétés candidates, l'effectif minimum à observer est de **60 plantes**.

### 2.3. Dispositif expérimental et conduite culturale

Le GEVES conduit les études de DHS sur deux cycles de six mois et dans un seul lieu :

- GEVES L'Anjouère (Maine et Loire)

Pour chaque cycle, une implantation est réalisée.

### 2.3.1. Le dispositif

#### *Dispositif de parcelles en lignes :*

Il est destiné à apprécier d'une part, les caractères visuels par une densité de plantes représentatives des conditions de culture de l'espèce, et d'autre part d'apprécier les caractères mesurés avec des plantes identifiées dans la parcelle.

Cet essai comporte **3 répétitions** de deux lignes de 4 mètres de long. La densité de semis est de l'ordre de 150 plantes au mètre linéaire. L'écartement inter parcelle est d'environ 0.30 mètre et l'écartement interligne est d'environ 0,50 mètre.

Le dispositif permet de juger de l'homogénéité et de réaliser la description.

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.

### 2.3.2. Mise en place et conduite culturale de l'essai

#### *Implantation*

Les dates d'implantation recherchées, sous réserve que les conditions climatiques le permettent, sont les suivantes :

Saison	Semis en direct des lignes
Printemps	entre le 1 <sup>er</sup> mars et le 15 avril
Automne	entre le 1 <sup>er</sup> et le 30 septembre

#### *Conduite culturale*

La conduite de l'essai est classique. Le précédent cultural doit permettre une implantation de l'essai dans de bonnes conditions. La fertilisation apportée, en règle générale, est la suivante :

	Fertilisation azotée	Fertilisation phosphatée et potassique
Année 1)	sans	Fonction de la situation culturale de la parcelle Indicatif 60 à 80 unités de K <sub>2</sub> O/ha et 30 à 50 unités de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /an

Les essais sont irrigués après les semis ou en cours de développement si les conditions climatiques l'exigent.

#### *Protection*

Des observations sont régulièrement effectuées afin de prévenir et/ou lutter efficacement contre toutes sortes de ravageurs (insectes, rongeurs, gibiers...).

### Désherbage

On privilégie les binages mécaniques ou manuels pour permettre de maintenir les essais dans un état de propreté satisfaisant. Toutefois des dés herbages chimiques peuvent être réalisés. On utilise, alors, des produits homologués et le choix des matières actives est établi sur la base des recommandations de la FNAMS ou d'ARVALIS.

Les produits reconnus pouvant avoir une influence sur le jugement DHS sont proscrits.

En fonction du type d'adventices concernés ou de l'espèce à protéger, les traitements sont réalisés sur l'ensemble de l'essai ou bien en application dirigée.

## 2.4. Les caractères observés

En l'absence de principe directeur de l'UPOV et de protocole OCVV pour la conduite de l'examen des caractères distinctifs, de l'homogénéité et de la stabilité la liste des caractères observés inclut donc uniquement les caractères jugés pertinents pour décrire les variétés dans les conditions de cultures nationales.

### 2.4.1. Les caractères observés

#### Intensité de la couleur verte (avant la floraison)

(VG) Cette observation est faite sur une estimation globale, dans chaque répétition précédent le stade de la floraison.

Echelle de description : -très claire	1
-claire	3
-moyenne	5
-foncée	7
-très foncée	9

#### Longueur de la feuille

(MS) Cette observation est réalisée sur 20 plantes, dans chaque répétition précédent le stade de la floraison (au même stade que le caractère précédent). Les feuilles mesurées sont prélevées sur la partie supérieure de la plante.

Echelle de description : -très courte	1
-courte	3
-moyenne	5
-longue	7
-très longue	9

#### Largeur de la feuille

(MS) Cette observation est faite sur les feuilles utilisées pour le caractère précédent.

Echelle de description : -très étroite	1
-étroite	3
-moyenne	5
-large	7
-très large	9

**Forme de la feuille**

(VS) Cette observation est faite sur les feuilles utilisées pour le caractère précédent

Echelle de description : -elliptique	1
-oblongue	2
-lancéolée	3

**Denture de la feuille**

(VS) Cette observation est faite sur les feuilles utilisées pour le caractère précédent

Echelle de description : -isolée ou très fine	1
-fine	3
-moyenne	5
-grossière	7
-très grossière	9

**Longueur de la stipule**

(MS) Cette observation est faite sur les feuilles utilisées pour le caractère précédent.

Echelle de description : -très courte	1
-courte	3
-moyenne	5
-longue	7
-très longue	9

**Largeur de la stipule**

(MS) Cette observation est faite sur les feuilles utilisées pour le caractère précédent.

Echelle de description : -très étroite	1
-étroite	3
-moyenne	5
-large	7
-très large	9

**Pilosité de la stipule**

(VS) Cette observation est faite sur les feuilles utilisées pour le caractère précédent

Echelle de description : -absente ou très faible	1
-faible	3
-moyenne	5
-forte	7
-très forte	9

**Epoque de début de floraison (quantième)**

(VG) L'époque de début floraison se situe au moment où 50% des plantes ont au moins une inflorescence épanouie. La précocité de floraison est notée à raison de 2 à 3 passages par semaine et exprimée en quantième de l'année civile (au 1<sup>er</sup> janvier). Cette notation est réalisée sur chaque parcelle dans chaque répétition et a lieu au stade de floraison.

Echelle de description : -très précoce	1
-précoce	3
-moyenne	5
-tardive	7
-très tardive	9

**Longueur de l'inflorescence**

(MS) Cette observation est réalisée sur le tiers supérieur de la plante durant le stade de floraison. C'est une observation de 20 plantes représentatives dans chaque répétition.

Echelle de description : -très courte	1
-courte	3
-moyenne	5
-longue	7
-très longue	9

**Densité de l'inflorescence**

(VS) Cette observation est réalisée sur les mêmes éléments que le caractère précédent, il tient compte du rapport visuel entre la longueur de l'inflorescence et le nombre de fleurs

Echelle de description : -très lâche	1
-lâche	3
-moyenne	5
-dense	7
-très dense	9

**Couleur de l'étendard**

(VS) Cette observation est réalisée sur les mêmes éléments que les caractères précédents.

Echelle de description : -blanc	1
-rose	2
-violet	3
-pourpre	4

**Nombre d'entre nœud de la tige**

(MS) Cette observation est réalisée sur 20 plantes dans chaque répétition. L'observation est réalisée durant le stade fin de floraison.

Echelle de description : -très petit	1
-petit	3
-moyen	5
-grand	7
-très grand	9



**Longueur de la tige**

(MS) Cette observation est réalisée sur les mêmes éléments que le caractère précédent et est exprimé en cm.

Echelle de description : -très courte	1
-courte	3
-moyenne	5
-longue	7
-très longue	9

**Longueur de la gousse (sans le bec)**

(MS) Cette observation est réalisée durant le stade de développement du fruit lorsque les gousses ont atteint une taille typique : vertes mûres. C'est une observation sur 20 plantes dans chaque répétition.

Echelle de description : -très courte	1
-courte	3
-moyenne	5
-longue	7
-très longue	9

**Pilosité de la gousse**

(VS) Cette observation est réalisée sur les gousses du caractère précédent au même stade de développement.

Echelle de description : -absente ou très faible	1
-faible	3
-moyenne	5
-forte	7
-très forte	9

**Couleur du fond du tégument de la graine**

(VS) Cette observation est réalisée à maturité des gousses. Les graines immatures ou infectées sont exclues. Cette notation est réalisée lorsque toutes les gousses sont sèches et brunes, les semences sont sèches et dures.

Echelle de description : -verte	1
-brune	2
-pourpre	3
-noire	4

**Texture de la surface de la graine**

(VS) C'est une observation sur les mêmes éléments que le caractère précédent.

Echelle de description : -lisse	1
-lisse à rugueuse	2
-rugueuse	3

VS : visual single => évaluation visuelle

MS : mesurment single => mesure de chaque élément

VG : visual global => évaluation de l'ensemble

MG : mesurment global => mesure de l'ensemble

## 2.5. Les caractères additionnels

Tout caractère additionnel doit faire l'objet d'une étude de faisabilité technique et économique de la part du GEVES. Cette étude est soumise à l'approbation du service demandeur avant sa mise en œuvre. La réalisation des tests ou des analyses additionnels donne lieu à une facturation complémentaire.

## 2.6. Regroupement des variétés

Les caractères de groupement sont ceux pour lesquels les niveaux d'expression, même lorsqu'ils sont produits à différents endroits, peuvent être utilisés individuellement ou en combinaison :

- a) pour sélectionner des variétés notoirement connues, qui peuvent être exclues de l'essai en culture
- b) pour organiser l'essai en culture de façon à regrouper les variétés similaires.

Le regroupement et/ou l'exclusion des variétés se fait donc en fonction des caractères de groupement identifiés comme suit :

- l'époque de début de floraison,
- la couleur de l'étendard,
- la couleur du fond du tégument de la graine.

Les variétés en étude qui s'avèrent proches d'autres variétés seront dans la mesure du possible disposées à proximité des variétés à comparer dans 2 répétitions minimum.

## 2.7. Essais particuliers

Pour une caractéristique particulière mentionnée par l'obteneur et non réalisée dans le cadre des observations du protocole DHS, des essais particuliers apportant une aide à la distinction peuvent être entrepris après accord du service demandeur.

Ces caractéristiques portent en général sur le comportement vis-à-vis de pathogènes en conditions contrôlées. Un test complémentaire aux essais pratiqués par le laboratoire de pathologie de la SNES peut être réalisé sous la forme d'essais codés chez le déposant de la variété candidate.

Un protocole d'étude est rédigé par le GEVES et mentionne notamment les témoins de référence. Le GEVES expédie sous forme codée les échantillons variétaux concernés ainsi que les différents témoins nécessaires à cette expérimentation. Le GEVES collecte les données et en assure l'analyse statistique (cf. 2.8.)

Le coût de ce test complémentaire incombe au demandeur.

## 2.8. Traitement des données

Les données individuelles font l'objet d'un traitement statistique. Le test mis en œuvre et les seuils de signification sont différents selon qu'il s'agit de caractères qualitatifs ou quantitatifs ainsi que s'il s'agit d'une approche globale ou individuelle.

L'analyse de ces tests permet au GEVES d'élaborer les rapports techniques établissant des propositions sur la Distinction, l'Homogénéité et la Stabilité.

### 2.8.1. *Appréciation de la Distinction*

#### - **Les caractères MS**

Tests sur les caractères MS : une variété est déclarée distincte :

- si à l'issue de l'étude, une différence significative dans le même sens au seuil  $\alpha = 1\%$  est observée au cours des deux ou trois cycles d'étude sur la base d'un test T Student pour l'un des critères retenus, si l'écart des moyennes est suffisant cycle par cycle. La description de ce test figure dans le document UPOV TG/ 1/3.

#### - **Les caractères VS, VG et MG**

Tests sur les caractères VS, VG et MG : une variété est déclarée distincte en accord avec les recommandations de l'UPOV.

### 2.8.2. *Appréciation de l'homogénéité*

L'homogénéité d'une variété candidate doit être vérifiée par rapport à celle des variétés de référence. Le test retenu et recommandé par l'UPOV, COY U, est basé sur l'estimation de la variabilité inter annuelle pour un caractère donné par comparaison entre la variété candidate et la moyenne des variétés de référence qui lui sont proches. La variété candidate ne doit pas être significativement plus hétérogène que les variétés de référence de son groupe. Le seuil de rejet à l'issue de l'expérimentation est fixé à 0,1 %. Le seuil d'acceptation après 2 années est de 1 %.

Toutefois, si le nombre de variétés dans l'essai est insuffisant, l'utilisation de la COY U ne peut être fait, c'est la méthode de la variance relative qui est à utiliser. **La valeur de la variance relative d'une candidate au seuil limite de  $p=0.01$  est de 1.47 pour un effectif de 60 plantes.**

Les documents de référence dans lesquels sont décrits les principes directeurs d'examen DHS de l'UPOV sont le TG/1/3, le TGP/10 et le TGP/8.

### 2.8.3. *Appréciation de la stabilité*

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.

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.

## 3. Visite des essais

Cf. chapitre 3 du protocole général d'examen DHS « Groupe d'espèces agricoles ».

## 4. Transmission des résultats d'examen

Le rapport intermédiaire est établi entre décembre et début mars de la dernière année d'expérimentation pour les variétés en étude.

Le rapport définitif est élaboré entre fin janvier et début avril de l'année (+1) d'expérimentation. Il est adressé au service demandeur.

## Annexe 1 : liste des caractères observés

Espèce/Libellé du caractère	Type évaluation	N° national
<b>Bugrane queue de renard</b>		
Feuillage : intensité de la couleur verte	QN-VG	a
Feuille : longueur	QN-MS	b
Feuille : largeur	QN-MS	c
Feuille : forme	QL-VS	d
Feuille : denture	QN-VS	e
Stipule : longueur	QN-MS	f
Stipule : largeur	QN-MS	g
Stipule : pilosité	QN-VS	h
Epoque de début de floraison (G)	QN-VG	i
Inflorescence : longueur	QN-MS	j
Inflorescence : densité des fleurs	QN-VS	k
Fleur : couleur de l'étendard (G)	PQ-VS	l
Tige : nombre d'entrenœuds	QN-VS	m
Tige : longueur (la tige la plus longue, inflorescence incluse)	QN-VS	n
Gousse : longueur (bec exclus)	QN-MS	o
Gousse : pilosité	QN-MS	p
Graine : couleur du fond du tégument (G)	PQ-VS	q
Graine : texture de la surface	PQ-VS	r

Les caractères identifiés sont des caractères nationaux observés systématiquement, à chaque cycle de végétation, pendant la durée des essais. Il n'existe pas de protocole OCVV ni de recommandations UPOV.

Les caractères marqués de la lettre G, sont les caractères utilisés pour grouper et/ou exclure des variétés dans les essais en culture (**paragraphe 2.6**).

QL: Caractère qualitatif\*\*

QN : Caractère quantitatif\*\*

PQ : Caractère pseudo-qualitatif\*\*

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

\*\* : Une explication des types d'expression des caractères (caractères qualitatifs, quantitatifs et pseudo-qualitatifs) est donnée dans l'introduction générale UPOV-TG/1/3