

## 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

# Espèce Cameline

*Camelina sativa*  
CAMLN\_SAT

Version du 22/05/2023

DOCDHS/AGR/COL/PROTO/002 ind.3

**La mise à jour porte sur :**

- Changement de campagne
- Révision globale selon la trame du protocole technique DHS
- Mise à jour dispositif expérimental
- Mise à jour caractères observés et caractères de groupement
- Mise à jour traitement des données
- Ajout règles de décision distinction, homogénéité

# Sommaire

<b>1. Conditions d'examen</b> .....	<b>3</b>
1.1. Constitution du dossier et fourniture des semences .....	3
1.2. Fourniture des semences .....	3
<b>2. Déroulement de l'examen</b> .....	<b>3</b>
2.1. Collection de référence .....	4
2.2. Matériel étudié : nature et effectif .....	4
2.3. Dispositif expérimental et conduite culturale .....	4
2.3.1. Dispositif expérimental .....	4
2.3.2. Conduite culturale.....	5
2.4. Caractères observés.....	5
2.4.1. Caractères observés en végétation.....	5
2.4.2. Caractères observés au laboratoire .....	6
2.5. Caractères additionnels .....	7
2.6. Regroupement des variétés .....	7
2.7. Essais particuliers.....	7
2.8. Traitement des données .....	7
2.8.1. Mesures globales .....	7
2.8.2. Descriptions variétales .....	8
2.8.3. Appréciation de la distinction .....	8
2.8.4. Appréciation de l'homogénéité .....	8
2.8.5. Appréciation de la stabilité .....	10
<b>3. Visite des essais</b> .....	<b>10</b>
<b>4. Transmission des résultats d'examen</b> .....	<b>10</b>
<b>Annexe 1 : liste des caractères observés</b> .....	<b>12</b>

## 1. Conditions d'examen

### 1.1. Constitution du dossier et fourniture des semences

Les demandes d'examen DHS et la fourniture des semences sont prises en compte dans le respect des dates suivantes :

Type de dossier	Date limite de réception des demandes d'examen DHS	Date limite de réception des semences
OCVV, INOV, accords bilatéraux...)	15 janvier	1 <sup>er</sup> février

Le GEVES réalise l'examen DHS sur la base des informations techniques qu'il reçoit.

### 1.2. Fourniture des semences

Les structures variétales étudiées sont des lignées. Dans le cas où une autre structure génétique est déposée, un protocole particulier devra être défini.

Le demandeur doit fournir au GEVES les échantillons de semences l'année de la demande d'examen dans le respect des quantités suivantes :

Type de matériel	Quantité	Date limite de réception des semences
Lignée	1 kg	1 <sup>er</sup> février

Les semences de la variété ainsi fournies lors du dépôt de la demande constituent l'échantillon de référence initial.

Les semences sont à expédier à l'adresse suivante avec un courrier d'accompagnement faisant état de la liste du matériel contenu dans le colis :

GEVES  
Unité expérimentale Le Magneraud  
Saint Pierre d'Amilly  
CS 40052  
17 700 SURGERES

Les semences fournies doivent être non traitées et de très bonne qualité (pureté spécifique, état sanitaire, faculté germinative, ...). En cas de problème constaté dans les essais (effectif insuffisant, lors de la 1<sup>ère</sup> année), le taux de germination peut être vérifié en laboratoire sur demande du groupe d'experts DHS du CTPS. Un résultat inférieur à 70% constitue un motif de refus. En cas de non-conformité du taux de germination des semences reçues, le GEVES ne saurait être tenu responsable de l'impossibilité de la conduite de l'examen DHS.

Tous les matériels fournis lors de la demande d'examen et non encore étudiés, doivent subir de manière équivalente les épreuves de distinction, homogénéité et stabilité.

## 2. Déroulement de l'examen

Les épreuves de DHS se déroulent en principe sur deux années. Cependant, elles peuvent se prolonger par une ou plusieurs années supplémentaires d'observations si nécessaire.

## 2.1. Collection de référence

La collection de référence est représentative des variétés de l'espèce considérée connues des services officiels français par le biais des catalogues nationaux, du catalogue de l'Union Européenne et de la protection des obtentions végétales. Les cultivars avec des caractéristiques très différentes des variétés en étude peuvent ne pas être inclus systématiquement dans les collections de variétés implantées chaque année.

La collection est constituée à partir des lots fournis par les services officiels homologues ou le responsable du maintien ou encore l'obteneur des variétés concernées. Les échantillons fournis doivent répondre au minimum aux normes de germination appliquées aux variétés en demande d'étude.

A réception, les échantillons sont conditionnés en sachets et conservés en chambre froide à environ 5 C et 30 % d'humidité relative. La conservation de ces échantillons est prévue pour une durée de 10 années, mais dépend de la quantité de semences utilisée et du maintien du taux de germination de la variété au cours des années. Le taux de germination est contrôlé de façon régulière tout au long de la période de conservation de l'échantillon par la Station Nationale d'Essais de Semences, selon les recommandations ISTA.

Le GEVES assure le renouvellement des lots de référence des variétés de la collection lorsque les quantités de semences deviennent insuffisantes ou que la faculté germinative n'est plus satisfaisante. Les procédures appropriées permettant de confirmer que le nouveau lot est conforme à la référence initiale sont mises en œuvre par le GEVES. Le nouveau lot est systématiquement comparé au lot initial de référence au champ, sur l'ensemble des caractères en végétation avant remplacement.

Pour toute difficulté de renouvellement de matériel de référence, le GEVES informe les services demandeurs de l'examen DHS, et notamment l'OCVV qui se réserve le droit de déchoir la variété de son titre de protection.

## 2.2. Matériel étudié : nature et effectif

Les structures variétales étudiées sont des lignées. Dans le cas où une autre structure génétique est déposée, un protocole particulier devra être défini.

Le matériel étudié relève de 2 statuts : en étude ou appartenant à la collection de référence.

Toutefois, la collection de référence n'est pas systématiquement implantée dans son intégralité.

Sont observées sur le terrain :

- Les variétés candidates
- Les variétés de la collection de référence dont le matériel en étude est déclaré proche.
- Certaines variétés de la collection de référence pour le renouvellement des lots de référence

L'effectif global recherché est de 200 plantes par variété et par cycle d'étude à observer.

## 2.3. Dispositif expérimental et conduite culturale

Le GEVES conduit les études DHS sur deux années et sur deux lieux :

- L'Anjouère (Maine et Loire)
- Le Magneraud (Charente Maritime).

Les essais sont conduits dans des conditions normales de culture. La taille des parcelles est telle que l'on peut prélever des plantes ou parties de plantes pour effectuer des mesures sans nuire aux observations ultérieures qui se poursuivent jusqu'à la fin de la période de végétation.

### 2.3.1. Dispositif expérimental

Le matériel observé est de 250 plantes par cycle d'étude, semées en 2 répétitions de 125 plantes environ sur 2 lieux chaque année. L'étude DHS est conduite sur 2 années.

Ce dispositif appelé « collection » permet d'étudier l'homogénéité de la variété en première année, et, si besoin, en deuxième année si les conclusions sont différentes sur les deux premiers cycles, et sa stabilité au cours des deux années d'étude. Ce dispositif permet aussi de décrire toutes les variétés les unes par rapport aux autres et d'établir la fiche descriptive des variétés en fin de deuxième année d'étude.

Les plantes de bordure pouvant être très différentes en raison de leur situation particulière, elles ne sont généralement pas prises en compte pour la description, ni pour l'homogénéité de la parcelle, sauf si le caractère observé est flagrant.

L'ensemble du matériel implanté est codé.

### **Dispositif d'étude de la Distinction « Essai Distinction »**

En 2<sup>ème</sup> année d'étude, les variétés candidates nécessitant une comparaison morphologique côte à côte, sont implantés dans un dispositif spécifique de 2 répétitions nommé « Essai distinction » et implanté sur les 2 sites DHS.

Sinon, la distinction se fait sur le dispositif classique « collection ».

### **2.3.2. Conduite culturale**

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.

#### *Désherbage*

Les désherbages sont réalisés chimiquement avec les produits homologués. Toutefois, les produits pouvant avoir une influence sur le jugement DHS sont proscrits.

Éventuellement, des binages manuels permettent de maintenir les essais dans un état de propreté satisfaisant.

#### *Protection fongicide et insecticide*

Les traitements sont réalisés chimiquement avec les produits homologués. Ces traitements sont appliqués de façon préventive et/ou à la suite d'observations.

## **2.4. Caractères observés**

Le matériel en étude est décrit au minimum sur un lieu d'étude chaque année.

Certains caractères sont notés de façon globale sur la parcelle, si toutefois l'homogénéité du matériel est suffisante.

### **2.4.1. Caractères observés en végétation**

La liste des caractères à observer avec l'échelle et la méthode de notation figure en annexe 1.

#### **Intensité de la couleur verte des feuilles**

Une note est donnée après appréciation globale de la micro-parcelle sur une échelle de 1 à 9.

Ce caractère étant variable en fonction de l'année, il convient d'appréhender la variabilité globale de l'essai (la variété la plus claire et la variété la plus foncée) avant de commencer les notations.

Pour une bonne appréciation de ce caractère, il est préférable de faire les notations par temps couvert, sur feuillage sec.

Libellé	Note	Variétés exemples
Vert clair	3	-
Vert moyen	5	VERA / LIGENA
Vert foncé	7	PRZYBRODZKA

### Pilosité de la face supérieure des feuilles

L'absence (note1) ou la présence (note 9) de pilosité des feuilles est appréciée globalement sur la micro-parcelle.

Libellé	Note	Variétés exemples
Absente	1	-
Présente	9	VERA / LIGENA

### Date d'apparition du bouton floral

La date d'apparition du bouton floral est notée globalement sur les micros-parcelles, lorsque 50% des plantes présentent au moins un bouton floral. Elle est exprimée en quantième de l'année civile.

### Époque de floraison

L'époque de floraison est notée globalement sur les micros-parcelles, lorsque 50% des plantes présentent au moins une fleur ouverte. Elle est exprimée en quantième de l'année civile.

Libellé	Note	Variétés exemples
Précoce	3	
Moyenne	5	CELESTE / SONNY
Tardive	7	EPONA / MACZUGA

### Hauteur à maturité de la plante

La hauteur moyenne de la parcelle est mesurée lorsque toutes les plantes normalement développées n'ont plus de fleurs.

Libellé	Note	Variétés exemples
Courte	3	-
Moyenne	5	CELINE
Haute	7	PINA

### Date de maturité

La date de maturité est notée globalement sur les micros-parcelles, lorsque l'ensemble de la parcelle a atteint le stade phénologique « maturité » (plantes brun/jaune). Elle est exprimée en quantième de l'année civile.

## 2.4.2. Caractères observés au laboratoire

Pour les caractères suivants, 20 plantes ou parties de plantes sont observées par répétition et par lieu, soit 40 mesures par cycle. Ils sont observés sur les plantes matures récoltées et séchées sur les deux sites.

#### - Nombre de nœuds de la tige principale

Libellé	Note	Variétés exemples
Faible	3	-
Moyenne	5	TERRA
Elevé	7	PINA

- **Longueur des tiges** : les mesures sont effectuées à la règle sur la ramification la plus basse entière.
- **Diamètre de la tige principale** : les mesures sont effectuées au pied à coulisse.
- **Longueur de la tige principale** : les mesures sont effectuées à la règle sur la tige principale.

- **Longueur des silicules** : les mesures sont effectuées au pied à coulisse.
- **PMG** : cette mesure est effectuée à partir des graines issues du battage d'un échantillon d'environ 20 plantes par répétition et par lieu d'étude prélevées dans le dispositif en micro-parcelles.

Libellé	Note	Variétés exemples
Faible	3	-
Moyenne	5	TERRA
Élevé	7	-

## 2.5. Caractères additionnels

D'autres caractères phénotypiques, ou biochimiques peuvent être réalisés et complètent les caractères conventionnels à condition qu'ils soient fiables et répétables. Ces caractères devront bien sûr être suffisamment homogènes pour pouvoir être pris en compte.

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 à la charge du demandeur.

## 2.6. Regroupement des variétés

Les variétés sont regroupées sur le terrain selon des caractéristiques de groupement suivantes : précocité à floraison et type de développement (hiver/printemps).

## 2.7. Essais particuliers

Pour une caractéristique particulière mentionnée par l'obteneur et non réalisable dans le cadre des essais habituellement menés (par exemple une mesure destructive), des essais particuliers apportant une aide à la distinction peuvent être entrepris après acceptation du coût supplémentaire par le service demandeur.

Un protocole d'étude est rédigé par le GEVES et mentionne notamment les témoins de référence. Dans le cas d'essais menés à l'extérieur du GEVES, 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.

Le coût de ces tests complémentaires incombe au demandeur.

## 2.8. Traitement des données

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

### 2.8.1. Mesures globales

Les données quantitatives appréciées globalement (hauteur, précocité, ...) sont transformées afin de pouvoir s'inscrire dans une échelle de notation graduée de 1 à 9.

Cette transformation est réalisée lieu par lieu dans la mesure où les répétitions de l'essai dans un lieu sont comparables. Dans le cas contraire, une des répétitions est abandonnée et la transformation est réalisée sur la répétition restante et jugée la plus représentative.

## 2.8.2. Descriptions variétales

Les données descriptives collectées dans les deux lieux d'étude et lors des deux années d'expérimentation sont comparées entre elles afin d'établir la fiche descriptive des variétés en étude. La détermination des notes définitives qui figurent sur les fiches descriptives est réalisée par les techniciens en charge des études DHS en prenant en compte les différences de comportement des variétés entre années et entre lieux.

Un caractère impossible à décrire en raison de trop d'hétérogénéité au sein de la parcelle peut être synonyme de refus DHS.

## 2.8.3. Appréciation de la distinction

L'étude de la distinction comporte deux phases :

La première étape consiste à décrire le matériel pour les caractéristiques morphologiques lors de la première année d'étude.

La seconde étape consiste à comparer si besoin sur le terrain les variétés détectées proches lors de la 1<sup>ère</sup> année d'étude dans un dispositif de terrain facilitant les comparaisons directes (dispositif de distinction). Cette étape a lieu lors de la seconde année d'étude.

### Règles de décision

Pour les caractères mesurés, la distinction est évaluée selon le critère « 2 x 1% ». Le test statistique est basé sur le test bilatéral t de Student des écarts entre les moyennes variétales. Dans ce cas, les variétés doivent être significativement différentes dans le même sens au niveau de 1% pour au moins deux années sur trois pour un ou plusieurs caractères mesurés.

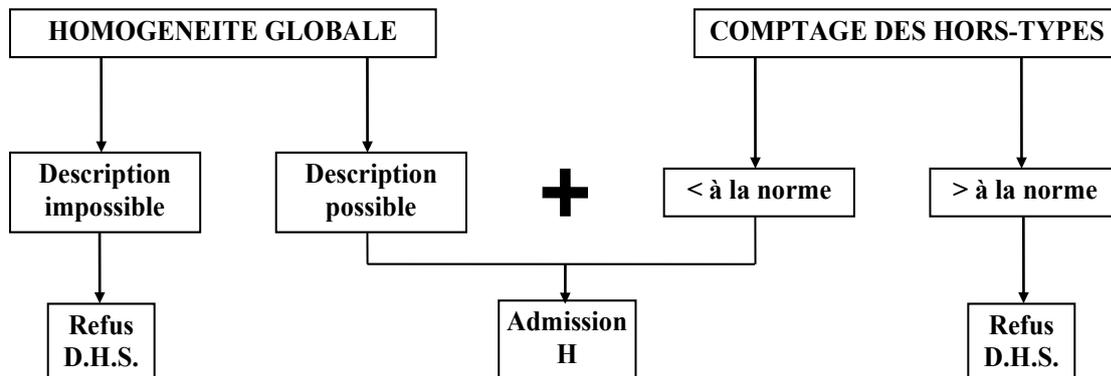
Pour les caractères observés visuellement, la distinction est basée sur les différences visibles en parcelles côte à côte, ou « à dire d'experts » sur la synthèse des 4 descriptions (2 lieux, 2 années).

## 2.8.4. Appréciation de l'homogénéité

L'appréciation de l'homogénéité d'une variété est faite à partir des observations des techniciens en charge des essais DHS sur les parcelles de semences de référence du dispositif collection.

Les observations sont consignées dans les cahiers de terrain de chaque observateur à qui il est demandé de quantifier les différences observées dans la mesure du possible.

Le jugement de l'homogénéité d'une variété se fait selon le schéma suivant :



### ✓ Homogénéité globale de la parcelle :

Il s'agit de vérifier que l'on a bien affaire à une variété suffisamment homogène, c'est à dire à un ensemble de plantes présentant le même phénotype. Ce phénotype doit pouvoir être décrit avec un seul niveau d'expression pour l'ensemble des caractéristiques observées.

L'impossibilité de faire une description unique de la variété est le premier critère de refus pour défaut d'homogénéité.

L'homogénéité globale sera appréciée en faisant abstraction des plantes identifiées comme étant hors types.

✓ Comptage des plantes hors-type :

Les plantes hors-type sont des plantes nettement différentes du type variétal, celui-ci étant représenté par la très grande majorité des plantes de l'échantillon.

Chaque année, l'homogénéité d'une variété est jugée sur la base des observations recueillies dans les deux lieux DHS.

Le nombre maximum de hors-type toléré par cycle indépendant est fixé par le seuil de 2%, loi binomiale avec un risque  $\alpha$  de 5%.

Type de matériel	Normes de pureté	Effectifs observés	Nombre maximum de plantes hors-type toléré
Lignées	niveau de pureté <b>98%</b> $\alpha=5\%$	166-200	7
		201-236	8
		237-273	9

En ce qui concerne les caractères quantitatifs (précocité, hauteur), l'amplitude maximale de variation tolérée pour considérer que les lignées constituent un ensemble homogène est définie chaque année en fonction du comportement des variétés connues présentes dans les essais. Les tolérances sont donc appréciées en fonction de l'effet « année » et de l'effet « lieu ».

La reconnaissance de l'homogénéité d'une variété est établie lors des deux années d'études en considérant les observations faites année par année. En cas de dépassement des seuils de tolérance, la variété est en proposition de refus dès la première année d'étude.

En cas de doute à l'issue de la deuxième année d'études, la variété en question peut être ajournée afin d'être étudiée à nouveau en 3<sup>ème</sup> année.

✓ Caractères quantitatifs

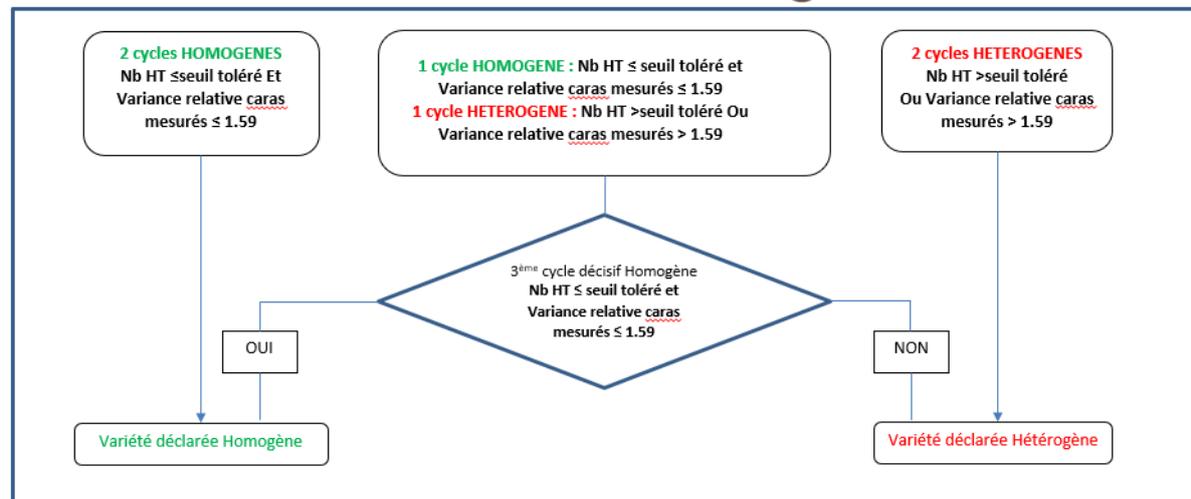
Pour évaluer l'homogénéité de la variété sur les caractères mesurés, la méthode de la variance relative est employée conformément aux recommandations de l'UPOV (TGP/10).

La variance relative pour un caractère donné désigne la variance de la variété candidate divisée par la moyenne de la variance des variétés comparables (Variance relative = variance de la variété candidate/variance moyenne des variétés comparables). Les données doivent être distribuées normalement. La méthode de la variance relative peut être appliquée à tout caractère mesuré qui est une variable continue, quel que soit le mode de reproduction ou de multiplication de la variété. Par "variétés comparables" on entend des variétés du même type au sein de la même espèce ou d'espèces voisines qui ont déjà été examinées et jugées suffisamment uniformes.

Si la variété candidate ne satisfait pas au critère d'homogénéité visuellement au champ ou après l'analyse de ses caractères quantitatifs par rapport aux variétés existantes, elle est refusée pour défaut d'homogénéité.

Dans le cas où le lot de référence d'une variété est hétérogène sur un cycle, et homogène dans le second, un troisième cycle d'homogénéité sera réalisé la deuxième année de l'examen.

## Schéma décisionnel du jugement de l'homogénéité appliqué au lot de référence des variétés :



### 2.8.5. Appréciation de la stabilité

La stabilité ne peut être vérifiée qu'après inscription, dans le cadre de la certification.

Une variété est stable si, à la suite de ses reproductions ou multiplications successives ou à la fin de chaque cycle, elle reste conforme à la définition de ses caractères essentiels.

La stabilité des lignées parentales d'hybrides ne fait pas l'objet d'un test particulier, elle repose pour une large part sur le niveau élevé d'homogénéité requis.

La stabilité d'un hybride commercial ou géniteur repose sur la stabilité de ses constituants parentaux et sur le respect de la formule qui les associe.

## 3. Visite des essais

La confidentialité des essais est assurée par le codage des variétés. Ces essais ne peuvent pas être visités sans la présence d'un agent du GEVES.

Les représentants des services demandeurs ont accès aux parcelles d'essai, sur demande présentée au responsable GEVES concerné. Dans le cadre du CTPS, de l'OCVV et de l'INOV, les essais peuvent être visités par la commission d'experts DHS, nommée respectivement par la Section CTPS concernée et l'INOV.

Sous réserve de l'accord préalable des services officiels demandeurs et du GEVES, les déposants ou les obtenteurs des variétés en étude peuvent également visiter les essais. Dans les mêmes conditions, les représentants d'établissements délégataires peuvent visiter ces essais sur présentation d'une autorisation délivrée par l'obteneur des variétés concernées. Ces visites consistent dans ces deux cas, à une stricte présentation de leurs variétés et des variétés de référence.

## 4. Transmission des résultats d'examen

Sur la base des observations réalisées en cours de végétation, le service demandeur et le déposant ou l'obteneur concernés peuvent venir constater les problèmes en temps utile dans les lieux d'expérimentation après avoir pris rendez-vous avec le/la responsable des études DHS ou le/la technicien(ne) responsable de l'expérimentation.

Différents types de rapports (intérimaire, définitif) sont établis par le GEVES pour chaque demande. Le rapport définitif est accompagné, lorsque l'examen est positif, d'une fiche descriptive comprenant la

liste des caractères morphologiques et physiologiques définis pour chaque espèce et, pour certaines, des caractères additionnels.

Le rapport définitif est établi après la dernière année d'expérimentation pour les variétés dont l'étude est terminée. Dans les autres cas, un rapport intérimaire est élaboré à la fin de chaque année d'expérimentation. Ces rapports sont transmis aux services officiels demandeurs.

**Annexe 1 : liste des caractères observés**

<b>Libellé du caractère</b>	<b>Caractère National</b>	<b>Nature de l'observation</b>	<b>Echelle de note</b>	<b>Unité de mesure</b>
Couleur des feuilles	1	VG	1 à 9	
Pilosité des feuilles	2	VG	1 ou 9	
Date d'apparition du bouton floral	3	MG	1 à 9	Quantième
Epoque de floraison	4	MG	1 à 9	Quantième
Hauteur à maturité de la plante	5	MG	1 à 9	Cm
Date de maturité	6	MG	1 à 9	Quantième
Nombre de nœuds de la tige	7	MS	1 à 9	
Longueur des tiges	8	MS	1 à 9	Cm
Diamètre de la tige	9	MS	1 à 9	Mm
Longueur de la tige principale	10	MS	1 à 9	Cm
Longueur des silicules	11	MS	1 à 9	Mm
PMG	12	MG	1 à 9	G