



EURÓPAI UNIÓ
Közösségi Növényfajta Hivatal

DUS VIZSGÁLATI PROTOKOLL

Triticum aestivum L.emend. Fiori et Paol.

BÚZA

Elfogadva: 2008. 06. 23-án

I - A PROTOKOLL TÁRGYA

A protokoll leírja azokat a technikai eljárás módokat, amelyeket követni kell a Közösségi Növényfajta-védelmi Jogokról szóló 2100/94 sz. Tanácsi rendelet betartása érdekében. A technikai eljárás módokat az Adminisztratív Tanáccsal egyeztettek, és a TG/1/3 általános UPOV dokumentumon és a DUS vizsgálatok lefolytatására vonatkozó 1994. november 4-i TG/3/11 UPOV irányelven alapulnak. A jelen protokoll a *Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol. valamennyi fajtájára vonatkozik.

II - VETŐMAG ÉS EGYÉB NÖVÉNYI ANYAG BENYÚJTÁSA

1. A Közösségi Növényfajta Hivatal (CPVO) felelős azért, hogy a bejelentőt informálja a következőkről:

- a növényi anyag beérkezési határideje;
- a növényi anyag szükséges minimális mennyisége és minősége;
- a vizsgáló hivatal, ahová az anyagot be kell küldeni.

A vizsgálatra benyújtott anyag egy almintáját a Vizsgáló Hivatal referencia gyűjteményében kell őrizni, mint a fajtajelöltek hiteles mintáját.

A bejelentő felelős azért, hogy biztosítsa a vám és növény-egészségügyi követelmények teljesítését.

2. A dokumentáció és a növényi anyag beérkezésének végső határidői a Vizsgáló Hivatalhoz

A vizsgálati kérelmek, a technikai kérdőívek végső határidőit és a növényi anyagok benyújtásának végső határidejét a CPVO és valamennyi kiválasztott Vizsgáló Hivatal határozza meg (ld. alább a 3. pontban).

A Vizsgáló Hivatal felelős a vizsgálati kérelmek és a technikai kérdőívek beérkezésének azonnali visszaigazolásáért. A növényi anyagok beérkezésének végső határideje lejártá után a Vizsgáló Hivatal azonnal értesíti a CPVO-t, ha a megfelelő növényi anyag nem érkezett be. Amennyiben nem megfelelő növényi anyagot nyújtottak be, a CPVO-t mielőbb értesíteni kell erről.

3. Vetőmag követelmények

A technikai vizsgálatok végső határidőinek és a Technikai Kérdőívek CPVO-hoz beküldésének, valamint a bejelentők számára a növényi anyag benyújtási határidejének áttekintése (a vetőmag követelmények változhatnak, az aktuális információ a CPVO weblapján található).

Vizsgáló Hivatal helye	Vizsgálati kérelem	Növényi anyag	Vetőmag követelmények
BELGIUM	tavaszi 12.31. ősz 09.15.	tavaszi 02.01. ősz 09.25.	3 kg vetőmag és 300 egész kalász
DÁNIA	tavaszi 01.20. ősz 09.06.	tavaszi 02.10. ősz 09.06.	5 kg vetőmag és 150 egész kalász; további 3 kg vetőmag és 150 egész kalász a hibrid ismeretlen komponenseihez
FRANCIA-ORSZÁG	tavaszi 01.15. ősz 09.15.	tavaszi 01.31. ősz 09.30.	5 kg vetőmag és 200 egész kalász; minden szülővonalhoz 5 kg vetőmag és 200 egész kalász
NÉMET-ORSZÁG	tavaszi 01.05. ősz 09.01.	tavaszi 01.15. ősz 09.15.	5 kg vetőmag és 120 tavaszi ill. 170 őszi egész kalász. Hibridek: további 5 kg vetőmag és a fenti számú egész kalász minden szülővonalhoz
SPANYOL-ORSZÁG	tavaszi 08.15. ősz 08.01.	tavaszi 09.15. ősz 09.01.	5 kg vetőmag és 150 egész kalász
HOLLANDIA	tavaszi 01.15. ősz 09.25.	tavaszi 02.01. ősz 09.25.	3 kg vetőmag és 200 egész kalász. Hibridek: 2 kg vetőmag és 200 egész kalász minden szülővonalhoz
EGYESÜLT KIRÁLYSÁG	tavaszi 09.22. ősz 08.31.	tavaszi 01.15. ősz 09.15.	3 kg vetőmag és 300 egész kalász. Hibridek: 3 kg vetőmag és 300 egész kalász minden szülővonalhoz

A beadási határidők és vetőmag követelmények a nemzeti kérelmezők számára kerültek megadásra.

Vetőmag minősége: A csírázóképeség, analitikai tisztaság és növényegészség minimális követelményeinek meg kell felelniük a 66/402/EEC sz. EC Irányelvben meghatározott normáknak.

Vetőmag kezelés: A növényi részeket semmilyen kezelésnek (csávázásnak) nem szabad alávetni, kivéve, ha a CPVO és a Vizsgáló Hatóság ezt megengedi vagy előírja. Amennyiben ilyen kezelés történt, a kezelésről teljes körű információt kell adni.

A minta címkézése:

- Faj
- A CPVO-hoz beadott bejelentés aktaszáma
- A nemesítő referenciája
- A Vizsgáló Hivatal referenciája (ha ismert)
- A bejelentő neve
- A „CPVO kérésére” formula

III - VIZSGÁLATOK ELVÉGZÉSE

1. Referencia gyűjtemény

Egy referencia gyűjteményt kell fenntartani a vizsgálatokban résztvevő fajtajelöltek megkülönböztethetőségének megállapíthatósága céljából. A referencia gyűjtemény mind élő növényi anyagot, mint leíró információt tartalmazhat. Egy fajtát csak akkor tesznek be a referencia gyűjteménybe, ha növényi anyag is rendelkezésre áll technikai vizsgálathoz.

A 2100/94 sz. Tanácsi rendelet 7. cikke értelmében egy ilyen gyűjtemény alapját a következők képezhetik:

- EU szinten, vagy legalább az EEA egyik tagországában fajtajegyzékbe vett vagy védett fajták;
- más UPOV tagországokban védett fajták;
- bármely más közismert fajta;
- hibridek esetében a hibrid fajták valamennyi közismert komponensét a referencia gyűjtemény részének kell tekinteni.

A referencia gyűjtemény összetétele minden Vizsgáló Hivatalnál az illető Vizsgáló Hivatal földrajzi helyének megfelelő ökológiai viszonyoktól függ.

A referencia gyűjteményeket olyan körülmények között kell őrizni, amelyek az egyes tételek hosszú távú fenntartását biztosítják. A Vizsgáló Hivatal felelőssége, hogy a megromlott vagy felhasznált referencia anyagot pótolja. Pótló anyag csak akkor kerülhet be a referencia gyűjteménybe, ha megfelelő vizsgálatok bizonyítják, hogy azonos a meglévő referencia anyaggal. Ha bármilyen nehézség merül fel a referencia anyag pótlásával kapcsolatban, a Vizsgáló Hivatalnak értesítenie kell a CPVO-t. Amennyiben egy fajtából nem lehet autentikus növényi anyagot eljuttatni a Vizsgáló Hivatalhoz, azt a fajtát ki kell venni a referencia gyűjteményből.

2. A vizsgálandó anyag

A fajtajelölteket közvetlenül összehasonlítják az ugyanannál a Vizsgáló Hivatalnál vizsgált Közösségi fajtajelöltekkel, és a referencia gyűjteményben szereplő megfelelő fajtákkal. Szükség esetén a Vizsgáló Hivatal más jelölteket és fajtákat is bevonhat a vizsgálatba. A Vizsgáló Hivatalok tegyenek erőfeszítéseket annak érdekében, hogy koordinálják munkájukat a búza DUS vizsgálatában résztvevő más hivatalokkal. Ezért legalább technikai kérdőív csere legyen minden fajtajelöltről, és a vizsgálati időszakban minden Vizsgáló Hivatal értesítse a többieket és a CPVO-t azokról a fajtajelöltekről, amelyeknél a megkülönböztethetőség megállapítása során problémák merülhetnek fel. Egyedi problémák megoldására a Vizsgáló Hivatalok cseréljenek növényi anyagot.

3. A vizsgálandó tulajdonságok

A DUS vizsgálat során vizsgálandó tulajdonságok és a leírások elkészítése a tulajdonságok táblázatában szerepel. Valamennyi tulajdonságot vizsgálni kell, feltéve, hogy egy tulajdonság megfigyelését egy másik tulajdonság kifejeződése nem teszi lehetetlenné, vagy ha egy jellemző kifejeződését azok a környezeti tényezők, melyek között a vizsgálatot végzik, akadályozzák. Utóbbi esetben értesíteni kell a CPVO-t. Ezen kívül egyéb, pl. növény-egészségügyi szabályozások is lehetetlenné tehetik egy tulajdonság megfigyelését.

Az elektroforézissel megállapítható tulajdonságok 2. sz. mellékletben felsorolt listáját csak a morfológiai és fiziológiai jellemzők más különbségeinek kiegészítőjeként kell használni.

Az Adminisztrációs Tanács felhatalmazza az Elnököt az 1239/95 sz. Községi rendelet 23. cikke alapján, hogy további tulajdonságokat azok kifejeződési fokozataival együtt iktasson be az egyes fajták viszonylatában.

4. Fajták csoportosítása

Az összehasonlítható fajtákat és fajtajelölteket csoportokra kell osztani a megkülönböztethetőség értékelésének megkönnyítése érdekében. A csoportosításra azok a tulajdonságok alkalmasak, amelyek a tapasztalatok alapján egy fajtán belül nem vagy csak egy kicsit szórnak, és amelyek különböző kifejeződési fokozataikban egyenletesen oszlanak meg a gyűjteményen belül. Folyamatos csoportosítás esetén az egyes kifejeződési fokozatok átfedése az egymás melletti csoportok között csökkenti a jelöltek helytelen csoportosításának kockázatát. A csoportosításhoz alkalmazható tulajdonságok a következők (CPVO számozás; G a csoportosítás a tulajdonságok táblázatban):

- a) Szalma: szárbél keresztmetszete (10.sz. tulajdonság)
- b) Szálka vagy szálcacsonk jelenléte (14.sz. tulajdonság)
- c) Kalász: színe (16.sz. tulajdonság)
- d) Életforma (25.sz. tulajdonság)

5. A kísérlet végrehajtása és a termesztési feltételek

A vizsgálatok minimális időtartama két független vegetációs periódus. A vizsgálatokat a normális növényfejlődést biztosító körülmények között kell végrehajtani. A parcellaméretet úgy kell megválasztani, hogy a méréshez és számoláshoz szükséges növény vagy növényi rész mennyisége kivehető legyen anélkül, hogy a vegetációs periódus végéig szükséges megfigyeléseket akadályozná.

A kísérlet végrehajtása a következőképpen történik:

Más előírás hiányában minden kísérlet 2000 növényt tartalmazzon, melyeket két vagy több ismétlésben kell elhelyezni. A „szezonális típus” jellemzők kiértékelését legalább 500 növényen kell elvégezni.

Amennyiben kalászutód-sorok használatára kerül sor a vizsgálatot legkevesebb 100 kalászsoron kell lefolytatni.

Hibridek esetén a kísérletnek tartalmaznia kell a szülővonalakat is, és ezeket úgy kell vizsgálni és kiértékelni, mint bármely más szabad beporzású fajtát. Magán a hibrid fajtán a megfigyeléseket legalább 200 növényen kell elvégezni. Az egyes növények megkülönböztethetősége kiértékeléséhez valamennyi megfigyelést 20 növényen vagy növényi részen kell elvégezni.

6. Speciális vizsgálatok

A 2100/94 sz. Tanácsi rendelet 83(3) pontja értelmében a bejelentő vagy a technikai kérdőíven, vagy a vizsgálat során bejelentheti, ha a fajtának van olyan tulajdonsága, ami segítség lehet a megkülönböztethetőség megállapításában. Amennyiben ilyen bejelentés érkezik, és ezt megbízható technikai adatok is alátámasztják, egy speciális vizsgálatot kell elvégezni, feltéve, hogy egy technikailag elfogadható vizsgálati eljárás rendelkezésre áll.

Speciális vizsgálatot végeznek a CPVO Elnökének jóváhagyásával akkor is, ha a megkülönböztethetőség valószínűleg nem mutatható ki a jegyzőkönyvben felsorolt tulajdonságok alapján.

7. Döntési szabályok

a) **Megkülönböztethetőség**

Egy fajtajelölt akkor tekinthető megkülönböztethetőnek, ha megfelel a 2100/94 sz. Tanácsi rendelet 7. pontja követelményeinek.

Egy hibrid megkülönböztethetőségének meghatározására a szülői vonalak és a keresztezési képlet alapján egy elő-kísérleti rendszert kell a következő javaslatok szerint végrehajtani:

- (i) a vizsgálati irányelvek alapján a szülői vonalak leírása;
- (ii) a szülői vonalak eredetiségének megállapításához összehasonlítások a referenciagyűjteménnyel, az 1. sz. mellékletben leírt tulajdonságok alapján, a legjobban hasonlító vonalak kiválasztására;
- (iii) a keresztezési képlet eredetiségének megállapításához összehasonlításuk minden olyan közismert hibridével, amelyek a legjobban hasonló vonalakat tartalmazzák;
- (iv) hasonló képletű fajták esetében a megkülönböztethetőség megállapítása a hibridek között.

Minőségi tulajdonságok:

Azon tulajdonságok esetében, amelyek nem folyamatos kifejeződési fokot mutatnak, két fajta közötti különbség nyilvánvaló, ha a vonatkozó tulajdonságok közül egy vagy több olyan kifejeződéseket mutat, amelyek két különböző fokozatba esnek.

Mennyiségi tulajdonságok:

Azok a tulajdonságok, amelyek folyamatos kifejeződési sort alkotnak az egyik szélső értéktől a másikig, ezek mérhetőek vagy különbségük látható.

Szemmel látható tulajdonságok esetén a két fajta közötti különbség akkor elégséges, ha a vonatkozó tulajdonság kifejeződése legalább egy értéknyi különbséget mutat, figyelembe véve a fajtákon belül megfigyelhető változékonyságot.

Ha a különbséget a legkisebb szignifikáns különbség *t-próbájával* állapítják meg, két fajta között a különbség akkor elegendő, ha ugyanazon irányú szignifikáns eltérés mutatkozik 1 %-os vagy kisebb ($p \leq 0,01$) szignifikancia szinten két egymást követő vagy háromból két vegetációs ciklusban.

Amennyiben a megkülönböztetőséget kombinált több éves megkülönböztetőségi analízissel (COYD) állapítják meg, a két fajta közötti különbség akkor elégséges, ha a vonatkozó tulajdonságok szignifikánsan különböznek 1 %-os vagy kisebb ($p \leq 0,01$) szignifikancia szinten két vagy három éves teszt során.

Amennyiben az ajánlott szignifikációs szint vagy a statisztikai módszerek nem megfelelőek, az alkalmazott módszert pontosan meg kell határozni.

b) Egyöntetűség

Az egyöntetűség megállapítása vizuális becsléssel és az eltérő növények meghatározásával történik.

2000-es mintánál az eltérő növények vagy növényi részek száma nem lehet több 10-nél a 2000-ből (0,3 %-os populációsállandó ≥ 95 %-os valószínűségi szintnél). Azokat a tulajdonságokat, amelyeket 2000 növényi mintán kell megfigyelni, a tulajdonságok táblázatában „B” betű jelöli.

Hibrideknél 200-as mintában az eltérő növények vagy növényi részek száma nem lehet több 27-nél 200-ból (10 %-os populációsállandó ≥ 95 %-os valószínűségi szintnél).

100-as mintánál az egyes kalászsorok, növények vagy növényi részek tulajdonságai egyöntetűségének megállapításánál az eltérő kalászsorok, növények vagy növényi részek száma nem lehet több 3-nál 100-ból (1 %-os populációsállandó ≥ 95 %-os valószínűségi szintnél).

Egy kalászsort akkor tekintenek idegennek, ha abban a kalászsorban egynél több idegen növény van.

Azokat a tulajdonságokat, amelyeket 100 növényi mintán kell megfigyelni, a tulajdonságok táblázatában „A” betű jelöli. Ezekhez az „A”-val jelölt tulajdonságokhoz, az 1 és 24 sz. tulajdonságokat kivéve, az egyöntetűség meghatározása két lépésben történik. Az első lépésben 20 növény vagy növényi rész kerül megfigyelésre. Amennyiben nincsenek eltérő növények, a fajtát egyöntetűnek nyilvánítjuk. Ha több mint 3 eltérő növény található, a fajta nem egyöntetű. Amennyiben 1 és 3 között van az eltérő növények száma, további 80 növényt vagy növényi részt kell megvizsgálni.

Az enzim elektroforézises vizsgálattal kapcsolatban a Hivatal az aktuális UPOV szemléletét követi, a 3. sz. Melléklet I. része szerint. Amennyiben enzim elektroforézis vizsgálatra kerül sor megkülönböztethetőség megállapítására, ugyanazt a populációs állandót és valószínűségi szintet kell alkalmazni, mint a többi tulajdonsághoz. A munka rövidítéséhez szekvenciális analízis végezhető. Ha az elektroforézises tulajdonságok az egyöntetűség hiányát jelzik, ezt nem kell figyelembe venni a megkülönböztethetőség értékelésénél.

c) Állandóság

Egy fajtajelölt akkor tekinthető megfelelő mértékben állandónak, ha nincs olyan bizonyíték, ami arra utalna, hogy nem homogén.

Bármely kísérletben szereplő később benyújtott vetőmag minták esetén a tulajdonságoknak ugyanolyan kifejeződést kell mutatniuk, mint az eredetileg beküldött minták kísérleteiben.

IV - AZ EREDMÉNYEK BEJELENTÉSE

Minden vizsgálati év után az eredményeket összesítik és jelentik a CPVO-nak az UPOV modell szerinti időközi jelentés formájában, melyben minden problémát fel kell tüntetni megkülönböztethetőség, homogenitás és állandóság címszavak alatt. A fajtajelöltek két vegetációs periódus alatt teljesíthetik a DUS követelményeket, de néhány esetben három vegetációs periódusra is szükség lehet. Ha a vizsgálatok elkészültek, az eredményeket a Vizsgáló Hivatalnak meg kell küldenie a CPVO részére az UPOV modell szerinti végső jelentés formájában.

Amennyiben a fajtajelölt megfelel a DUS követelményeknek, a végső jelentéshez egy fajtaleírást csatolnak az UPOV által javasolt formában. Amennyiben nem, meg kell adni, hogy ez miért hiányzik, és a vizsgálati eredmények összegzését a végső jelentésben kell szerepeltetni.

Az időközi és végső jelentéseket a CPVO és a Vizsgáló Hivatal között egyeztetett határidőre kell a CPVO-nak megküldeni.

Az időközi és végső jelentéseket a Vizsgáló Hivatal felelős munkatársának kell aláírnia, és kifejezetten meg kell erősítenie a CPVO kizárólagos rendelkezési jogát.

V - KAPCSOLAT A BEJELENTŐVEL

Amennyiben a vizsgálat közben probléma merülne fel, értesíteni kell a CPVO-t, úgy hogy az információ továbbítható legyen a bejelentőnek. Előzetes állandó megállapodás alapján a bejelentőt közvetlenül is tájékoztatni lehet ugyanakkor, mikor a CPVO-t, különösen akkor, ha ajánlatos a kísérlet megtekintése.

**VI - TULAJDONSÁGTÁBLÁZAT A DUS VIZSGÁLATHOZ ÉS A
FAJTALEÍRÁSHOZ**

CPVO szám	UPOV szám	Tulajdonság	Stádium ¹	Kifejeződési fokozat	Példafajták		Kód
					ősz	tavaszi	
1. (+) ³	1.	Koleoptil: antociános színeződése	09-11 A; VG	hiányzik v. nagyon gyenge gyenge közepes erős nagyon erős	Herzog Niklas Andros Obelisk Albatros	Delos Baldus Planet Briscard -	1 3 5 7 9
2. (+)	2.	Növény: növekedési típusa	25-29 B; VG	felálló félíg felálló átmeneti félíg elterülő elterülő	Castan Frandoc Obelisk Ross Beaver	- Remus Troll - -	1 3 5 7 9
3. (+)	4.	Növény: lehajló zászló- levelű gyako- risága növények	47-51 B; VG	hiányzik v. nagyon kicsi kicsi közepes nagy igen nagy	Apollo Recital Obelisk Frandoc Capitole	- Axona Filou Prinqual -	1 3 5 7 9
4.	5.	Kalászosítás időpontja: (a kalászkák 50 %- ában az első kalászkák lát- hatók)	50-52 B; VG	nagyon korai korai közepes késői nagyon késői	Britta, Aurora Recital Astron Moulin Beaver	Florence Remus Paros Vitus -	1 3 5 7 9
5. (+)	6.	Zászlólevel: levélhü- vely viaszossága	60-65 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge gyenge közepes erős nagyon erős	Cargo Heiduck Agent Orestis Haven	Adonis Ventura Hanno Prinqual Wim	1 3 5 7 9
6.		Zászlólevel: a levél- lemez viaszossága (alsó oldala)	60-65 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge gyenge közepes erős nagyon erős	Shamrock Valoris Pauillac Cezanne Charger	- Josselin Tecnico Torka -	1 3 5 7 9
7.	7.	Kalász: viaszossága	60-69 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge gyenge közepes erős nagyon erős	Soissons Garant Contra Niklas Boxer	Adonis Ventura Paros Combi Wim	1 3 5 7 9

¹ Az optimális fejlettségi állapotot, valamint a vizsgálati módszert minden egyes tulajdonság után szám és betűkód jelzi. A kódok jelentését az 1. melléklet "magyarázatok és vizsgálati módszerek" tartalmazza.

³ Magyarázatot lást az 1. mellékletben.

CPVO szám	UPOV szám	Tulajdonság	Stádium 1	Kifejeződési fokozat	Példafajták		Kód		
					ősz	tavaszi			
8.	8.	Szár: kalásztartó szártag viaszossága	60-69 B; VG	hiányzik	v.	nagyon	Goelent	Adonis	1
				gyenge			Soissons	Ventura	3
				gyenge			Haven	Attis	5
				közepes			Herzog	Nandu	7
				erős			Quotador	Wim	9
9.	9.	Növény: magassága (szalma, kalász, szálka és szálkacsonk)	75-92 B; MG	nagyon alacsony			Courtot	Biscard	1
				alacsony			Konsul	Remus	3
				közepes			Sideral	Ventura	5
				magas			Boxer	Adonis	7
				nagyon magas			Aladin	Vitus	9
10. (+) G	10.	Szár: szárbél vastagsága a metszetben (legfelső internódium közepén)	80-92 A; VG	nagyon vékony			Betres	Dollar	1
				vékony			Orestis	Remus	3
				közepes			Herzog	Nandu	5
				vastag			Forby	Furio	7
				nagyon vastag			Don	-	9
11. (+)	11.	Kalász: alakja profilból	92 B; VG	gúla			Slejner	Filou	1
				párhuzamos			-	-	2
				félíg bunkós			Pane 247	-	3
				bunkós			Beaucham	Prinqual	4
				orsó			p Declis	Nandu	5
12. (+)	12.	Kalász: tömörsége	80-92 B; VG	nagyon laza			Demar 4	-	1
				laza			Castan	Ventura	3
				közepes			Soissons	Hanno	5
				tömött			Forby	Combi	7
				nagyon tömött			-	-	9
13. (+)	13.	Kalász: hossza (szálka és a szálkacsonk kivételével)	80-92 B; MS	nagyon rövid			-	-	1
				rövid			Carat	-	3
				közepes			Ritmo	Arkas	5
				hosszú			Forby	Prinqual	7
				nagyon hosszú			Amifort	-	9
14. (+) G	14.	Szálka vagy szálkacsonk jelenléte	80-92 B; VG	mindentől hiányzik			Futur	Axona	1
				szálkacsonk van			Festival	Furio	2
				szálka van			Soissons	Ventura	3
15.	15.	Szálka vagy szálkacsonk a kalász csúcsán: hossza	80-92 B; MS	nagyon rövid			Herzog	-	1
				rövid			Andros	Combi	3
				közepes			Pagode	Hanno	5
				hosszú			Feidel	-	7
				nagyon hosszú			Gaucha	-	9
16. G	16.	Kalász: színe	90-92 B; VG	fehér			Herzog	Furio	1
				színes			Galle	Prinqual	2

CPVO szám	UPOV szám	Tulajdonság	Stádium 1	Kifejeződési fokozat	Példafajták		Kód d	
					ősz	tavaszi		
17. (+)	17.	Legfelső orsótag: konvex oldalának szőrözöttsége		80-92 A; VG	hiányzik v. nagyon gyenge gyenge közepes erős nagyon erős	Soissons Slejner Beaver Apollo Carat	- Furio Rock Axona -	1 3 5 7 9
18. (+)	18.	Kalászkapelyva: váll szé- lessége (kalászk a kalász középső harmadában)	váll	80-92 A; VG	hiányzik v. nagyon keskeny keskeny közepes széles nagyon széles	Courtot Soissons Sideral Castan Abo	- Wim Furio Filou -	1 3 5 7 9
19. (+)	19.	Kalászkapelyva: alakja (mint a 18.)	váll	80-92 A; VG	ferde lekerekített egyenes kiemelkedő kétcsúcsú	Courtot Forby Herzog Beaver Farnese	- Ventura Prinqual Adonis -	1 3 5 7 9
20.	20.	Kalászkapelyva: hossza (mint a 18.)	fog	80-92 A; VG	nagyon rövid rövid közepes hosszú nagyon hosszú	Aladin Sideral Recital Soissons Courtot	Sunnan Axona Furio Tejo Prinqual	1 3 5 7 9
21. (+)	21.	Kalászkapelyva: alakja (mint a 18.)	fog	80-92 A; VG	egyenes gyengén görbült mérsékelten görbült erősen görbült térdesen megtört	Festival Slejner Courtot Arum -	Lobo Furio Rock - -	1 3 5 7 9
22. (+)	22.	Kalászkapelyva: szőr- özöttsége (mint a 18.)	belső	80-92 A; VG	gyenge közepes erős	Slejner Sideral Declic	Prinqual Furio Tejo	3 5 7
23.	24.	Szem: színe		92 B; VG	fehér piros	Recital, Aurore Soissons	Florence Ventura	1 2
24. (+)	25.	Szem: színeződése	fenolos	92 A; VG	hiányzik v. nagyon világos világos közepes sötét nagyon sötét	- Soissons Orestis Slejner Sideral	- - Prinqual Rock Ventura	1 3 5 7 9
25. (+) G	26.	Életforma		B; VG	ősz átmeneti tavaszi	Slejner Fidel -	- - Nadu	1 2 3

MELLÉKLETEK

I.	1. MELLÉKLET	
	Magyarázatok és módszerek.....	14
	Decimális kódok a gabonafélék növekedési stádiumaihoz.....	21
II.	2. MELLÉKLET	
	Elektroforézis.....	28
III.	3. MELLÉKLET	
	Technikai kérdőív	37

1. MELLÉKLET MAGYARÁZATOK ÉS MÓDSZEREK

A tulajdonságok vizsgálati módszere

A megkülönböztethetőségi és egyöntetűségi vizsgálatok módszereit betűk jelzik.

A	Egyöntetűségi vizsgálatok során a megfigyeléshez 100 darabos növényminta szükséges.
B	Egyöntetűségi vizsgálatok során a megfigyeléshez 2000 darabos növényminta szükséges.
MG	Megkülönböztethetőségi vizsgálatok során növények, ill. növényi részek csoportjának mérése.
MS	Megkülönböztethetőségi vizsgálatok során egyedi növény, ill. növényi rész mérése.
VG	Megkülönböztethetőségi vizsgálatok során növények, ill. növényi részek csoportjának egyszeri megfigyelése

1. Tulajdonság

Koleoptil antociános színeződése

Az antociános színeződés meghatározásának módszere

Vizsgálatonkénti szemek száma 100 szem

A szemek előkészítésea csávázatlan szemeket nedvesített szűrőpapíron lefedett

Petri csészében kell csíráztatni.

A vizsgálat helyelaboratórium vagy üvegház.

Világításmiután a sötétben fejlődő koleoptil hossza elérte az 1 cm-t, mesterséges világításba kell helyezni (nappali fénynek megfelelően) 15.000 luxra folyamatosan 3-4 napig.

Hőmérséklet15-20 °C

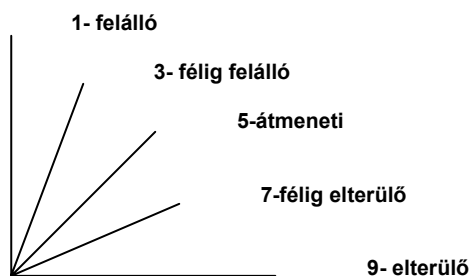
Felvételezés idejeamikor a koleoptil teljesen kifejlődött (kb. 1 hét) a 09-11 stádiumban.

Felvételezési skálalásd 1. tulajdonságnál

Megjegyzésa megkülönböztethetőség vizsgálatához legalább két példafajtát be kell állítani kontrollként.

2. Tulajdonság

Növény: növekedési típusa



A növekedési típust vizuálisan kell becsülni a levelek és a hajtások állása alapján. A külső leveleknek és hajtásoknak a képzeletbeli középső tengellyel bezárt szögét kell felhasználni.

3. Tulajdonság

Növény: a lehajló zászlólevelű növények gyakorisága

1.Minden zászlólevelét egyenesen áll
3.Kb. a növények 1/4-énél a zászlólevelét lehajlik
5.Kb. a növények 1/2-énél a zászlólevelét lehajlik
7.Kb. a növények 3/4-énél a zászlólevelét lehajlik
9.Minden zászlólevelét lehajlik

5. Tulajdonság

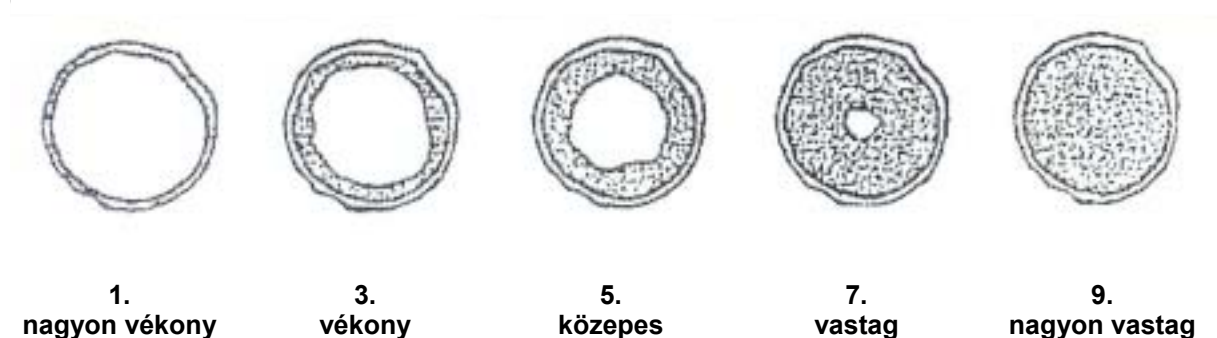
Zászlólevelét: levélhüvely viaszossága

A legerősebb kifejeződésű levélhüvelyen kell megfigyelni.

10. Tulajdonság

Szalma: metszet (az első internódium közepén)

Valamennyi szárát vizsgálni kell, és fel kell jegyezni növényenként a legerősebb kifejeződést.



11. Tulajdonság

Kalász: alakja profilból



12. Tulajdonság

Kalász: tömötsége

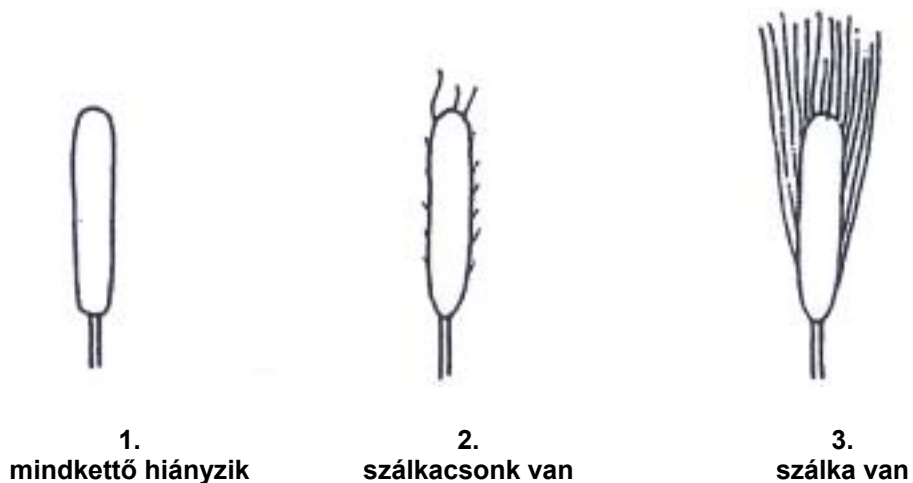
A tömötség megbecsülhető egyrészt vizuálisan, valamint méréssel a kalázkaszám és a kalázhossz aránya alapján.

13. Tulajdonság

Kalász: hossza (szálka és a szálkacsonk kivételével) Főhajtáson lévő kaláson mérendő.

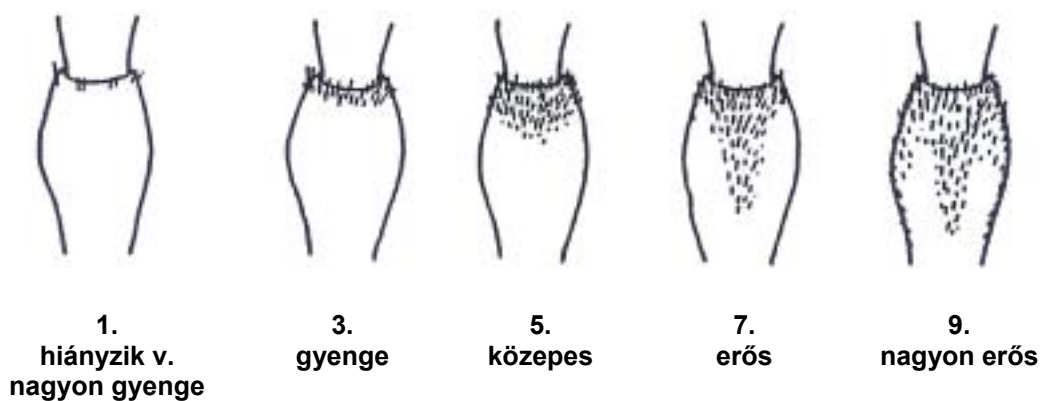
14. Tulajdonság

Szálka vagy szálkacsonk jelenléte



17. Tulajdonság

Legfelső orsótag: konvex oldalának szőrözöttsége



18. Tulajdonság

Kalászkapelyva: váll szélessége (a kalászka a kalász középső harmadában)



1.
hiányzik v.
nagyon gyenge

3.
keskeny

5.
közepes

7.
széles

9.
nagyon széles

19. Tulajdonság

Kalászkapelyva: váll alakja (mint a 18.)



1.
ferde

3.
lekerekített

5.
egyenes

7.
kiemelkedő

9.
kétcsúcsú

21. Tulajdonság

Kalászkapelyva: fog alakja (mint a 18.)



1.
egyenes

3.
kissé görbült

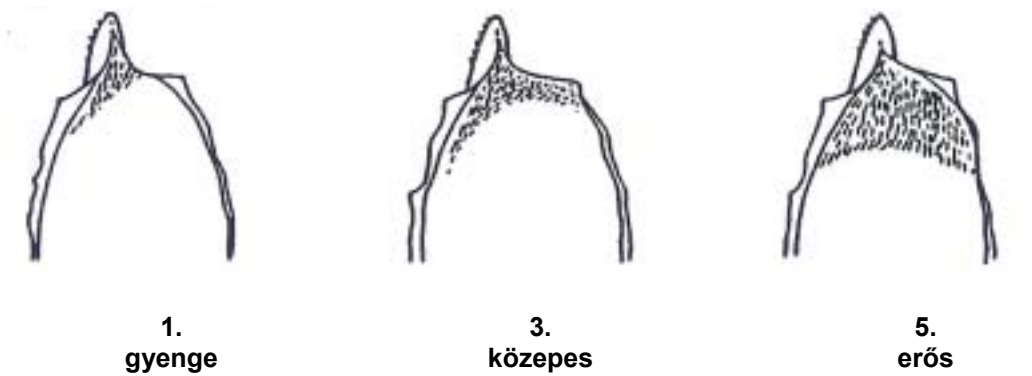
5.
mérsékelten
görbült

7.
erősen görbült

9.
térdesen
megtört

22. Tulajdonság

Kalászkapelyva: belső szőrözöttsége (a kalász középső harmadában)



24. Tulajdonság

Szem: fenolos színeződése

A fenol reakció meghatározásának módszere

A vizsgálati szemek száma.. 100 szem. A szemek ne legyenek kemikáliával kezelvek.

A szemek előkészítése 16-20 óráig csapvízben áztatjuk, majd a vizet leöntjük, a szemek felszínét letöröljük, és a hasi barázdájukkal lefelé forgatjuk.

Az oldat töménysége 1 %-os fenol oldat (frissen készítve)

Az oldat mennyisége a szemeket 3/4 részig lepje el

A vizsgálat helye..... laboratórium

Világítás..... nappali fény - a közvetlen napsugárzás kizárásával

Hőmérséklet 18-20 °C

Felvételezés ideje 4 órával az oldat hozzáadása után

Felvételezési skála lásd a Tulajdonságok táblázatában a 25. tulajdonságnál

Megjegyzés legalább két példafajtát kell beállítani kontrollként

25. Tulajdonság

Életforma

Az életformát egy vagy néhány tavasszal vetett parcellán kell megállapítani. A parcellák közé minden esetben példafajtákat kell vetni. Amikor a példafajták az alábbi leírásnak megfelelően viselkednek, a tanulmányozott fajtákat le lehet írni. Abban az időpontban, amikor a legkésőbbi tavaszi fajta beérett (Eucarpia decimális kódjának 91/92 stádiuma), az illető fajta által elért növekedési stádiumot kell becsülni. A kifejeződési fokozatok a következőképpen határozhatók meg:

Őszi típus..... a növények legfeljebb az Eucarpia decimális kód 45. stádiumát (zászlólevélhüvely megduzzadt) érték el.

Átmeneti típus..... a növények túljutottak az Eucarpis decimális kód 45. stádiumán -és szárbályként túljutottak a 75. stádiumon- és legfeljebb a 90-es stádiumot érték el.

Tavaszi típus a növények túljutottak az Eucarpia decimális kód 90. stádiumán.

DECIMÁLIS KÓDOK A GABONAFÉLÉK NÖVEKEDÉSI STÁDIUMAIHOZ⁴

Decimális kód	Általános leírás	Feekes skála	Kiegészítő megjegyzések búza, árpa, rozs, zab és rizs számára
<u>Csírázás</u>			
00	Száraz szem		
01	Duzzadás kezdete		
02	-		
03	Teljes duzzadás		
04	-		
05	Gyökér megjelenése		
06	-		
07	Koleoptil megjelenése		
08	-		
09	Valódi levél a koleoptil csúcsán		
<u>A növény növekedése</u>			
10	A koleoptilt áthatoló első levél	}	2. levél látható (1 cm)
11	1. levél megjelent (1)		
12	2. levél megjelent	}	Levéllemezek 50 %-ban kifejlődtek
13	3. levél megjelent		
14	4. levél megjelent		
15	5. levél megjelent		
16	6. levél megjelent		
17	7. levél megjelent		
18	8. levél megjelent		
19	9. levél megjelent		
<u>Bokrosodás</u>			
20	Főhajtás egymagában	}	Ez a rész a többi rész azonos kóddal ellátott táblázatának kiegészítő magyarázó jegyzetét szolgál.
21	Főhajtás és 1 bokorhajtás		
22	Főhajtás és 2 bokorhajtás	2	
23	Főhajtás és 3 bokorhajtás		
24	Főhajtás és 4 bokorhajtás	}	
25	Főhajtás és 5 bokorhajtás		
26	Főhajtás és 6 bokorhajtás		
27	Főhajtás és 7 bokorhajtás		
28	Főhajtás és 8 bokorhajtás		
29	Főhajtás és 9 vagy több bokorhajtás		

⁴ EUCARPIA Évkönyv N° 7, 1974, 49-52 p. nyomány készült, a szerzők szíves hozzájárulásával. Bővebb részlet céljából lásd: J. C. Zadoks, T. T. Chang és C. F. Konzak. A francia fordítást R. Cassini és R. Marie készítették. A német fordítást A. O. Klomp és I. Volk készítették.

Decimális kód	Általános leírás	Feekes skála	Kiegészítő megjegyzések búza, árpa, rozs, zab és rizs számára	
<u>A szár hosszanti növekedése</u>				
30	(Szárhajítás) (A föld feletti rész kiegyenesedése.) Szárbaszökés (2)	4-5	A rizsnél: eltolódott vegetatív fázis	
31	1. bokrosodási csomó megjelenése	6	} } Egyetlen stádium Bokrosodási csomók (nóduszok) megjelenése	
32	1. bokrosodási csomó megjelenése	7		
33	1. bokrosodási csomó megjelenése			
34	1. bokrosodási csomó megjelenése			
35	1. bokrosodási csomó megjelenése			
36	1. bokrosodási csomó megjelenése			
37	A zászlós levél látható	8		
38	-			
39	A zászlós levél nyelvecskéje éppen látható		Rizsnél: ellentett fülecske stádium	
<u>Duzzadás</u>				
40	-			
41	Az utolsó levél (zászlós levél) hüvelyének tágulása		A virágzat enyhet növekedése - duzzadás kezdete	
42	-			
43	Duzzadás alig látható	} 10	50 %-os duzzadás	
44	-			
45	Duzzadás (kalász hasban)	} 10	Duzzadás vége	
46	-			
47	A zászlóslevél levélhüvelyének megnyílása	} 10.1	Kizárólag a szálkás formáknál	
48	-			
49	Az első szálkák láthatók			
<u>Kalászolása</u>				
50	} A virágzat első kalászkája alig látható	} N	} } 10.2 N = kiegyenlítettlen fejlődés S = kiegyenlített fejlődés	
51				S
52	} A virágzat 1/4 kint van	} N		
53				S
54	} A virágzat 1/2 kint van	} N		
55				S
56	} A virágzat 3/4 kint van	} N		
57				S
58	} A virágzat teljesen kint van	} N		
59				S
<u>Virágzás</u>				
60	} Virágzás kezdete	} N	} } 10.51 Árpánál nehezen megfigyelhető Rizs: ált. a kalászolást közvetlenül követi	
61				S
62				-
63	-			
64	} 50 %-os virágzás	} N	} } 10.52	
65				S
66	-			
67	-			
68	} Teljes virágzás	} N	} } 10.53	
69				S

Decimális kód	Általános leírás	Feekes skála	Kiegészítő megjegyzések búza, árpa, rozs, zab és rizs számára
	<u>Teljes állapot</u>		
70	-		
71	A szemtermés érésének folyékony állapota	10.54	
72	-		
73	Teljes állapot kezdete	} 11.1	} A folyékony magbelső kemé-nyedése állapítható meg, amikor a szemtermést szétmorzsolják az ujjak között.
74	-		
75	Teljes állapot közepe		
76	-		
77	Teljes állapot vége		
78	-		
79	-		
	<u>Viasz állapot</u>		
80	-		
81	-		
82	-		
83	Viasz állapot kezdete	} 11.2	} Köröm próba nem lehetséges
84	-		
85	Puha viasz állapot		
86	-		
87	Kemény viasz állapot		Körömpróba lehetséges a vi-rágzat elveszíti klorofiltartalmát
88	-		
89	-		
	<u>Érés</u>		
90	-		
91	A szemtermés kemény (nehéz körömmel át-vágni) (3)	11.3	Rizs: csúcsi kalászkák érettek
92	A szemtermés kemény (többé nem lehet körömmel behasítani) (4)	11.4	Rizs: a kalászkák több mint 50 %-a beérett
93	Szemtermés csépelhető		Rizs: a kalászkák több mint 90 %-a beérett
94	Túlérés, a szalma elszáradt és földre hajlik		
95	Vetőmag dormencia állapotban		
96	50 %-ban csírázó vetőmag		
97	Teljes csírázási értékű vetőmag		
98	Másodlagos indukált dormencia		
99	Másodlagos kelési dormencia		
	<u>Kipalántázás és újraelés (kizárólag rizsnél)</u>		
T ₁	Palánták kiszedése		
T ₂	-		
T ₃	Legyökerezése		
T ₄	-		
T ₅	-		
T ₆	-		
T ₇	A palánták megeredése		

T₈ -
T₉ A vegetatív növekedés újraindulása

Megjegyzés a gabonafélék fejlődési fázisai decimális kódjainak táblázatához

- (1) A növények tenyészházi rozsdafertőzésének stádiuma.
- (2) Kizárólag azon gabonaféléknél, amelyek morfológiai megjelenése az elterülő vagy félig elterülő a korai stádiumban.
- (3) Érettség a kévekötő-aratógéppel történő betakarításhoz (kb. 16 % víztartalom).
- (4) Érettség aratva-csépeléshez (16 %-nál kisebb víztartalom).
- (5) Optimális aratási időpont.

2. MELLÉKLET

ELEKTROFORÉZIS

Újabb hasznos magyarázat

<u>TARTALOMJEGYZÉK</u>	<u>OLDAL</u>
1. rész Bevezetés	28
2. rész Elektroforézis alkalmazásával kapott tulajdonságok	29
3. rész Alkalmazott módszerek leírása	30

1. rész

Bevezetés

A következő melléklet az elektroforézis felhasználásával kapott tulajdonságok listáját valamint az alkalmazandó módszerek leírását tartalmazza. Az UPOV úgy határozott, hogy ezeket a tulajdonságokat a vizsgálati irányelvekhez mellékletként adja meg -ezzel a tulajdonságok külön kategóriáját képezve- mivel az UPOV tagállamok többségének az a véleménye, hogy a megkülönböztethetőség nem alapulhat egyedül egy, az elektroforézis segítségével megadott tulajdonság különbözőségén. Ilyen tulajdonságok csak más morfológiai vagy fiziológiai tulajdonságok kiegészítéseként használhatók fel. Az UPOV ezeket a tulajdonságokat hasznosnak tekinti, azonban a megkülönböztethetőség megállapításához önmagában nem tartja elegendőnek. Rutinszerűen a módszert nem kötelező alkalmazni, a fajtajelölt bejelentőjének egyetértésével vagy javaslatára azonban elvégezhető.

A HMW-gluteninek analízisére nátrium-laurilszulfát jelenlétében végzett poliakrilamid-gélelektroforézist (SDS-PAGE) használnak. A glutenineket három, az 1-es kromoszóma csoport hosszú karján lévő Glu-A1, Glu-B1 és Glu-D1-gyel jelölt lókuszek kódolják (Payne, 1987.). Minden lókuszon több allél fordulhat elő, a HMW-gluteninek analízise ezen alléloknak -a gélen jól definiálható sáv vagy sávmintázatként jelentkező- proteinek alapján történő felismerésén alapszik. Az allélok jelölése Payne és Lawrence, 1983 (Id. IX. rész: Irodalom) által definiált sávszámzáson alapul. A megfelelő betűket és az elfogadott molekulatömegeket az alkalmazott módszer leírásánál közlik.

2. rész

Az elektroforézis alkalmazásával kapott tulajdonságok

Sorszám	Tulajdonság megnevezése	Előforduló sávok	Példafajta	Allél azonosító száma
27. (+)	Glutenin összetétel: Glu-A1 lókuszon megjelenő allélok	1	Kadett	1
		2*	Courtot	2
		n	Talent	3
28. (+)	Glutenin összetétel: Glu-B1 lókuszon megjelenő allélok	6 + 8	Norman	1
		7 + 8	Courtot	2
		7 + 9	Kadett	3
		7 (vagy 7+9 ha a 29-es tulajdonságnál 5+10 van jelent)	Okapi	4
		13 + 6	Carala	5
		14 + 15	Troll	6
		17 + 18	Moulin	7
		20	Figaro	8
		6.1 + 22	Schwabenkorn	9
29. (+)	Glutenin összetétel: Glu-D1 lókuszon megjelenő allélok	2 + 12	Courtot	1
		3 + 12	Norman	2
		4 + 12	Talent	3
		5 + 10	Kadett	4

3. rész

Alkalmazott módszerek leírása

Glutenin összetétel: Glu-A1 (27), Blu-B1 (28) és Glu-D1 (29) lókuszokon előforduló allélok

SDS PAGE módszer a T. aestivum HMW-gluteninjének vizsgálatára

1. Készülékek

Bármely - a gél állandó hőmérsékletét biztosító - vertikális elektroforézis készülék használható. Ajánlott az 1,5 mm-nél kisebb gélvastagság. A felhasznált tápegység mind az állandó áramerősség, mind az állandó feszültség biztosítására alkalmas legyen.

2. Vegyszerek

A felhasznált vegyszerek legalább analitikai tisztaságúak legyenek.

Akrilamid (elektroforézis céljára tisztított)
N, N'-Metilén-bisz-akrilamid (BIS) (elektroforézis céljára tisztított)
Trisz-(hidroxi-metil)-amino-metán (TRIS)
Nátrium-lauril-szulfát (SDS)
Ammónium-peroxi-diszulfát (APS)
2-Klóretanol
2-Merkapto - etanol
N, N, N', N'-Tetrametil-etilén-diamin (TEMED)
Triklór-ecetsav (TCA)
Sósav (HCl)
Ecetsav
Glicin
n-Butanol
Pyronin Y (vagy G)
Glicerín (d=1.256)
Metanol
Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB R - 250)
Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBB G - 250)

3. Oldatok

3.1. Extrakciós oldat

3.1.1. Glutenin extrakció

Törzsoldat:

6.25 ml gyűjtőgél - puffer
12.05 ml desztillált víz
2 g SDS
10 mg pyronin Y (vagy G)
10 ml glicerín
Az oldat 4 °C-on két hónapig tárolható.

Az extrakciós oldatot közvetlenül felhasználás előtt készítjük:

4.25 ml törzsoldatot (1. fenn) és 0,75 ml 2-merkaptó-eanol desztillált vízzel 1 l-re töltünk. Az oldat nem tárolható.

3.1.2. Gliadon extrakciót követő glutenin kivonás

A oldat: 25 ml 2-klóretanolt és 50 mg pyronin Y (G)-t desztillált vízzel 100 ml-re töltünk.
B oldat: 27,0 g karbamidot, 3,0 ml 2-merkaptó - etanolt és 10 g SDS-t desztillált vízzel 100 ml-re töltünk.

3.2. Elektród puffer

Törzsoldat:

141,1 g glicin

30,0 g TRIS

10,0 g SDS

desztillált vízben oldva, és desztillált vízzel 1 l-re töltve

Közvetlenül felhasználás előtt a törzsoldatot desztillált vízzel 1:10 arányban hígítjuk.

A törzsoldatot szobahőmérsékleten 2 hónapig tárolhatjuk. A hígított puffert 1 hétnél tovább ne tároljuk. A puffer pH-ja 8.3 legyen.

3.3. Gélkészítéshez szükséges oldatok

3.3.1. Elválasztógél - puffer törzsoldat (1M TRIS HCl, pH 8.8)

121,14 g TRIS-t desztillált vízben oldunk és kb. 20 ml HCl (d=1,19) hozzáadunk. Desztillált vízzel 1 l-re feltöltjük. A puffer 4 °C-on két hónapig tárolható.

3.3.2. Gyűjtőgél - puffer törzsoldat (1M TRIS HCl, pH 6.8)

121,14 g TRIS-t desztillált vízben oldunk és kb. 78 ml HCl (d=1,19) hozzáadunk. Desztillált vízzel 1 l-re feltöltjük. A puffer 4 °C-on két hónapig tárolható.

3.3.3. 10 %-os (w/v) SDS - oldat

10 g SDS-t desztillált vízben oldunk, és desztillált vízzel 100 ml-re töltjük. Az oldat 4 °C-on két hónapig tárolható. Felhasználás előtt az esetleg kivált SDS-t óvatos melegítéssel és keveréssel ismét oldatba visszük.

3.3.4. 10 %-os (w/v) APS - oldat

1 g APS-t desztillált vízben oldunk, és desztillált vízzel 10 ml-re töltjük. Az oldatot közvetlen felhasználás előtt kell készíteni.

3.3.5. Akrilamid - törzsoldat

40,02 g akrilamidot desztillált vízben oldunk, és desztillált vízzel 100 ml-re töltjük.

3.3.6. Bisz - akrilamid - törzsoldat

0,5198 g BIS-t desztillált vízben oldunk , és desztillált vízzel 130 ml-re töltjük.

3.4. Festőoldat

3.4.1. 0,25 g CBB G-250-t és 0,75 g CBB R-250-t desztillált vízben oldunk, majd desztillált vízzel 100 ml-re töltjük.

3.4.2. 55 g TCA-t, 65 ml ecetsavat, 180 ml metanolt és 25 ml 3.4.1. oldatot desztillált vízzel 1 l-re töltjük.

4. Eljárás

4.1. Fehérje extrakció

4.1.1. Glutenin extrakció

A szemeket egyenként összetörjük, lezárható polipropilén csövekben (3 ml-es Eppendorf csövekben) az extrakciós oldattal (3.1.1.) szuszpendáljuk. A szem/extrakciós oldat arány 50 mg/0,75 ml. A mintákat szobahőmérsékleten 2 óráig extraháljuk, közben a szuszpenziót Vortex mixerrel többször megkeverjük, majd 10 percig forrásban lévő vízfürdőbe tesszük.

Ezután a mintákat lehűtjük, és 18.000 g mellett 5 percig centrifugáljuk.

4.1.2. Gliadin és glutenin egymást követő extrakciója

Lehetőség van arra, hogy a gliadint és a glutenint ugyanabból a szemből vizsgáljuk. Először a gliadint extraháljuk úgy, hogy a mikrocentrifuga csőben lévő az összetört szemhez 0,25 ml A oldatot (3.1.2.) adunk, és a szuszpenziót éjszakán át szobahőmérsékleten inkubáljuk. Ezt követően 0,5 ml B oldat (3.1.2.) hozzáadása után szobahőmérsékleten, éjszakán át extraháljuk a glutenint. A felvitt minta mennyisége a gélvastagságtól és a mintahelyek nagyságától függ (általában 15-25 µl).

4.2. Gélkészítés

A tiszta és száraz gélkazettákat a kiképzésnek megfelelően összeszereljük. Amennyiben a kazetták összeszereléséhez ragasztóanyagot használunk, tanácsos a kazettákat legalább egy nappal a felhasználás előtt összeszerelni, hogy a ragasztóanyag "öregedjen", és jobban tartson.

4.2.1. Elválasztógél (10 % akrilamid, pH 8.8)

Két 180 x 160 x 1,5 mm méretű gél készítéséhez szükséges oldat:

- 20 ml akrilamid - törzsoldat (3.3.5.)
- 26 ml bisz - akrilamid - törzsoldat (3.3.6.)
- 30 ml elválasztógél - puffer törzsoldat (3.3.1.)

Szobahőmérsékletű oldatokat használunk.

Az elegyet 100 ml-es szívópalackban 2-3 percig gázmentesítjük.

Ezután a következőket adjuk hozzá:

- 2 ml APS (3.3.4.)
- 0.8 ml SDS (3.3.3.)
- 40 µl TEMED (az eredeti üvegből használjuk)

A géloidatot óvatosan öntsük a kazettába, kerülve a buborékképződést. Hagyjuk a kazetták szobahőmérsékleten amíg a gél polimerizálódik. A gélkazettát ne töltsük teljesen tele, hagyjunk helyet (3-4 cm) a gyűjtőgélnek. A gél felszínére óvatosan egy csepp n-butanolt (vagy desztillált vizet) viszünk. A polimerizáció befejeztével (kb. 30 perc) a gélfelszint desztillált vízzel gondosan átöblítjük, és szűrőpapírral szárítjuk.

4.2.2. Elválasztógél (7 % akrilamid, pH 8.8)

A 2 és 2* elválasztására 7 % koncentrációjú gélt alkalmazunk.

Két 180 x 160 x 1,5 mm méretű gél készítéséhez szükséges oldat:

- 14 ml akrilamid - törzsoldat (3.3.5.)
- 6 ml desztillált víz
- 26 ml bisz - akrilamid - törzsoldat (3.3.6.)
- 30 ml elválasztógél - puffer törzsoldat (3.3.1.)

Szobahőmérsékletű oldatokat használunk.

Az elegyet 100 ml-es szívópalackban 2-3 percig gázmentesítjük.

Ezután a következőket adjuk hozzá:

- 2 ml APS (3.3.4.)
- 0.8 ml SDS (3.3.3.)
- 40 µl TEMED (az eredeti üvegből használjuk)

A géloidatot óvatosan öntsük a kazettába, kerülve a buborékképződést. Hagyjuk a kazetták szobahőmérsékleten amíg a gél polimerizálódik. A gélkazettát ne töltsük teljesen tele, hagyjunk helyet (3-4 cm) a gyűjtőgélnek. A gél felszínére óvatosan egy csepp n-butanolt (vagy desztillált vizet) viszünk. A polimerizáció befejeztével (kb. 30 perc) a gélfelszint desztillált vízzel gondosan átöblítjük, és szűrőpapírral szárítjuk.

4.2.3. Gyűjtőgél (3 % akrilamid, pH 8.8)

50 ml-es szívópalackban a következő oldatot készítjük el:

- 14,5 ml akrilamid - törzsoldat (3.3.5.)
- 2,15 ml bisz - akrilamid - törzsoldat (3.3.6.)
- 2,50 ml gyűjtőgél - puffer (3.3.2.)
- 13,15 ml desztillált víz

Buborékmentesítés után hozzáadunk:

- 0,75 ml APS (3.3.4.)
- 0.2 ml SDS (3.3.3.)
- 15 µl TEMED (az eredeti üvegből használjuk)

Óvatos keverés után a gyűjtőgél azonnal az elválasztógélre töltjük. A mintahelyek kialakítására buborékmentesen behelyezzük a fésűt. 2 óráig szobahőmérsékleten hagyjuk megkötni. A fésűt eltávolítjuk, és a mintahelyeket elektrodpufferrel (3.2.) átöblítjük.

4.3. Elektroforézis

Az elektroforézis készülék tartályát feltöltjük megfelelő mennyiségű, 15 °C-os elektrodpufferrel. A minta felvitelt követően az elektroforézist 8 mA/cm² állandó áramerősséggel végezzük, amíg a pyronin Y/G jelzőfesték áthalad a gyűjtőgélben. Ez után az áramerősséget 16 mA/cm²-re (maximum 300 V-ig) emeljük. Az elektroforézis során a hőmérsékletet 15 °C-on tartjuk. Amikor a jelzőfesték eléri a gél végét az elektroforézist leállítjuk.

4.4. Fixálás és festés

A gélkazettát az elektroforéziskamrából kivesszük, szétnyitjuk. A géleket 250 ml 15 %-os (w/v) triklórecetsav-oldatban legalább 30 percig fixáljuk, desztillált vízzel öblítjük, és éjszakán át 250 ml festőoldatban (3.4.2.) szobahőmérsékleten festjük. Általában nem szükséges a festékfelesleg eltávolítása. A géleket desztillált vízzel mossuk, és polietilén tasakban tároljuk.

Más festés is alkalmazható (mint pl. TCA-ban oldott Coomassie Brilliant Blue G vagy azzal egyenértékű). A korrekt értékeléshez a javasolt példafajtákat a gél több részén meg kell vizsgálni. Az eljárás - mind a gélkészítés, mind a festés - akkor kielégítő, ha a vizsgált sávok elválasztása megfelelő és relatív mobilitása (molekulatömege) egyértelműen megállapítható.

Glutenin allélok felismerése

A fent leírt allélokat szemlélteti és a különböző sávok felismeréséhez nyújt segítséget a táblázat. A táblázat minden lókuszra tartalmazza a glutenin sávoknak a Courtot példafajtához viszonyított helyzetét, a molekulatömegét, valamint a Payne féle sávszámozást, ezenkívül feltünteti a Payne és Lawrence (1983) szerinti betűjelzést.

HMW-Glutenin alegységek: az egyes sávok elnevezése és a megfelelő allélok felismerése

Characteristic 27: Glu-A1 locus

	Example Variety (Courtot)	Note		
		1 (a)	2 (b)	3 (c)
1	(113)---	1---		
2/2*	(108)---	2/2*---	2*---	n (no band)
3	(107)---			
4	(106)---			
5	(105)---			
6	(100)---			
6.1	(99)---			
7	(98)---	7---		
13/14/	(94)---			
20				
15	(91)---			
16/	(90)---			
17/18	(89.5)			
22	(87)---			
8	(86)---	8---		
9/10	(83)---			
12	(80)---	12---		

Characteristic 28: Glu-B1 locus

	Example Variety (Courtot)	Note								
		1 (d)	2 (b)	3 (c)	4 (a)	5 (f)	6 (h)	7 (i)	8 (e)	9
1	(113)---									
2/2*	(108)---	2/2*---								
3	(107)---									
4	(106)---									
5	(105)---									
6	(100)---	6---								
6.1	(99)---									6.1---
7	(98)---	7---	7---	7---	7---					
13/14/	(94)---					13---	14---		20---	
20							15---			
15	(91)---					16---		17/18---		
16/	(90)---									
17/18	(89.5)									
22	(87)---									22---
8	(86)---	8---	8---	8---						
9/10	(83)---			9---						
12	(80)---	12---								

Characteristic 29: Glu-D1 locus

Example Variety (Courtot)		Note			
		1 (a)	2 (b)	3 (c)	4 (d)
1	(113)---				
2/2*	(108)---	2/2*---	2---		
3	(107)---		3---		
4	(106)---			4---	
5	(105)---				5---
6	(100)---				
6.1	(99)---				
7	(98)---	7---			
13/14/ 20	(94)---				
15	(91)---				
16/ 17/18	(90)---				
22	(89.5)				
8	(87)---				
8	(86)---	8---			
9/10	(83)---				10---
12	(80)---	12---	12---	12---	12---

Megjegyzés: Bizonyos sávok (pl.: 9-es és 10-es sáv) molekulatömege hasonló. Ennek következtében a 29-es tulajdonságnál 5+10-es sávok jelenlétében a 28-as tulajdonságnál a 7-es vagy a 7+9-es sáv jelenléte egymástól nem különböztethető meg. Ezért ha a 29-es tulajdonságnál 5+10-es sáv van jelen, a 28-as tulajdonságnál a 4-es azonosító szám jelenti vagy a 7-es vagy a 7+9-es sáv jelenlétét. A többi hasonló molekulatömegű sáv egymástól megkülönböztethető, mivel rendszerint más sávval együtt jelenik meg. A 28-as tulajdonságnál a 13-as sáv mindig a 16-os sávval, a 14-es sáv mindig a 15-ös sávval együtt jelenik meg, míg a 20-as sáv önállóan marad.

3. MELLÉKLET



European Union
Community Plant Variety Office

Bejelentés dátuma/
Application date /...../.....

Nyilvántartási szám/
File number /.....
(nem a bejelentő tölti ki / not to be filled in
by the applicant)

TECHNIKAI KÉRDŐÍV TECHNICAL QUESTIONNAIRE

-
1. 1. Botanikai taxon: a nemzetség, faj, alfaj latin neve, amelyhez a fajta tartozik és a magyar neve /
Botanical taxon: Latin name of the genus, species or sub-species to which the variety belongs
and common name

Faj / Species ***Triticum aestivum L.***
BÚZA / WHEAT

-
2. Bejelentő: neve és címe, telefon és telefax száma és a képviselő neve és címe /
Applicant (s): Name (s) and address(es), phone and fax number(s) and where appropriate
name and address of the procedural representative

-
3. Fajtanév / Variety denomination

a) Ahol rendelkezésre áll, ott javaslat a fajtanévre /
Where appropriate proposal for a variety denomination

.....

b) Előzetes fajtanév (nemesítői referencia) /
Provisional designation (breeders reference)

.....

4. Információk a fajta eredetéről, fenntartásáról és szaporításáról / Information on origin, maintenance and reproduction of the variety

- 4.1. Nemesítés, fajtafenntartás és szaporítás / Breeding, maintenance and reproduction of the variety
Kérem, jelezze a nemesítési képletet, a szülőket és egyéb ide vonatkozó információt / Please indicate breeding scheme, parents, other relevant information

Hibridek esetén kérem jelezze a keresztezési képletet és válaszolja meg az 5.1. és 5.6. pontok kérdéseit a hibrid komponensek vonatkozásában is / In case of hybrids, please indicate the formula and answer 5.1. to 5.6. also for each component of the hybrid

- 4.2. A fajta földrajzi eredete: ország vagy régió, ahol a fajtát nemesítették vagy felfedezték és továbbfejlesztették/ Geographical origin of the variety: the region and the country in which the variety was bred or discovered and developed

5. A fajta közlendő tulajdonsági (a zárójelben megjelölt szám a vizsgálati irányelvben megadott kifejeződési fokozatra utal; kérjük, hogy azt, amelyhez a fajta legközelebb van kereszttel jelölje meg) /
Characteristics of the variety to be given (the number in brackets refers to the corresponding characteristic in Test Guidelines; please mark the state of expression which best corresponds)

	Tulajdonságok / Characteristics	Magyar / Hungarian	Angol / English	Példafajták / Example Varieties	Kód/ Note
5.1. (25)	Életforma / Seasonal type	őszti típus járó típus tavaszi típus	winter type alternative type spring type	Slejpner Fidel Nandu	1 [] 2 [] 3 []
5.2. (4)	Kalászkodás ideje (amikor az első kalászkák a kalászok 50 %-án látható, a fajta és két hasonló közismert fajta kalászkodási dátumát kell megadni) / Time of ear emergence (first spikelet visible on 50 % of ears; quote mean date of heading of variety as well as of two well-known comparable varieties)				
5.3. (9)	Növény: magasság (szár, kalász, szálkacsonk; a fajta magasságát és két közismert hasonló fajtáét kérjük megadni) / Plant: length (stem, ear, awns and scurs; quote height of variety as well as of two well-known comparable varieties)				

	Tulajdonságok / Characteristics	Magyar / Hungarian	Angol / English	Példafajták / Example Varieties	Kód/ Note
5.4. (10)	Szár: a szárbél vastagsága a keresztmetszetben (a kalász és az alatta lévő szárcsomó közötti rész közepén) / Straw: pith in cross section (halfway between base of ear and stem node below)	vékony közepes vastag	thin medium thick	Orestis; Remus Herzog; Nandu Forby; Furio	3 [] 5 [] 7 []
5.5. (16)	Kalász: színe / Ear: colour	fehér színes	white colored	Herzog; Furio Gallo; Prinqual	1 [] 2 []
5.6. (14)	Szálka vagy szálkacsonk jelenléte / Awns or scurs presence	mindkettő hiányzik szálkacsonk van szálka van	both absent scurs present awns present	Futur; Axona Festival; Furio Soissons; Ventura	1 [] 2 [] 3 []

6. Hasonló fajták és a eltérések ezektől a fajtáktól / Similar varieties and differences from these varieties

A hasonló fajták megnevezése / Denomination of similar variety	Tulajdonságok, amelyekben a hasonló fajta különbözik ^{o)} / Characteristic in which the similar variety is different ^{o)}	A hasonló fajta kifejeződési fokozata / State of expression of similar variety	A fajtajelölt kifejeződési fokozata / State of expression of candidate variety
---	--	---	---

^{o)} Mindkét fajta azonos kifejeződési foka esetén kérjük jelölje meg a különbség nagyságát. /
In the case of identical states of expressions of both varieties, please indicate the size of the difference.

7. Kiegészítő információk a fajta megkülönböztethetőségének megkönnyítéséhez /
Additional information which may help to distinguish the variety

7.1. Kórokozókkal és kártevőkkel szembeni rezisztencia / Resistance to pests and diseases

7.2 Különleges feltételek a fajta vizsgálatához / Special conditions for the examination of the variety

Igen, kérjük részletezze / Yes, please specify

Nem / No

7.3. Egyéb információk / Other informations

8. GMO információk / GMO-information required

A fajta GMO-nak minősül-e a Tanács 2001/18/EK irányelve értelmében? / The variety represents a Genetically Modified Organism within the meaning of Article 2(2) of Council Directive EC/2001/18 of 12/03/2001

Igen / Yes

Nem / No

Ha igen, kérem csatolja a felelős hatóság írásos nyilatkozatát, mely szerint a fajta technikai vizsgálata a 2100/94/EK rendelet 55 és 56 pontja alapján a fenti irányelv előírásaival összhangban nem jelent veszélyt a környezetre./ If yes, please add a copy of the written attestation of the responsible authorities stating that a technical examination of the variety under Articles 55 and 56 of the Basic Regulation does not pose risks to the environment according to the norms of the above-mentioned Directive.

Legjobb tudásom szerint kijelentem, hogy az itt megadott információ teljes és a valóságnak megfelelő. /

I/we hereby declare that to the best of my/our knowledge the information given in this form is complete and correct.

.....
Dátum / Date

.....
Aláírás/Signature

.....
Név/Name