



**EURÓPAI UNIÓ**  
**Közösségi Növényfajta Hivatal**

**DUS VIZSGÁLATI PROTOKOLL**

*Hordeum vulgare L. sensu lato*

**ÁRPA**

**Elfogadva 2003. 11. 06-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 egyeztették, és TG/1/3 általános UPOV dokumentumon és a DUS vizsgálatok lefolytatására vonatkozó 1994. november 4-i TG/19/10 UPOV irányelven alapulnak. A jelen protokoll a *Hordeum vulgare* L. *sensu lato* 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 anyagok 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 anyag beérkezésének végső határidői a Vizsgáló Hivatalhoz**

A vizsgálati kérelmek, technikai kérdőívek végső határidőit és a növényi anyagok benyújtásának végső határidejét a CPVO és valamennyi kiválasztott Vizsgáló Hivatal határozza meg.

A Vizsgáló Hivatal felelős a vizsgálati kérelmek és technikai kérdőívek beérkezésének azonnali visszaigazolásáért. A növényi anyagok beérkezésének végső határideje lejártá után a Vizsgáló Hivatal azonnal értesíti a CPVO-t, ha a 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 és a Technikai Kérdőívek CPVO-hoz beküldése végső határidői, valamint a bejelentők számára a növényi anyag benyújtási határideje (a vetőmag követelmények változhatnak, az aktuális információ a CPVO weblapján található). Amennyiben az egy kalászon található szemszám nem megfelelő, elfogadott növényenként két kalász használata a kalászsorok beállításához.

Vizsgáló Hivatal helye	Vizsgálati kérelem	Növényi anyag	Vetőmag követelmények
BELGIUM	tavaszi 12.31. ősz 08.25.	tavaszi 02.01. ősz 09.05.	3 kg vetőmag és 300 egész kalász.
DÁNIA	tavaszi 01.20. ősz 08.25.	tavaszi 02.10. ősz 08.25.	5 kg vetőmag és 150 egész kalász. Hibridek: további 3 kg vetőmag és 150 egész kalász a hibrid ismeretlen komponenseihez.
FRANCIAORSZÁG	tavaszi 01.15. ősz 09.15.	tavaszi 01.31. ősz 09.30.	5 kg vetőmag és 200 egész kalász.
NÉMETORSZÁG	tavaszi 01.05. ősz 08.15.	tavaszi 01.20. ősz 09.01.	5 kg vetőmag és 120 tavaszi ill. 170 őszi egész kalász.
SPANYOLORSZÁG	tavaszi 08.15. ősz 08.01.	tavaszi 09.15. ősz 09.01.	5 kg vetőmag és 150 egész kalász.
HOLLANDIA	tavaszi 01.15. ősz 09.15.	tavaszi 02.01. ősz 09.15.	3 kg vetőmag és 200 egész kalász.
EGYESÜLT KIRÁLYSÁG	tavaszi 11.30. ősz 08.24.	tavaszi 01.08. ősz 09.08.	3 kg vetőmag és 300 egész kalász. Hibridek: 3 kg vetőmag a hibridből, 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 kezeléssel 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 az árpa DUS vizsgálatában résztvevő más hivatalokkal. Ezért legalább technikai kérdőív cseréje legyen minden fajtajelöltről, és a vizsgálati időszakban a Vizsgáló Hivatalok értesítsék 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 más 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 lehetlenné tehetik egy tulajdonság megfigyelését.

Az elektroforézissel megállapítható tulajdonságok 3. sz. mellékletben felsorolt listáját csak, mint a morfológiai és fiziológiai tulajdonságokban jelentkező különbségek *kiegészítőjét* kell használni.

Az Adminisztrációs Tanács felhatalmazza az Elnököt az 1239/95 sz. Közösségi Rendelet 23. cikke alapján, hogy további tulajdonságokat és kifejeződéseket 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) Alsó levél: levélhüvely szőrözöttsége (2. sz. tulajdonság)
- b) Kalász: sorossága (11. sz. tulajdonság)
- c) Szem: talpserte szőrözet típusa (21. sz. tulajdonság)
- d) Szem: hasi barázda szőrözöttsége (25. sz. tulajdonság)
- e) Életforma (28. 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 növények vagy növényi részek kivehetőek legyenek anélkül, hogy ez 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. Az „életforma” jellemző kiértékelését legalább 500 növényen kell elvégezni.

A kalász-utódsorok kísérlete legkevesebb 100 kalászsorból álljon.

Hibridek esetén a kísérletnek tartalmaznia kell a szülővonalakat is. 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 előkísérleti rendszert kell a következő javaslatok szerint végrehajtani:

- (i) a vizsgálati irányelvek alapján a szülői vonalak leírása;
- (ii) a szülői vonalak eredetiségének megállapítása a referenciagyűjtemény-nyel összehasonlítva, a tulajdonságok táblázatban szereplő 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, mérhetők vagy különbségük látható.

Szemmel látható tulajdonságok esetén a két fajta közötti különbség akkor elégséges, ha a vonatkozó tulajdonság kifejeződése legalább egy értéknyi kü-

lönbséget mutat, figyelembe véve a fajtákon belül megfigyelhető változékonyságot.

Ha a megkülönböztethetőséget a legkisebb szignifikáns különbség t-próbájával állapítják meg, két fajta között a különbség akkor elégséges, ha ugyanaz az érték 1 %-os szignifikáns szinttel vagy kevesebbel ( $p \leq 0,01$ ) jelentkezik két egymást követő, vagy háromból két vegetációs ciklusban.

Amennyiben a megkülönböztethetőséget több éves kombinált különbség analízissel (COYD) állapítják meg, a két fajta közötti különbség akkor elégséges, ha a vonatkozó tulajdonságok egy 1 %-os szignifikáns szinttel vagy kevesebbel ( $p \leq 0,01$ ) különböznek 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.

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 populációs-állandó  $\geq 95$  %-os valószínűségi szintnél). Azokat a tulajdonságokat, amelyeket 100 növényi mintán kell megfigyelni, a tulajdonságok táblázatában „A” betű jelöli. Ezekhez az „A”-val jelölt tulajdonságokhoz 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.

2000-es mintánál az eltérő növények vagy növényi részek száma nem lehet több 5-nél a 2000-ből (0,1 %-os populációs-állandó  $\geq 95$  %-os valószínűségi szintnél). Azokat a tulajdonságokat, amelyeket 2000 növényi mintán kell megfigyelni, a tulajdonságok táblázatában „B” betű jelöli.

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 <sup>1</sup>	Kifejeződési fokozat	Példafajták		Kód
					ősz	tavaszi	
1. (+) <sup>3</sup>	1.	Növény: növekedési típusa	25-29 B; VG	felálló	-	-	1
				félíg felálló	Marinka	Klaxon	3
				átmeneti	Plaisant	Alexis	5
				félíg elterülő	Pastoral	Digger	7
				elterülő	Celtic	Grit	9
2. G	2.	Alsó levél: levélhüvely szőrözöttsége	25-29 A; VG	hiányzik	Marylin	Alexis	1
				jelen van	Pastoral	Ceres	9
3.		Zászlólevél: a fülecske antociános színeződésének erőssége	45-49 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge	Noveta	-	1
				gyenge	Reinette	Auto	3
				közepes	Catania	Atem	5
				erős	Barberouss e	Prisma	7
				nagyon erős	Meusine	-	9
4. (+)	5.	Növény: visszahajló zászlólevelű növények előfordulása	47-51 B; VG	hiányzik v. nagyon kicsi	-	Icare	1
				kicsi	Rebelle	Atem	3
				közepes	Pastoral	Alexis	5
				nagy	Krimhild	Grit	7
				igen nagy	-	-	9
5.	6.	Zászlólevél: levélhüvely viaszossága	50-60 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge	-	-	1
				gyenge	-	-	3
				közepes	Brunhild	Marielle	5
				erős	Marylin	Alexis	7
				nagyon erős	Sereia	Pompadour	9
6.	7.	Kalászolás ideje: (első kalászká megjelenése a kalászkák 50 %-ánál)	50-52 B; VG	nagyon korai	Sereia	-	1
				korai	Barberouss e	Sewa	3
				közepes	Venus	Alexis	5
				késői	Borwina	Canut	7
				nagyon késői	Brunhild	-	9
7.		Szálkák: az antociános színeződés erőssége	60-65 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge	Monika	-	1
				gyenge	Rebelle	Berénice	3
				közepes	Fedora	Alexis	5
				erős	Susi	Atem	7
				nagyon erős	Frolic	Beate	9
8.	10.	Kalász: viaszossága	65-75 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge	Caline	Auto	1
				gyenge	Brunhild	Grit	3
				közepes	Clarine	Alexis	5
				erős	Puffin	Volga	7
				nagyon erős	Sereia	Mette	9

- <sup>1</sup> 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.
- <sup>3</sup> Magyarázatot lást az 1. mellékletben.

CPVO szám	UPOV szám	Tulajdonság	Stádium <sup>1</sup>	Kifejeződési fokozat	Példafajták		Kód
					őszi	tavaszi	
9. (+)	11.	Kalász: állása	70 B; VG	felálló	Sigra	Volga	1
				félig felálló	Jana	Digger	3
				vízszintes	Jaidor	Nomad	5
				félig lehajló	Melusine	Sissi	7
				lehajló	-	-	9
10.	12.	Növény: magassága (szár és kalász szá- lák nélkül)	80-92 B; MG	nagyon rövid	Fedora	Meltan	1
				rövid	Pastoral	Triumph	3
				közepes	Rebelle	Omega	5
				hosszú	Frances	Ida	7
				nagyon hosszú	-	Aura	9
11. G	13.	Kalász: sorossága	80-92 B; VG	kétsoros	Pastoral	Aramir	1
				többsoros	Rebelle	Dobla	2
12. (+)	14.	Kalász: alakja	80-92 B; VG	trapéz	Intro	Prisma	3
				párhuzamos	Rebelle	Nomad	5
				orsó	Criter	Pamela	7
13.	15.	Kalász: tömörsége	80-92 B; VG	nagyon laza	-	-	1
				laza	Express	Teo	3
				közepes	Susi	Alexis	5
				tömött	Catinka	Pompadeu r	7
				nagyon tömött	Criter	Dobla	9
14.	16	Kalász: hossza (szál- ka nélkül)	80-92 B; MS	nagyon rövid	-	-	1
				rövid	Krimhild	Nancy	3
				közepes	Barberouss e	Alexis	5
				hosszú	Pastoral	Nomad	7
				nagyon hosszú	-	-	9
15. (+)	17.	Szálka: hossza (ka- lász- hoz viszonyítva)	80-92 B; MS	rövid	Puffin	Menuet	3
				közepes	Fiction	Nomad	5
				hosszú	Jana	Troubadou r	7
16.	18.	Kalászorsó: legalsó orsótag hossza	92 A; MS	rövid	Barberouss e	Triumph	3
				közepes	Marinka	Volga	5
				hosszú	Jaidor	Michka	7
17. (+)	19.	Kalászorsó: legalsó orsótag görbülete	92 VS	hiányzik v. nagyon gyenge	Sigra	Prisma	1
				gyenge	Barberouss e	Alexis	3
				közepes	Pastoral	Aramir	5
				erős	Giga	Berenice	7
				nagyon erős	-	Cameo	9
18.		Kalász: steril kalász- kák kifejlettsége	92 A; VG	hiányzik v. gyengén fejlett	Barcelona	Baroness	1
				teljesen kifejlett	Madou	Alexis	2
19. (+)	20.	Steril kalászkák: állá- sa (kalász közép- ső harma- dában)	92 A; VG	párhuzamos	Isolde	-	1
				párhuzamostól a gyenge	Regina	Chariot	2
				V-formáig V-forma	Madou	Alexis	3

CPVO szám	UPOV szám	Tulajdonság	Stádium <sup>1</sup>	Kifejeződési fokozat	Példafajták		Kód
					őszi	tavaszi	
20. (+)	21.	Középső kalászká: kalászkapelyva és a szálka hosszának viszo- nya a szemhez	92 A; VG	rövidebb egyenlő hosszabb	Alpha	Ceres	1
					Rebelle	Alexis	2
					Manitou	Steffi	3
21. (+) G	22.	Szem: talpserte szőr- zet típusa	80-92 A; VG	rövid	Barbarouss e	Atem	1
				hosszú	Pastoral	Alexis	2
22.	23.	Szem: pelyva	92 A; VG	hiányzik jelen van	Rondo Marinka	Taiga Alexis	1 9
23.	24.	Szem: fedőpelyva erecske antociános szí- neződése	80-85 B; VG	hiányzik v. nagyon gyenge	Express	Troubadou r	1
				gyenge	Rebelle	Prisma	3
				közepes	Baraka	Lenka	5
				erős	Susi	Teo	7
				nagyon erős	-	-	9
24. (+)	25.	Szem: fedőpelyva erecske fogazottsága	92 A; VG	hiányzik v. nagyon gyenge	Sonja	Alexis	1
				gyenge	Colombo	Nomad	3
				közepes	Venus	Perun	5
				erős	Barberouss e	Volga	7
				nagyon erős	Noveta	-	9
25. (+) G	26.	Szem: hasi barázda szőrözöttsége	92 A; VG	hiányzik jelen van	Pastoral Plaisant	Alexis Cheri	1 9
26. (+)	27.	Szem: szemsüveg elhelyezkedése	92 A; VG	frontális	Reinette	Prisma	1
				oldalsó	Rebelle	Nomad	2
27. (+)	28.	Csupasz szem: aleuron- réteg színe	85-87 A; VG	fehés	Express	Alexis	1
				gyengén színes	Angora	-	2
				erősen színes	Pastoral	-	3
28. (+) G	29.	Életforma	B; VG	őszi	Target	-	1
				átmeneti	Novetta	-	2
				tavaszi	-	Alexis	3

## MELLÉKLETEK

I.	1. MELLÉKLET	
	Magyarázatok és módszerek .....	13
	Decimális kódok a gabonafélék növekedési stádiumaihoz .....	20
II.	2. MELLÉKLET	
	Elektroforézis .....	24
III.	3. MELLÉKLET	
	Technikai kérdőív .....	39

## 1. MELLÉKLET MAGYARÁZATOK ÉS MÓDSZEREK

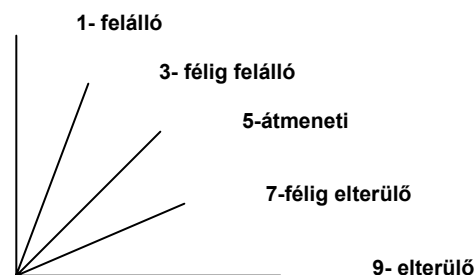
### A tulajdonságok vizsgálati módszere

A megkülönböztethetőségi és egyöntetűségi vizsgálatok módszereit betűk jelzik.

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

### 1. 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.

### 4. Tulajdonság

#### Növény: a visszahajló zászlólevelű növények előfordulása

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

9. Tulajdonság

Kalász: állása



1.  
felálló



3.  
félig felálló



5.  
vízszintes



7.  
félig lehajló



9.  
lehajló

12. Tulajdonság

Kalász: alakja



3.  
trapéz



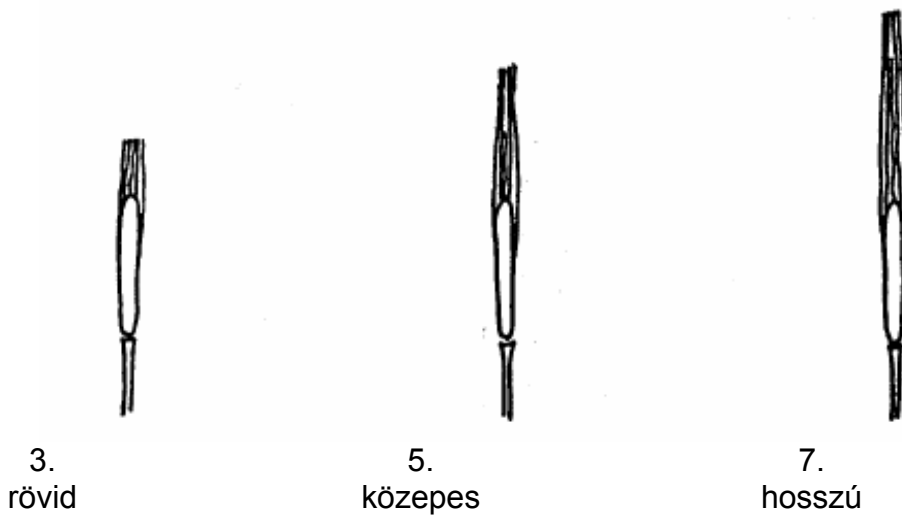
5.  
párhuzamos



7.  
orsó

15. Tulajdonság

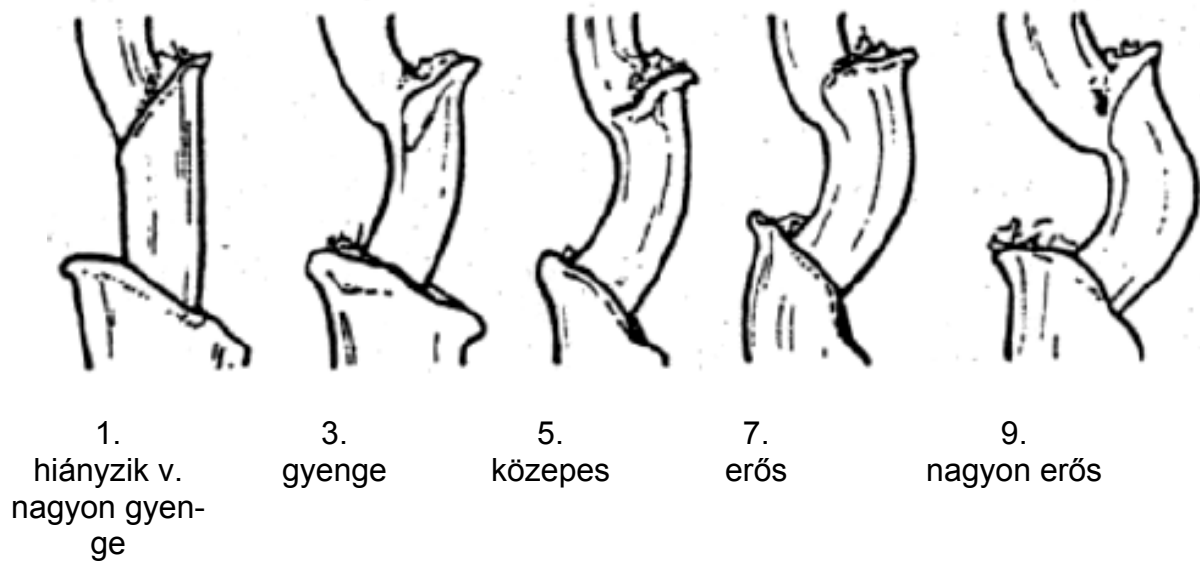
Szálka: hossza (kalászhoz viszonyítva)



A közepes kifejlődése azt jelenti, hogy a szálka hosszúsága egyenlő a kalászéval.

17. Tulajdonság

Kalászorsó: legalsó orsótag görbülete



19. Tulajdonság

Steril kalászkák: állása (kalász középső harmadában)



1.  
párhuzamos



3.  
párhuzamostól gyenge  
V-formáig



5.  
V-forma

20. Tulajdonság

Középső kalászka: kalászkapelyva és a szálka hosszának viszonya a szemhez



1.  
rövidebb



2.  
egyenlő



3.  
hosszabb



21. Tulajdonság

Szem: talpserte szőrzet típusa



1.  
rövid



2.  
hosszú

24. Tulajdonság

Szem: fedőpelyva erecske fogazottsága



1.  
hiányzik v.nagyon gyenge



3.  
gyenge



5.  
közepes  
25. Tulajdonság

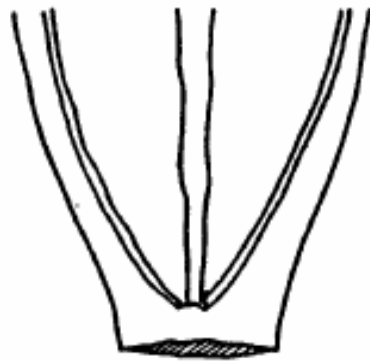


7.  
erős

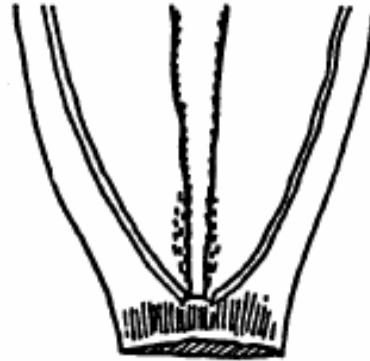


9.  
nagyon erős

Szem: hasi szőrözöttsége



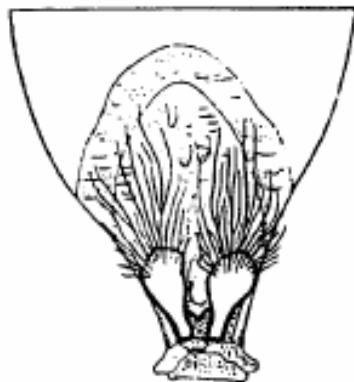
1.  
hiányzik



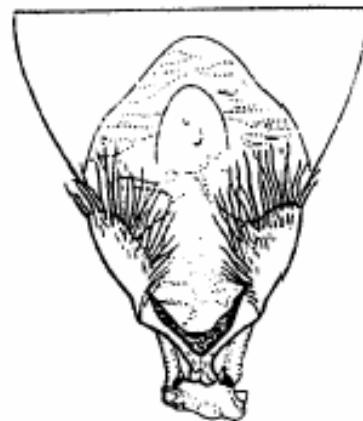
9.  
jelen van

26. Tulajdonság

Szem: szemsüveg elhelyezkedése



1.  
frontális



2.  
oldalsó

28. Tulajdonság

Csupasz szem: aleuronréteg színe

Az aleuron réteg színét vizuálisan kell megállapítani, azután, hogy a szemeket 12 órára vízbe tettük. Ha szükséges, nagyító használható.

29. 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 decimalis 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 Eucarpia decimális kód 45. stádiumán -és szabályként 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 STÁDIUMAIHOZ<sup>3</sup>

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 jegyzetétül 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		

<sup>3</sup> 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 (Szárhajítás)</u>			
30	(A föld feletti rész kiegyenesedése.) Szárbaszökés (2)	4-5	A rizsnél: eltolódott vegetatív fázis	
31	1. bokrosodási csomó megjelenése	6 7	Egyetlen stádium	
32	1. bokrosodási csomó megjelenése			
33	1. bokrosodási csomó megjelenése			
34	1. bokrosodási csomó megjelenése			
35	1. bokrosodási csomó megjelenése			
36	1. bokrosodási csomó megjelenése	8	Bokrosodási csomók (nóduszok) megjelenése	
37	A zászlós levél látható			
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 enyhén növekedése - duzzadás kezdete	
42	-			
43	Duzzadás alig látható	}	50 %-os duzzadás	
44	-			
45	Duzzadás (kalász hasban)	}	Duzzadás vége	
46	-			
47	A zászlóslevél levélhüvelyének megnyílása	}	Kizárólag a szálkás formánál	
48	-			
49	Az első szálkák láthatók	}	10.1	
	<u>Kalászolása</u>			
50	} A virágzat első kalászkája alig látható	}	N	10.2 N = kiegyenlítetlen fejlődés S = kiegyenlített fejlődés
51				
52	} A virágzat 1/4 kint van	}	N	
53				
54	} A virágzat 1/2 kint van	}	N	
55				
56	} A virágzat 3/4 kint van	}	N	
57				
58	} A virágzat teljesen kint van	}	N	
59				
	<u>Virágzás</u>			
60	} Virágzás kezdete	}	N	10.51 Árpánál nehezen megfigyelhető Rizs: ált. a kalászolást közvetlenül követi
61				
62	} -	}		
63				
64	} 50 %-os virágzás	}	N	
65				
66	} -	}		
67				
68	} Teljes virágzás	}	N	
69				

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 keményedése 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 átvágni) (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 <sub>1</sub>	Palánták kiszedése		
T <sub>2</sub>	-		
T <sub>3</sub>	Legyökerezése		
T <sub>4</sub>	-		
T <sub>5</sub>	-		
T <sub>6</sub>	-		
T <sub>7</sub>	A palánták megeredése		
T <sub>8</sub>	-		
T <sub>9</sub>	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 .....	25
2. rész    Elektroforézis alkalmazásával kapott tulajdonságok .....	26
3. rész    Alkalmazott módszerek leírása .....	28



## 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 hordeinek vizsgálatára a nátrium-laurilszulfát jelenlétében végzett poliakrilamid gélelektroforézist (SDS-PAGE) ajánlják. A hordeineket három ( Hor-1, Hor-2 és Hor-3 ) - az 5-ös kromoszóma rövid (Hor-1 és Hor-2) illetve hosszú (Hor-3) karján elhelyezkedő - lókuszkódolja. Minden lókuszon több allél fordulhat elő, a hordeinek vizsgálata az alléloknak - a gélen jól definiálható sávokként illetve sávmintázatként megjelenő - proteinekből történő felismerésén alapszik.

A lókuszkódok elektroforetikusán jól elkülöníthető fehérjék különböző csoportját kódolják, melyek emelkedő mobilitás sorrendjében B-, C- és D-hordein néven ismeretesek. Az allélok minden lókuszon betűvel vagy számmal, vagy ezek kombinációjával jelölhetők. Az egyes sávok relatív mobilitása szintén meghatározható.

Ha csak a C- (Hor-1) és B- (Hor-2) fontosak, az ISTA szerinti savas-PAGE szabvány módszer használható.

## 2. rész

### Az elektroforézis alkalmazásával kapott tulajdonságok

Tulajdonság		Előforduló sávok <sup>5</sup>	Példa-fajták	Allél azonosító száma
Sorszám	Megnevezése			
30. (+)	D-hordein összetétel: Hor-3 lókuszon megje-lenő allélok	34	Atem	1
		33	Natalie	2
		35	Franka	3
		32.5	Iris	4
		32	Princesse	5
31. (+)	C-hordein összetétel: Hor-1 lókuszon megje-lenő allélok	62+65+68	Atem	1
		62+65+66+68	Regatta	2
		65+68	Pirate	3
		66.5+71	Athos	4
		61.5+66.5+71	Norka	5
		65	Birka	6
		60+67.5+68.5	Pamela	7
		61+65+68+73	Igri	8
		69+72	Goelette	9
		64+66.5	Catinka	10
		67+71	Ombelle	11
		65+68+69+70	Albacete	12
		61.5+68+71	Borwina	13
		65+67.5	Kendo	14
		65.5+70.5	Delita	15
66+70.5	Noveta	16		

<sup>5</sup> Minden egyes tulajdonság értékeléséhez a kifejeződés optimális állapota egy számmal van jelölve a második oszlopban. Minden egyes számmal jelölt kifejeződési stádium leírása a 2. mellékletben található.

Tulajdonság		Előforduló sávok <sup>4</sup>	Példa-fajták	Allél azonosító száma
Sorszám	Megnevezése			
32. (+)	B-hordein összetétel Hor-2 lókuszon megje-lenő allélok	79+86+88+100	Atem	1
		79+88+91+95+97+101	Aramir	2
		79+91+92+95+97+101	Valerie	3
		75+82+87+91+97	Carina	4
		79+86+88+97+101	Piroline	5
		78+84+95+101	Catinka	6
		79+90+91+94+100	Regatta	7
		98+86+91+95+100	Igri	8
		79+82+88+91+92+101	Grit	9
		76+79+86+88+100	Birka	10
		79+86+89+92+95+101	Sigma	11
		79+95+101	Midas	12
		78+89+92+101	Criter	13
		75+78+79+81+89+101	Ditta	14
		75+78+79+81+83+86+88+94+95+100	Caresse	15
		81+84+88+90+101	Reseda	16
		75+78+79+81+83+86	Baronesse	17
		82+88+100	Albacete	18
		81+100	Digger	19
		75+79+83+89+91	Camargue	20
		79+91+92	e	22
		75+79+91+92+95+97+101	Libelle	23
		75+79+90+94+99	Triton	24
		79+(83-85)+(89-91)+(94-96)+102	Hiberna	25
			Jerka	

### 3. rész

#### Alkalmazott módszerek leírása

Hordein összetétel: a Hor-3 (30), Hor-1 (31) és Hor-2 (32) lókuszokon előforduló allélok SDS-PAGE módszer Hordeum vulgare hordeinjeinek 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 )  
N, N' - Metilén - bisz - akrilamid (elektroforézis céljára ) ( BIS )  
Trisz - ( hidroximetil ) - amino - metán ( TRIS )  
Nátrium - lauril - szulfát ( SDS )  
Ammónium - peroxi - diszulfát ( APS )  
2 - Merkaptó - etanol  
N,N,N',N' - Tetrametil - etilén - diamin ( TEMED )  
Triklór - ecetsav ( TCA )  
Sósav ( HCl )  
Ecetsav  
Glicin  
n - Butanol  
Pyronin G  
Glicerin ( d=1.256 )  
Metanol  
Dimetil -formamid ( DMF )  
Coomassie Brilliant Blue R-250 ( CBB R - 250 )  
Coomassie Brilliant Blue G-250 ( CBB G - 250 )

#### 3. Oldatok

##### 3.1. Extrakciós oldat

##### Törzsoldat:

6,25 ml gyűjtőgél - puffer  
12,05 ml desztillált víz  
2 g SDS  
10 mg pyronin G  
10 ml glicerin  
Az oldat 4°C - on két hónapig tárolható.

Az extrakciós oldatot közvetlenül felhasználás előtt készítjük:

28,33 ml törzsoldatot, 7,91 ml 2 - merkaptó - etanolt és 15 ml DMF -ot desztillált vízzel 100 ml - re töltünk. Az oldatot közvetlenül felhasználás előtt készítjük, nem tárolható.

### 3.2. Elektródpuffer

#### 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 közvetlenül felhasználás előtt kell készíteni.

#### 3.3.5. Akrilamid - törzsoldat

51,98 g akrilamidot desztillált vízben oldunk, és desztillált vízzel 100 ml-re töltünk.

#### 3.3.6. Bisz - akrilamid - törzsoldat

0,3185 g BIS -t desztillált vízben oldunk, és desztillált vízzel 130 ml-re töltünk.

### 3.4. Festőoldat

3.4.1. 0,25 g CBB G -250 és 0,75 g CBB R - 250 desztillált vízben oldva, és desztillált vízzel 100 ml - re töltve.

3.4.2. 55 g TCA, 65 ml ecetsav, 180 ml metanol és 25 ml 3.4.1. oldat desztillált vízzel 1 l - re töltve.

## 4. Eljárás

### 4.1. Fehérje extrakció

A szemeket egyenként összetörjük, lezárható polipropilén csövekben (3 ml-es Eppendorf csövekben) az extrakciós oldattal ( 3.1. ) szuszpendáljuk. A szem/extrakciós oldat arány 50 mg/0,75 ml. A mintákat szobahőmérsékleten 2 óráig extraháljuk, közben a szuszpenziót Vortex mixerrel többször összerázzuk, majd 10 percig forrásban lévő vízfürdőbe tesszük. Ezután a mintákat lehűtjük, és 18000 g mellett 5 percig centrifugáljuk.

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 ragadjon.

#### 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.)

Az oldat hőmérséklete 4 °C legyen. Az elegyet 100 ml-es szívópalackban 10 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 géloldatot 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 gélfelszínt desztillált vízzel gondosan átöblítjük, és szűrőpapírral szárítjuk.

#### 4.2.3. Gyűjtőgél (3,5 % akrilamid, pH 8.8)

50 ml-es szívópalackban a következő oldatot készítjük el:

- 1.35 ml akrilamid - törzsoldat (3.3.5.)
- 3.17 ml bisz - akrilamid - törzsoldat (3.3.6.)
- 2.50 ml gyűjtőgél - puffer (3.3.2.)
- 12.30 ml desztillált víz

Buborékmentesítés után hozzáadunk:

- 0.875 ml APS (3.3.4.)
- 0.233 ml SDS (3.3.3.)
- 17.5 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/cm<sup>2</sup> állandó áramerősséggel végezzük, amíg a pyronin G jelzőfesték áthalad a gyűjtőgélben. Ez után az áramerősséget 16 mA/cm<sup>2</sup>-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 éjszaka 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.

#### Hordein allélok felismerése

A táblázat a B-, C- és D-hordeinek sávmintázatát sematikusán ábrázolja, figyelmen kívül hagyva az intenzitásbeli különbségeket.

B-, C- és D-hordein: az egyes sávok elnevezése és a megjelenő allélok felismerése (SDS-PAGE)

30. tulajdonság: Hor-3 lokusz

**D-Hordein**

Példafajta	Alléazonosító szám				
	1	2	3	4	5
32					--
32.5				--	
33		--			
34	--	--			
35			--		

31 tulajdonság: Hor-1 lokusz

**C-Hordein**

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



32. tulajdonság: **Hor-2** lokusz

**B-Hordein**

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

## Savas-PAGE módszer Hordeum vulgare B- és C-hordeinjének vizsgálatára

Ha csak a B- és C-hordeinek fontosak, savas-PAGE alkalmazható, melyet az ISTA szabványmódszerként ír elő.

### 1. Készülékek

Bármely vertikális elektroforézis készülék jól alkalmazható, többek között Biometra, Bio - Rad, Desaga és Pharmacia -LKB rendszerek. 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 )

N,N' - Metilén - bisz - akriamid (BIS ) ( elektroforézis céljára )

Karbamid

Ecetsav

Glicin

Vas ( II ) - szulfát

Aszkorbinsav

Hidrogénperoxid

2 - Merkaptoetanol

Pyronin G

Triklór - ecetsav ( TCA )

Metanol

2 -Klór - etanol

Coomassie Brilliant Blue R - 250 ( CBB R - 250 )

Coomassie Brilliant Blue G - 250 ( CBB G - 250 )

### 3. Oldatok

#### 3.1. Extrakciós oldat

20 % ( v/ v ) 2 - klór - etanolt , 18 % ( w/v ) karbamidot és 1 % ( v/v ) merkaptó - etanolt tartalmazó oldatban 0,05 % ( w/v ) pyronin G-t oldunk fel ( hidegen tartjuk, vagy frissen készítjük ).

#### 3.2. Elektródpuffer

4 ml ecetsavat és 0,4 g glicint desztillált vízben oldunk, és 1 l -re töltjük. Hidegen tartjuk.

#### 3.3. Gélpuffer

20 ml ecetsavat és 1,0 g glicint desztillált vízben oldunk, és 1 l -re töltjük. Hidegen tartjuk.

### 3.4. Festőoldat

3.4.1. 0,25 g CBB G - 250 és 0,75 g CBB R - 250 100 ml vízben oldva.

3.4.2. 55 g TCA, 65 ml ecetsav, 180 ml metanol és 25 ml 3.4.1. oldat desztillált vízzel 1 l - re töltve.

## 4. Eljárás

### 4.1. Fehérje extrakció

A szemeket egyenként összetörjük, 1,5 ml -es polipropilén centrifugacsövekben 0,3 ml extrakciós oldatot (3.1.) adunk hozzá, majd éjszakán át szobahőmérsékleten tartjuk. Amennyiben szükséges, a csöveket 18000 x g mellett centrifugáljuk, és az elektroforézishez a felülúszót használjuk.

### 4.2. Gélkészítés

A tiszta és száraz gélkazettákat a kiképzésnek megfelelően összeállítjuk. Az üveglapokat összeszerelés előtt -a gél könnyebb eltávolítása érdekében- szilikonnal kezeljük. A gélkazetta tartalmazhat hordozófoliát (pl.: " Gel Bond PAG ", FMC Co.). Ezzel a gélt óvjuk a további munkafolyamatoknál. 100 ml géloldat készítéséhez 10 g akrilamidot, 0,4 g BIS -t, 6 g karbamidot, 0,1 g aszkorbinsavat és 0,005 g vas -szulfátot 4 °C - ra hűtött gélpufferrel (3.3.) 100 ml -re töltünk (kb. 60 ml). Hozzáadunk 0,35 ml 0,6 % -os hidrogénperoxid-oldatot, gyorsan megkeverjük, és elkészítjük a gélt. A mintahelyeket kialakító teflon fésűt a gélbe merítjük. Szobahőmérsékleten 5-10 percen belül bekövetkezik a polimerizáció. Ellenkező esetben a hozzáadott hidrogénperoxid - oldat térfogatát korrigálni kell. A géloldattal a kazettát túl kell önteni ("over - fill"), vagy vízzel borítani, hogy a gélfelszín elégtő polimerizációját elérjük.

### 4.3. Elektroforézis

A teflon mintafésűt a gélből eltávolítjuk, a mintahelyeket elektródpufferrel (3.2.) átöblítjük. A gélt a kamrába helyezzük, a kamrát a kialakítástól függően megfelelő térfogatú pufferrel (3.2.) feltöltjük, ügyelve arra, hogy a mintahelyeket ellepje. A fehérje extraktumokat (4.1.) a mintahelyekbe juttatjuk (10 -20 µl). Az alsó puffertartály hőmérsékletét 15°C -on kell tartani. Az elektroforézist állandó áramerősség mellett végezzük, a gél keresztmetszetére vonatkozó feszültség 60 V/cm<sup>2</sup>-nél ne legyen több (két 16 cm széles és 0,15 cm vastag gél esetén ez 500 V feszültséget jelent). Az elektroforézis időtartama kétszerese a pyronin G jelzőfesték áthaladási idejének. Ebben a rendszerben az elektroforézis az anódtól (pozitív elektród) indul.

### 4.4. Fixálás és festés

A gélkazettákat az elektroforézis kamrából kivesszük, szétnyitjuk. A géleket műanyagdobozban 200 ml festőoldattal (3.4.2.) szobahőmérsékleten, éjszakán átfestjük. Ha szükséges, a géleket szobahőmérsékleten kb. 2-3 óráig vízben tartjuk a felesleges színezék eltávolítása céljából. Azután a géleket megszárazítjuk, vagy lezárt polietilén tasakban tároljuk.

A gélek megfelelő festése más módon is elérhető, pl. magasabb hőmérséklet vagy TCA és CBB G keverék használatával. A minőségvizsgálat kritériuma, hogy a javasolt példafajtákat a gél minden részén vizsgáljuk. Az eljárás - mind a gélkészítés, mind a festés - akkor

mondható kielégítőnek, ha a vizsgált sávok elválasztása megfelelő és relatív mobilitása (molekulatömege) egyértelműen megállapítható.

### Példafajták alléljainak sávösszetétele savas-PAGE módszernél

A táblázat a példafajtákra a savas-PAGE-nél kapott legfontosabb sávok REM értékeit tartalmazza. A savas-PAGE és az SDS-PAGE módszernél a példafajták és az allélok azonosító száma megegyezik.

Sor- száma	Tulajdonság		Előforduló sávok <sup>4</sup>	Példa-fajták	Allél azonosí- tó száma
	Megnevezése				

3 {	C-hordein összetétel a Hor-1 lokuszon megjelenő allélok	:	bands 27+30+32+37+39	Aten	1
			bands 27+30+32+34+37+39	Regatta	2
			bands 27+30+32+37	Pirate	3
			bands 32+37+41	Athos	4
			bands 27+30+32+37+39+41	Norka	5
			bands 32+37+38	Birka	6
			bands 35+38	Panela	7
			bands 32+37+39+41	Igrá	8
			bands 38+41+42	Golette	9
			bands 30+32+37	Catinka	10
			bands 34+37	Ombelle	11
			bands 34+39+41+42	Albacete	12
			bands 31+34+37+38+41	Borwina	13
			bands 32+37+41+43	Kendo	14
			bands 65.5+70.5	Delita	15
			bands 66+70.5	Noveta	16

Tulajdonság		Előforduló sávok <sup>4</sup>	Példa-fajták	Allél azonosí- tó száma
Sor- száma	Megnevezése			

3:	B-hordein összetétel	on:	bands 71+79+83+86+94+100	Aten	1
4:	a Hor-2 lokuszon megjelenő allélok	t:	bands 71+82+89+100	Aranir	2
			bands 76+82+83+86+100	Valerie	3
			bands 66+71+76+86+93+100	Carina	4
			bands 71+78+79+90+94	Pirolina	5
			bands 76+81+94	Catinka	6
			bands 71+72+75+82+85+86+100	Regatta	7
			bands 72+76+79+90+94	Igri	8
			bands 71+76+79+86	Grit	9
			bands 71+78+83+86+94+100	Birka	10
			bands 71+79+83+86+90	Sigma	11
			bands 71+76+79	Midas	12
			bands 71+89	Criter	13
			bands 79+83+86+90	Ditta	14
			bands 67+69+71+72+78+79+85+89+94	Caresse	15
			bands 71+79+83+88+94	Reseda	16
			bands 69+76+79+83+93	Barcesse	17
			bands 71+72+79+85+86+91+100	Albacete	18
			bands 72+76+100	Digger	19
			bands 61+71+76+79+83	Camargue	20
			bands 76+81+94+100	Marko	21
			bands 79+91+92	Libelle	22
			bands 75+79+91+92+95+97+101	Triton	23
			bands 75+79+90+94+99	Hiberna	24
			bands 79+(83-85)+(89-91)+(94-96)+102	Jerka	25

Hordein allélok felismerése

B- és C-hordeinek: a megjelenő sávok felismerése és az allélok azonosítása Savas-PAGE

**C-Hordein**

Példafajta	Le ty )	Allélazonosító szám															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
25																	25
27	--	--	--	--		--											27
30	--	--	--	--		--					--				--		30
31													--				31
32	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	32
34			--									--	--	--			34
35								--									35
37	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	37
38								--	--	--	--	--	--	--	--	--	38
39	--	--	--			--				--			--		--		39
41					--	--			--	--			--	--	--		41
42								--	--	--	--	--	--	--	--	--	42
43														--			43
		10	10A	1	11	17	6	19	2	4	5	18	14	8	3	15	7

Allélok elnevezése az acid PAGE szerint

**B-Hordein**

Példafajta	mple isty en)	Allélazonosító szám																									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
61																					--						61
66				--																							66
67																--											67
69																--	--										68
71	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	71
72							--	--							--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	72
75							--																--	--			75
76			--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	76
78				--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	78
79	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	79
81					--																--						81
82		--	--			--																--	--	--	--	--	82
83	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	83
85					--										--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	85
86	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	86
88															--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	88
89		--											--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	89
90					--		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	90
91																				--							91
93			--													--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	93
94	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	94
97																											97
100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	100
104																											
		3	4	13	14	-	9	1	7	6	-	-	11	16	-	18	-	19	8	15	12	10	13	13	1	32	

Allélok elnevezése az acid PAGE szerint

### 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                    ***Hordeum vulgare L. sensu lato***  
**ÁRPA / BARLEY**

- 
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 kifejezési 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)

	<b>Tulajdonságok / Characteristics</b>	<b>Magyar / Hungarian</b>	<b>Angol / English</b>	<b>Példafajták / Example Varieties</b>	<b>Kód/ Note</b>
5.1. (28 )	Életforma / Seasonal type	őszti típus járó típus tavaszi típus	winter type alternative type spring type	Target Noveta Alexis	1 [ ] 2 [ ] 3 [ ]
5.2. (2)	Alsó levél: a levélhüvely szőrözöttsége / Lowest leaves: hairiness of leaf sheaths	hiányzik jelen van	absent present	Marylin; Alexis Pastoral; Ceres	1 [ ] 9 [ ]
5.3. (6)	Kalászos ideje (első kalászka megjelenése a kalászok 50 %-án, a fajta és két hasonló közismert fajta kalászos idejét 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)				



	<b>Tulajdonságok / Characteristics</b>	<b>Magyar / Hungarian</b>	<b>Angol / English</b>	<b>Példafajták / Example Varieties</b>	<b>Kód/ Note</b>
5.4. (7)	Szálkák: az antociános szí- neződés erőssége / Awns: intensity of anthocyanin coloration of tips	hiányzik v. na- gyon gyenge gyenge közepes erős nagyon erős	absent or very weak weak medium strong very strong	Monika Rebelle, Berenice Fedora; Alexis Susi; Atem Frolic; Beate	1 [ ] 3 [ ] 5 [ ] 7 [ ] 9 [ ]
5.5. (10 )	Növény: magassága (szár, kalász és száлка; a fajta ma- gasságát és két közismert hasonló fajtáét kérjük meg- adni) / Plant: length (stem; ear and awns; quote length of variety as well as of two wellknown comparable varieties)				
5.6. (11 )	Kalász: sorossága / Ear: number of rows	kétsoros többsoros	two more than two	Pastoral, Aramir Rebelle, Dobra	1 [ ] 2 [ ]
5.7. (21 )	Szem: talpserte szőrzet típu- sa / Grain: rechilla hair type	rövid hosszú	short long	Barberousse, Atem Pastoral, Alexis	1 [ ] 2 [ ]
5.8. (25 )	Szem: hasi barázda szőr- zöttsége / Grain: hairiness of ventral furrow	hiányzik jelen van	absent present	Pastoral, Alexis Plaisant, Cheri	1 [ ] 9 [ ]

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

A hasonló fajták meg- nevezése / Denomination of similar variety	Tulajdonságok, amelyekben a hasonló fajta különbözik <sup>o)</sup> / Characteristic in which the similar variety is different <sup>o)</sup>	A hasonló fajta kifeje- ződési fokozata / State of expression of similar variety	A fajtajelölt kifejeződési fokozata / State of expression of candidate variety
---	---	---	---

<sup>o)</sup> 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