



TG/81/5(proj.)

ORIGINAL: englisch

DATUM: 2000-02-18

G

INTERNATIONAL UNION
FOR THE PROTECTION
OF NEW VARIETIES OF
PLANTS

UNION INTERNATIONALE
POUR LA PROTECTION
DES OBTENTIONS
VÉGÉTALES

INTERNATIONALER
VERBAND ZUM SCHUTZ
VON PFLANZEN-
ZÜCHTUNGEN

UNIÓN INTERNACIONAL
PARA LA PROTECCIÓN
DE LAS OBTENCIONES
VEGETALES

ENTWURF

RICHTLINIEN

FÜR DIE DURCHFÜHRUNG DER PRÜFUNG

AUF UNTERSCHIEDBARKEIT, HOMOGENITÄT UND BESTÄNDIGKEIT

SONNENBLUME

(Helianthus annuus L.)

Diese Richtlinien sind in Verbindung mit Dokument TG/1/2 zu sehen, das Erklärungen über die allgemeinen Grundsätze enthält, nach denen die Richtlinien aufgestellt wurden.

<u>INHALT</u>	<u>SEITE</u>
I. Anwendung dieser Richtlinien	3
II. Anforderungen an das Vermehrungsmaterial	3
III. Durchführung der Prüfung	3
IV. Methoden und Erfassungen.....	4
V. Gruppierung der Sorten	6
VI. Merkmale und Symbole	6
VII. Merkmalstabelle	7
VIII. Erklärungen zu der Merkmalstabelle	19
IX. Literatur	28
X. Technischer Fragebogen	29
 ANLAGE	

I. Anwendung dieser Richtlinien

Diese Richtlinien gelten für alle Sorten von *Helianthus annuus* L., einschließlich der Inzuchtlinien, Hybriden und freiabblühenden Sorten.

II. Anforderungen an das Vermehrungsmaterial

1. Die zuständigen Behörden bestimmen, wann, wohin und in welcher Menge und Beschaffenheit das für die Prüfung der Sorte erforderliche Vermehrungsmaterial zu liefern ist. Anmelder, die Material von außerhalb des Staates, in dem die Prüfung vorgenommen wird, einreichen, müssen sicherstellen, daß alle Zollvorschriften erfüllt sind. Die vom Anmelder in einer oder mehreren Stichproben einzusendende Mindestmenge an Vermehrungsmaterial sollte betragen:

5000 Körner für Inzuchtlinien
1 kg für Hybriden und freiabblühende Sorten

Im Falle von Hybridsorten sollten weitere 5000 Körner jeder Komponente (z. B. Inzuchtlinie, einschließlich der männlich sterilen und fertilen Form einer weiblichen Elternlinie, Einfachhybride) vorgelegt werden. Im Falle männlich steriler Linien sollten weitere 5000 Körner des Maintainers vorgelegt werden. Das Saatgut sollte wenigstens die Mindestanforderungen an die Keimfähigkeit, den Feuchtigkeitsgehalt und die Reinheit für die Vermarktung von Saatgut des Landes erfüllen, in dem die Anmeldung eingereicht wurde. Die Keimfähigkeit sollte möglichst hoch sein.

2. Das Vermehrungsmaterial darf keiner Behandlung unterzogen worden sein, es sei denn, daß die zuständigen Behörden eine solche Behandlung gestatten oder vorschreiben. Soweit es behandelt worden ist, müssen die Einzelheiten der Behandlung angegeben werden.

III. Durchführung der Prüfung

1. Die Mindestdauer der Prüfung sollte in der Regel zwei gleichartige Wachstumsperioden betragen.

2. Die Prüfungen sollten in der Regel an einem Ort durchgeführt werden. Wenn einige wichtige Merkmale an diesem Ort nicht festgestellt werden können, kann die Sorte an einem weiteren Ort geprüft werden.

3. Die Prüfungen sollten unter Bedingungen durchgeführt werden, die eine normale Pflanzenentwicklung sicherstellen. Die Parzellengröße ist so zu bemessen, daß den Beständen die für Messungen und Zählungen benötigten Pflanzen oder Pflanzenteile entnommen werden können, ohne daß dadurch die Erfassungen, die bis zum Abschluß der Vegetationsperiode durchzuführen sind, beeinträchtigt werden. Jede Prüfung sollte insgesamt 40 Pflanzen umfassen, die auf zwei oder mehr Wiederholungen verteilt werden sollten. Getrennte Parzellen für Beobachtungen einerseits und Messungen andererseits können nur bei Vorliegen ähnlicher Umweltbedingungen verwendet werden.

4. Zusätzliche Prüfungen für besondere Erfordernisse können durchgeführt werden, beispielsweise Korb-Reihenprüfungen im Falle, daß die zuständige Behörde die vom Anmelder vor dem Datum der Anmeldung erzielten Prüfungsergebnisse akzeptiert.

5. Im Falle, daß die Formel der Hybriden mit Hilfe der Enzymelektrophorese überprüft wird, sollte eine Prüfung an mindestens 10 Keimlingen jeder Inzuchtlinie durchgeführt werden. Mindestens 4 Keimlinge sollten bei Einfachhybriden und mindestens 10 Keimlinge bei Dreiweghybriden analysiert werden. Im Zweifelsfall sollten zusätzliche Keimlinge analysiert werden.

IV. Methoden und Erfassungen

1. Die in Kapitel VII beschriebenen Merkmale sollten für die Prüfung der Unterscheidbarkeit der Inzuchtlinien, der Hybriden und der freiabblühenden Sorten verwendet werden.

2. Zur Beurteilung der Unterscheidbarkeit von Hybriden kann jedoch ein Vorprüfssystem anhand der Elternlinien und der Formel nach folgenden Empfehlungen festgelegt werden:

- a) Beschreibung der Elternlinien gemäß den Prüfungsrichtlinien;
- b) Überprüfung der Eigenständigkeit dieser Elternlinien im Vergleich zur Vergleichssammlung, auf Grundlage der in Kapitel VII beschriebenen Merkmale, um die ähnlichsten Inzuchtlinien zu ermitteln;
- c) Überprüfung der Eigenständigkeit der Formel der Hybriden im Vergleich zu jenen der allgemein bekannten Hybriden unter Berücksichtigung der ähnlichsten Inzuchtlinien;
- d) Beurteilung der Unterscheidbarkeit an der Hybride bei Sorten mit ähnlicher Formel.

3. Alle Erfassungen zur Beurteilung der Unterscheidbarkeit und Homogenität, gegebenenfalls einschließlich der elektrophoretischen Merkmale, sollten an 40 Pflanzen oder Teilen von 40 Pflanzen an jedem Prüfungsort und in jeder Wachstumsperiode erfolgen.

4. Alle Erfassungen sollten am Haupttrieb erfolgen.

5. Alle Erfassungen am Blatt sollten an ausgewachsenen Blättern in 2/3 Höhe der Pflanze nach dem Knospenstadium, jedoch vor dem Blütestadium, erfolgen. Die Knospe sollte eine Größe von 4 to 5 cm erreichen.

6. Für die Beurteilung der Homogenität von Inzuchtlinien ist ein Populationsstandard von 2% mit einer Akzeptanzwahrscheinlichkeit von mindestens 95% anzuwenden. Außerdem sollten bei männlich sterilen Inzuchtlinien derselbe Populationsstandard und dieselbe Akzeptanzwahrscheinlichkeit für die Summe der eindeutig aus einer Fremdbefruchtung stammenden Pflanzen und der isogenen fertilen Pflanzen gelten. Zur Beurteilung der Homogenität von Einfachhybriden sollte ein Populationsstandard von 5% mit einer Akzeptanzwahrscheinlichkeit von mindestens 95% angewandt werden. Für jene Länder, die bei einer Anpassung ihres Systems an diese Regeln Schwierigkeiten voraussehen, besteht die Möglichkeit einer Übergangsfrist von zwei Jahren ab der Annahme der Prüfungsrichtlinien,

bevor sie die neuen Regeln übernehmen. Für Dreiweghybriden und freiabblühende Sorten sollte die Variabilität innerhalb der Sorte die Variabilität bereits bekannter vergleichbarer Sorten nicht übertreffen.

Zugelassene Anzahl Abweicher für verschiedene Fälle und Stichprobengrößen

	Abweicher	Anzahl erfaßter Pflanzen	Zugelassene Anzahl Abweicher
<u>Männlich sterile Inzuchtlinie¹</u> <u>(Populationsstandard: 2%,</u> <u>Akzeptanzwahrscheinlichkeit</u> <u>∴</u> <u>95%)</u>	Pflanzen aus Fremdbefruchtung und isogene fertile Pflanzen	19 - 41	2
		42 - 69	3
		70 - 99	4
		100 - 131	5
	Sonstige Abweicher	19 - 41	2
		42 - 69	3
		70 - 99	4
		100 - 131	5
<u>Männlich fertile Inzuchtlinie</u> <u>(Populationsstandard: 2%,</u> <u>Akzeptanzwahrscheinlichkeit</u> <u>∴</u> <u>95%)</u>	Alle Typen von Abweichern	19 - 41	2
		42 - 69	3
		70 - 99	4
		100 - 131	5
<u>Einfachhybriden</u> <u>(Populationsstandard: 5%,</u> <u>Akzeptanzwahrscheinlichkeit</u> <u>∴</u> <u>95%)</u>	Alle Typen von Abweichern	17 - 28	3
		29 - 40	4
		41 - 53	5
		54 - 67	6
		68 - 81	7
		82 - 95	8
		96 - 110	9
111- 125	10		

7. Wenn für die Unterscheidbarkeitsprüfung die Enzymelektrophorese eingesetzt wird, sollten derselbe Populationsstandard und dieselbe Akzeptanzwahrscheinlichkeit wie für andere. Alle Pflanzen einer Inzuchtlinie, in denen zwei oder mehrere Loci mit einem Allel in

¹ Beispielsweise wird eine männliche sterile Inzuchtlinie mit 2 Pflanzen aus Fremdbefruchtung und 2 Abweichern für die Merkmale der Blätter an 40 erfaßten Pflanzen akzeptiert. Andererseits wird eine männliche sterile Inzuchtlinie mit 3 Abweichern für die Merkmale der Blätter an 40 erfaßten Pflanzen zurückgewiesen.

jedem Locus von der Inzuchtlinie (z. B. AX) heterozygot sind, sollten als fremdbefruchtet angesehen werden. Alle übrigen Fälle von Heterozygotität, sowie alle Fälle, in denen zwei fremde Allele in einem Locus vorhanden sind, sollten als Abweicher betrachtet werden. Merkmale angewandt werden.

V. Gruppierung der Sorten

1. Das Prüfsortiment sollte zur leichteren Herausarbeitung der Unterscheidbarkeit in Gruppen unterteilt werden. Für die Gruppierung sind solche Merkmale geeignet, die erfahrungsgemäß innerhalb einer Sorte nicht oder nur wenig variieren. Die verschiedenen Ausprägungsstufen sollten in der Vergleichssammlung ziemlich gleichmäßig verteilt sein.

2. Die Sorten sollten zunächst in Inzuchtlinien und sonstige Sorten aufgeteilt werden. Danach wird den zuständigen Behörden empfohlen, die nachstehenden Merkmale für die Gruppierung der Sorten heranzuziehen:

- a) Blatt: Grünfärbung (Merkmal 6)
- b) Blatt: Blasigkeit (Merkmal 7)
- c) Zeitpunkt der Blüte (Merkmal 14)
- d) Pflanze: Natürliche Höhe (Merkmal 27)
- e) Pflanze: Verzweigung (ohne umweltbedingte Verzweigung) (Merkmal 29)
- f) Korn: Streifen am Rand (Merkmal 39)
- g) Korn: Streifen zwischen dem Rand (Merkmal 40)

VI. Merkmale und Symbole

1. Zur Beurteilung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit sollten die Merkmale mit ihren Ausprägungsstufen, wie sie in der Merkmalstabelle aufgeführt sind, verwendet werden.

2. Hinter den Ausprägungsstufen für jedes Merkmal stehen Noten (Zahlen) für eine elektronische Datenverarbeitung.

3. Legende

(*) Merkmale, die für alle Sorten in jedem Prüfungsjahr, in dem Prüfungen vorgenommen werden, herangezogen werden und in jeder Sortenbeschreibung enthalten sein sollten, sofern die Ausprägungsstufe eines vorausgehenden Merkmals oder regionale Umweltbedingungen dies nicht ausschließen.

(+) Siehe Erklärungen zu der Merkmalstabelle in Kapitel VIII.

(1) Das optimale Entwicklungsstadium für die Beurteilung jedes Merkmals wird durch eine Zahl in der zweiten Spalte angegeben. Die durch die einzelnen Ziffern gekennzeichneten Entwicklungsstadien sind am Schluß des Kapitels VIII beschrieben.

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

Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1. A2	Hypocotyl: anthocyanin coloration	Hypocotyle: pigmentation anthocyanique	Hypokotyl: Anthocyanfärbung	Hipocotilo: pigmentación antocianica		
	absent	absente	fehlend	ausente	HA 850	1
	present	présente	vorhanden	presente	RHA 271	9
2. A2	Hypocotyl: intensity of anthocyanin coloration	Hypocotyle: intensité de la pigmentation anthocyanique	Hypokotyl: Intensität der Anthocyanfärbung	Hipocotilo: intensidad de la pigmentación antocianica		
	weak	faible	gering	débil	H 52.6.3	3
	medium	moyenne	mittel	media	HA 290	5
	strong	forte	stark	fuerte	RHA 271	7
3. E4 (*)	Leaf: size	Feuille: taille	Blatt: Größe	Hoja: tamaño		
	small	petite	klein	pequeña	HA 124	3
	medium	moyenne	mittel	media	HA 821	5
	large	grande	groß	grande	DK 3790	7
4. E4 (+)	Leaf: shape of distal part	Feuille: forme de la partie distale	Blatt: Form des distalen Teiles	Hoja: forma de la parte distal		
	lanceolate	lancéolée	lanzettlich	lanceolada		1
	lanceolate to narrow triangular	lancéolée à triangulaire étroite	lanzettlich bis schmal dreieckig	lanceolada a triangular estrecha		2
	narrow triangular	triangulaire étroite	schmal dreieckig	triangular estrecha	RHA 855	3
	narrow triangular to broad triangular	triangulaire étroite à triangulaire large	schmal dreieckig bis breit dreieckig	triangular estrecha a triangular ancha		4
	broad triangular	triangulaire large	breit dreieckig	triangular ancha	HA 821	5
	broad triangular to acuminate	triangulaire large à acuminée	breit dreieckig bis zugespitzt	triangular ancha a acuminada		6
	broad triangular to rounded	triangulaire large à arrondie	breit dreieckig bis rundlich	triangular ancha a redondeada	HA 303	7
	acuminate	acuminée	zugespitzt	acuminada	HA 124	8
rounded	arrondie	rundlich	redondeada	HA 234	9	

	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
5.	E4	Leaf: auricles	Feuille: oreillettes	Blatt: Auricula	Hoja: aurículas		
(*)		none or very small	absentes ou très petites	fehlend oder sehr klein	ausentes o muy pequeñas	H 52.9.1.1	1
(+)		small	petites	klein	pequeñas	HA 821	3
		medium	moyennes	mittel	medias		5
		large	grandes	groß	grandes		7
		very large	très grandes	sehr groß	muy grandes	HA 303	9
6.	E4	Leaf: green color	Feuille: couleur verte	Blatt: Grünfärbung	Hoja: color verde		
(*)		light	claire	hell	claro	H 52.9.1.1	3
		medium	moyenne	mittel	medio	HA 821	5
		dark	foncée	dunkel	oscuro	HA 303	7
7.	E4	Leaf: blistering	Feuille: gaufrure	Blatt: Blasigkeit	Hoja: abullonado		
(*)		absent or very weak	absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil		1
		weak	faible	gering	débil	HA 342, RHA 273	3
		medium	moyenne	mittel	medio	HA 291	5
		strong	forte	stark	fuerte	HA 303, RHA 361	7
		very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte		9
8.	E4	Leaf: serration	Feuille: denture	Blatt: Zähnung	Hoja: dentado		
(*)		very fine or isolated	très fine ou isolée	sehr fein oder vereinzelt	muy fino o aislado	HA 393	1
(+)		fine	fine	fein	fino	HA 124	3
		medium	moyenne	mittel	medio	RHA 271	5
		coarse	grossière	grob	grosero	RHA 299	7
		very coarse	très grossière	sehr grob	muy grosero		9

	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
9.	E4	Leaf: shape of cross section	Feuille: forme de la section transversale	Blatt: Form des Querschnitts	Hoja: forma de la sección transversal		
(+)		strongly concave	fortement concave	stark konkav	fuertemente cóncava		1
		weakly concave	faiblement concave	schwach konkav	débilmente cóncava	RHA 273	2
		flat	droite	gerade	plana	H 55.9.2.1.1	3
		weakly convex	faiblement convexe	schwach konvex	débilmente convexe	HA 303	4
		strongly convex	fortement convexe	stark konvex	fuertemente convexe		5
10.	E4	Leaf: wings	Feuille: ailes	Blatt: Flügel	Hoja: alas		
(+)		none or very weakly expressed	absentes ou très faiblement marquées	keine oder sehr schwach ausgeprägt	ninguna o muy débilmente definidas	HA 89	1
		weakly expressed	faiblement marquées	schwach ausgeprägt	débilmente definidas		2
		strongly expressed	fortement marquées	stark ausgeprägt	fuertemente definidas	RHA 274, RHA 348	3
11.	E4	Leaf: angle of lowest lateral veins	Feuille: angle des nervures latérales plus basses	Blatt: Winkel der untersten Seitennerven	Hoja: ángulo de los nervios laterales		
(*)		acute	aigu	spitz	agudo	HA 290, RHA 295	1
(+)		right angle or nearly right angle	droit ou presque droit	rechtwinklig oder fast rechtwinklig	ángulo recto o casi ángulo recto	HA 89	2
		obtuse	obtus	stumpf	obtuso	HA 303	3

Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
12. E4 (+)	Leaf: height of the tip of the blade compared to insertion of petiole (at 2/3 height of plants)	Feuille: hauteur de l'extrémité du limbe par rapport à l'insertion du pétiole (aux 2/3 de la tige à partir du sol)	Blatt: Höhe der Blattspitze im Verhältnis zur Ansatzstelle des Stieles (in 2/3 der Pflanzhöhe)	Hoja: altura de la punta del limbo en relación con la inserción del pecíolo (a 2/3 de la altura de la planta)		
	low	basse	niedrig	baja	RHA 275	3
	medium	moyenne	mittel	media	RHA 274	5
	high	haute	hoch	alta	RHA 400	7
13. F1	Stem: hairiness at the top (last 5 cm)	Tige: pilosité au sommet (5 derniers cm)	Stengel: Behaarung an der Spitze (obere 5 cm)	Tallo: velloidad en el extremo (últimos 5 cm)		
	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil		1
	weak	faible	gering	débil	RHA 271	3
	medium	moyenne	mittel	media	RHA 273	5
	strong	forte	stark	fuerte	HA 303	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte		9
14. (*) (+)	Time of flowering	Époque de floraison	Zeitpunkt der Blüte	Época de la floración		
	very early	très précoce	sehr früh	muy temprana	HA 302, RHA 381	1
	early	précoce	früh	temprana	RHA 273	3
	medium	moyenne	mittel	media	RHA 274	5
	late	tardive	spät	tardía	RHA 271	7
	very late	très tardive	sehr spät	muy tardía	RHA 361	9
15. F.3.2	Ray flowers: density	Fleurs ligulées: densité	Zungenblüten: Dichte	Flores liguladas: densidad		
	sparse	faible	locker	laxas	HA 385	3
	medium	moyenne	mittel	medias	HA 89	5
	dense	forte	dicht	densas		7

	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
16.	F.3.2	Ray flower: shape	Fleur ligulée: forme	Zungenblüte: Form	Flor ligulada: forma		
(+)		fusiform	allongée	spindelförmig	fusiforme	H 52.9.1.1	1
		narrow ovate	ovoïde étroite	schmal eiförmig	oval estrecha	RHA 274	2
		broad ovate	ovoïde large	breit eiförmig	oval ancha	HA 821	3
		rounded	arrondie	rundlich	redondeada		4
17.	F.3.2	Ray flower: disposition	Fleur ligulée: disposition	Zungenblüte: Anordnung	Flor ligulada: disposición		
		flat	plane	eben	plana	HA 89	1
		longitudinal recurved	recourbée longitudinalement	längsseits nach außen gebogen	recurvada longitudinalmente	HA 850	2
		undulated	ondulée	gewellt	ondulada	HA 234	3
		strongly recurved to back of head	fortement recourbée vers le dos du capitule	stark gebogen zur Korbrückseite	fuertemente recurvada hacia la espalda del capítulo	CM 592	4
18.	R.3.2	Ray flower: length	Fleur ligulée: longueur	Zungenblüte: Länge	Flor ligulada: longitud		
		short	courte	kurz	corta	RHA 361	3
		medium	moyenne	mittel	media	HA 89	5
		long	longue	lang	larga	H 52.6.3	7
19.	F.3.2	Ray flower: color	Fleur ligulée: couleur	Zungenblüte: Farbe	Flor ligulada: color		
(*)		ivory	ivoire	elfenbein	marfil		1
		light yellow	jaune pâle	hellgelb	amarillo pálido		2
		medium yellow	jaune moyen	mittelgelb	amarillo medio	HA 89	3
		orange yellow	jaune orange	orangegelb	amarillo naranja	RHA 361	4
		orange	orangée	orange	naranja	CM 587, RHA 295	5
		purple	pourpre	purpur	púrpura		6
		reddish brown	brun rougeâtre	rotbraun	marrón rojizo		7
		multicolored	multicolore	mehrfärbig	multicolor		8

	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
20.	F.3.2	Disk flower: color	Fleuron: couleur	Röhrenblüte: Farbe	Flósculo (flor del disco): color		
		yellow	jaune	gelb	amarillo		1
		orange	orange	orange	naranja		2
		purple	pourpre	purpurn	púrpura		3
21. (+)	F.3.2	Disk flower: anthocyanin coloration of stigma	Fleuron: pigmentation anthocyanique du stigmat	Röhrenblüte: Anthocyanfärbung der Narbe	Flósculo (flor del disco): pigmentación antociánica del estigma		
		absent	absente	fehlend	ausente	HA 89	1
		present	présente	vorhanden	presente	H 55.9.2.1.1, HA 348	9
22. (+)	F.3.2	Disk flower: intensity of anthocyanin coloration of stigma	Fleuron: intensité de la pigmentation anthocyanique du stigmat	Röhrenblüte: Intensität der Anthocyanfärbung der Narbe	Flósculo (flor del disco): intensidad de la pigmentación antociánica del estigma		
		weak	faible	gering	débil	HA 290, HA 394	3
		medium	moyenne	mittel	media	HA 60, HA 291	5
		strong	forte	stark	fuerte	RHA 348	7
23.	F.3.2	Disk flower: production of pollen	Fleuron: production de pollen	Röhrenblüte: Pollenproduktion	Flósculo (flor del disco): producción de polen		
		absent	absente	fehlend	ausente		1
		present	présente	vorhanden	presente		9
24. (+)	F.3.2	Bract: shape	Bractée: forme	Hüllblatt: Form	Bráctea: forma		
		clearly elongated	nettement allongée	deutlich länglich	claramente elongada	HA 379	1
		neither clearly elongated nor clearly rounded	ni nettement allongée ni nettement arrondie	weder deutlich länglich noch deutlich rundlich	ni claramente elongada ni claramente redondeada	HA 292	2
		clearly rounded	nettement arrondie	deutlich rundlich	claramente redondeada	RHA 801	3

	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
25.	F.3.2	Bract: length of tip	Bractée: longueur du sommet	Hüllblatt: Länge der Spitze	Bráctea: longitud de la punta		
(+)		very short	très court	sehr kurz	muy corta		1
		short	court	kurz	corta	RHA 273, RHA 361	3
		medium	moyen	mittel	media	HA 302	5
		long	long	lang	larga	HA 292, HA 55.9.2.1.1	7
		very long	très long	sehr lang	muy larga	H 52.6.3	9
26.	F.3.2	Bract: green color of outer side	Bractée: couleur verte de la face externe	Hüllblatt: Grünfärbung der Außenseite	Bráctea: color verde de la cara externa		
		light	claire	hell	claro	H 52.9.1.1	3
		medium	moyenne	mittel	medio	HA 850	5
		dark	foncée	dunkel	oscuro	HA 303	7
27	M0	Plant: natural height	Plante: hauteur	Pflanze: natürliche Höhe	Planta: altura natural		
(*)		very short	très courte	sehr kurz	muy baja	HA 379	1
(+)		short	courte	kurz	baja	HA 291	3
		medium	moyenne	mittel	media	RHA 801	5
		tall	haute	lang	alta	H 52.9.1.1	7
		very tall	très haute	sehr lang	muy alta		9
28.	M0	Bract: attitude in relation to head	Bractée: port par rapport au capitule	Hüllblatt: Haltung zum Korb	Bráctea: porte en relación con el capítulo		
		not embracing or very slightly embracing	non enveloppante ou très faiblement enveloppante	nicht umfassend oder sehr gering umfassend	no envolvente o muy ligeramente envolvente	H 52.9.1.1	1
		slightly embracing	faiblement enveloppante	gering umfassend	ligeramente envolvente	HA 337, HA 343	2
		strongly embracing	fortement enveloppante	stark umfassend	fuertemente envolvente	RHA 234	3

	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
29. (*) (+)	M0 - M2	Plant: branching (excluding environmental branching)	Plante: ramification (à l'exclusion de la ramification causée par l'environnement)	Pflanze: Verzweigung (ohne umweltbedingte Verzweigung)	Planta: ramificación (excluyendo la causada por el medio ambiente)		
		absent	absente	fehlend	ausente	HA89	1
		present	présente	vorhanden	presente	RHA 271	9
30. (*) (+)	M0 - M2	Plant: type of branching (as for 29)	Plante: type de ramification (comme pour 29)	Pflanze: Art der Verzweigung (wie unter 29)	Planta: tipo de ramificación (como para 29)		
		only basal	uniquement basale	nur basal	sólo basal	RHA 295	1
		predominantly basal	prédominance basale	überwiegend basal	predominantemente basal		2
		overall	totale	vollständig	total	RHA 273	3
		predominantly apical	prédominance apicale	überwiegend apikal	predominantemente apical	RHA 271	4
	only apical	uniquement apicale	nur apikal	solo apical	RHA 294	5	
31.	M3 - M2	Plant: natural position of highest lateral head to the central head	Plante: position naturelle du capitule le plus haut par rapport au capitule central	Pflanze: natürliche Position des höchsten Seitenkorbes zum Hauptkorb	Planta: posición natural del capítulo lateral más alto en relación con el capítulo central		
		below	au-dessous	unterhalb	debajo	RHA 361	1
		same level	au même niveau	gleiche Höhe	al mismo nivel	RHA 857	2
	above	au-dessus	oberhalb	encima	RHA 274	3	

Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
32. (*) (+)	M3	Head: attitude	Capitule: port	Korb: Haltung	Capítulo: porte	
		horizontal	horizontal	waagrecht	horizontal	1
		inclined	incliné	geneigt	inclinado	2
		vertical	vertical	senkrecht	vertical	RHA 395 3
		half-turned down with straight stem	demi-renversé avec tige droite	halbüberhängend mit geradem Stengel	semiinvertido con el tallo recto	4
		half-turned down with curved stem	demi-renversé avec tige arquée	halbüberhängend mit gebogenem Stengel	semiinvertido con el tallo arqueado	5
		turned down with straight stem	renversé avec tige droite	überhängend mit geradem Stengel	invertido con el tallo recto	6
		turned down with slightly curved stem	renversé avec tige légèrement arquée	überhängend mit gering gebogenem Stengel	invertido con el tallo ligeramente arqueado	7
		turned down with strongly curved stem	renversé avec tige fortement arquée	überhängend mit stark gebogenem Stengel	invertido con el tallo fuertemente arqueado	8
	over turned	retourné	zurückgebogen	retorcido	9	
33. (*)	M3	Head: size	Capitule: taille	Korb: Größe	Capítulo: tamaño	
		small	petit	klein	pequeño	RHA 273 3
		medium	moyen	mittel	medio	RHA 271 5
		large	grand	groß	grande	H 52.9.1.1 7

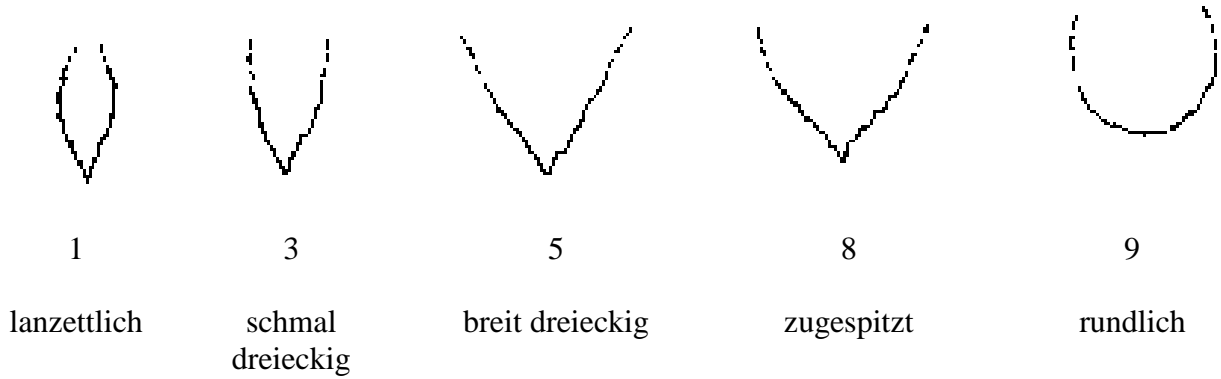
	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
34.	M3	Head: shape of grain side	Capitule: forme de la partie du grain	Korb: Form der Kornseite	Capítulo: forma de la parte del grano		
(*)		strongly concave	fortement concave	stark konkav	fuertemente cóncavo		1
(+)		weakly concave	faiblement concave	schwach konkav	débilmente cóncavo		2
		flat	plan	gerade	plano	RHA 273	3
		weakly convex	faiblement convexe	schwach konvex	débilmente convexo	HA 89	4
		strongly convex	fortement convexe	stark konvex	fuertemente convexo	CM 400	5
		deformed	difforme	verunstaltet	deformado	RHA 271	6
35.	M4	Seed: size	Grain: taille	Korn: Größe	Semilla: tamaño		
		very small	très petit	sehr klein	muy pequeña		1
		small	petit	klein	pequeña	RHA 801	3
		medium	moyen	mittel	media	HA 89	5
		large	gros	groß	grande	HA 292	7
		very large	très gros	sehr groß	muy grande	HA 316	9
36.	M4	Seed: shape	Grain: forme	Korn: Form	Semilla: forma		
(*)		elongated	allongé	länglich	elongada	HA 60	1
(+)		narrow ovoid	ovoïde étroite	schmal eiförmig	ovoide estrecha	RHA 271	2
		broad ovoid	ovoïde large	breit eiförmig	ovoide ancha	HA 89	3
		rounded	arrondi	rundlich	redondeada	CM 447	4
37.	M4	Seed: thickness relative to with	Grain: épaisseur par rapport à la largeur	Korn: Dicke im Verhältnis zur Breite	Semilla: grosor relativo al ancho		
		thin	mince	dünn	delgada	RHA 274	3
		medium	moyen	mittel	media	RHA 271	5
		thick	épais	dick	gruesa		7

	Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
38.	M4	Seed: main color	Grain: couleur principale	Korn: Hauptfarbe	Semilla: color principal		
(*)		white	blanc	weiß	blanca		1
(+)		whitish grey	gris-blanchâtre	weißlich grau	gris blancuzca		2
		grey	gris	grau	gris	TRISUN 860	3
		light brown	brun clair	hellbraun	marrón clara		4
		medium brown	brun moyen	mittelbraun	marrón media	RHA 273	5
		dark brown	brun foncé	dunkelbraun	marrón oscura		6
		black	noir	schwarz	negra	HA 89	7
		purple	pourpre	purpurn	púrpura		8
39.	M4	Seed: stripes <u>on</u> margin	Grain: stries <u>sur</u> le bord	Korn: Streifen <u>am</u> Rand	Semilla: estrías <u>en</u> el borde		
(*)		none or very weakly expressed	aucune ou très faiblement marquées	keine oder sehr schwach ausgeprägt	ninguna o muy débilmente definidas	RHA 273	1
(+)		weakly expressed	faiblement marquées	schwach ausgeprägt	débilmente definidas	H 52.9.1.1	2
		strongly expressed	fortement marquées	stark ausgeprägt	fuertemente definidas	HA 89	3
40.	M4	Seed: stripes <u>between</u> margins	Grain: stries <u>entre</u> les bords	Korn: Streifen <u>zwischen</u> den Rändenn	Semilla: estrías <u>entre</u> los bordes		
(*)		none or very weakly expressed	aucune ou très faiblement marquées	keine oder sehr schwach ausgeprägt	ninguna o muy débilmente definidas	RHA 273	1
(+)		weakly expressed	faiblement marquées	schwach ausgeprägt	débilmente definidas	RHA 293	2
		strongly expressed	fortement marquées	stark ausgeprägt	fuertemente definidas	HA 89	3

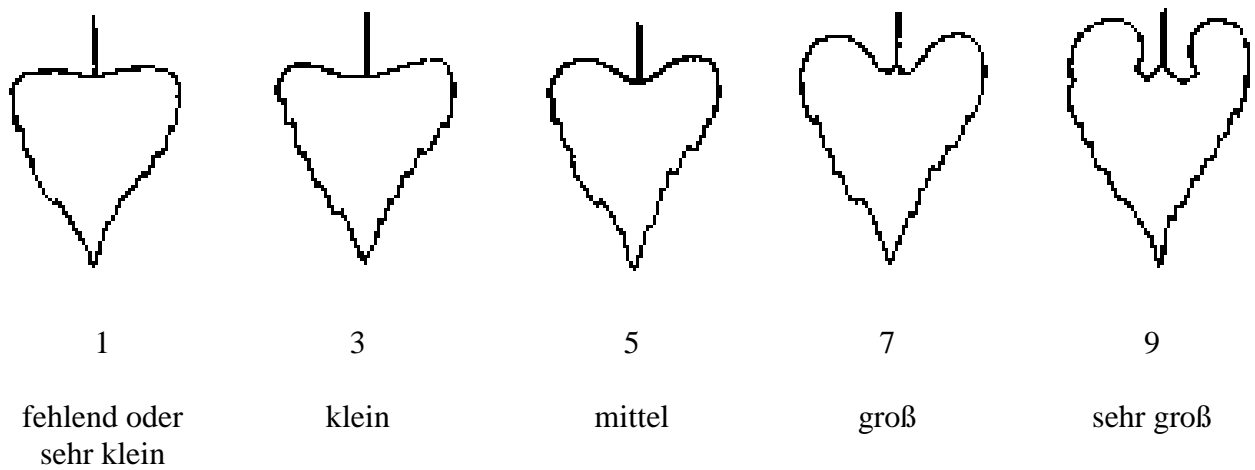
Stage ¹⁾ Stade ¹⁾ Stadium ¹⁾ Estadio ¹⁾	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
41. M4	Seed: color of stripes	Grain: couleur des stries	Korn: Farbe der Streifen	Semilla: color de las estrías		
	white	blanches	weiß	blanco	RHA 295	1
	grey	grises	grau	gris	HA 89	2
	brown	brunes	braun	marrón	HA 292	3
	black	noires	schwarz	negro	Narval 30	4
42.	Seed: spots on pericap	Grain: tâches sur le péricarpe	Korn: Flecken auf der Samenschale	Semilla: manchas en el pericarpio		
	absent	absentes	fehlend	ausentes		1
	present	présentes	vorhanden	presentes		9

VIII. Erklärungen zu der Merkmalstabelle

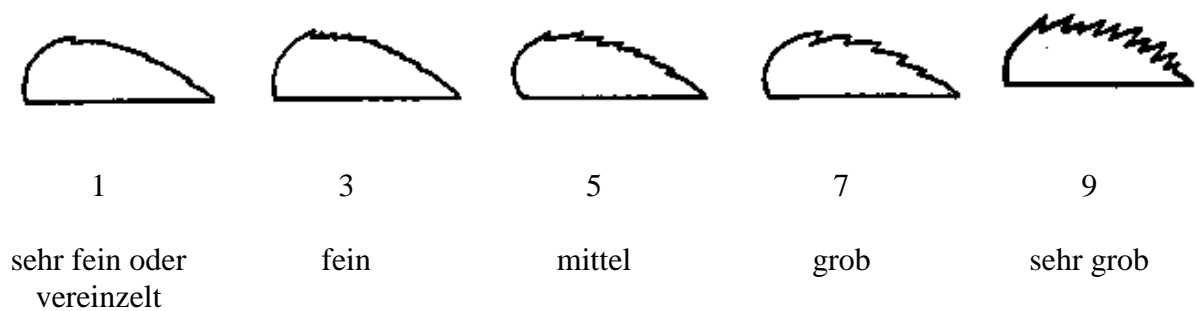
Zu 4: Blatt: Form des distalen Teilen



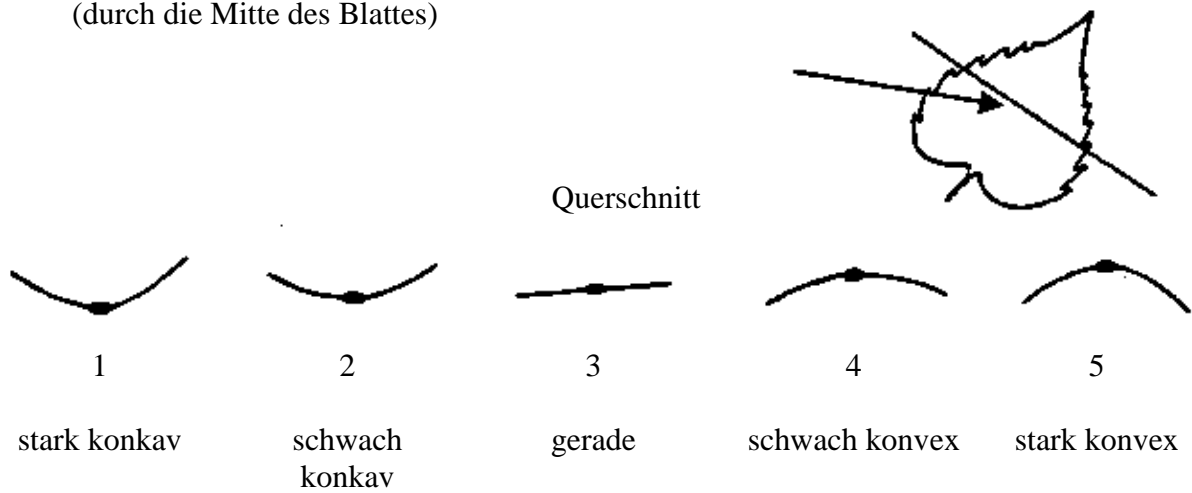
Ad. 5: Blatt: Auricula



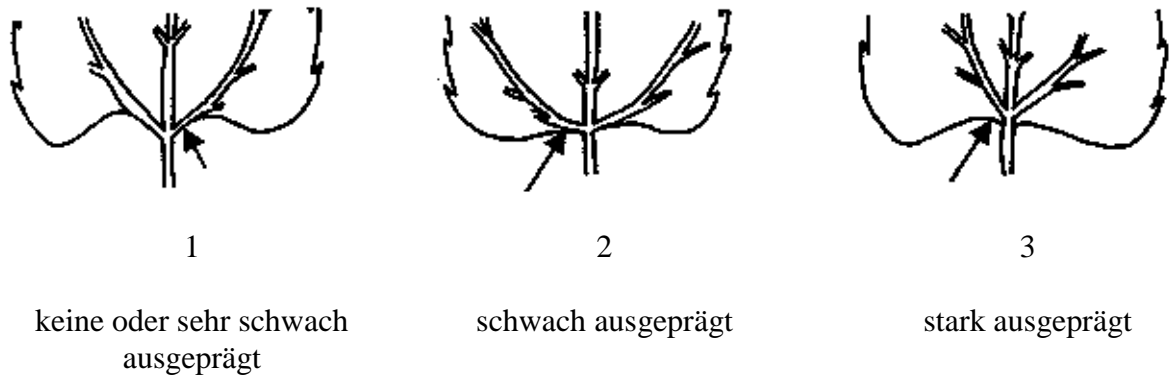
Zu 8: Blatt: Zähnung



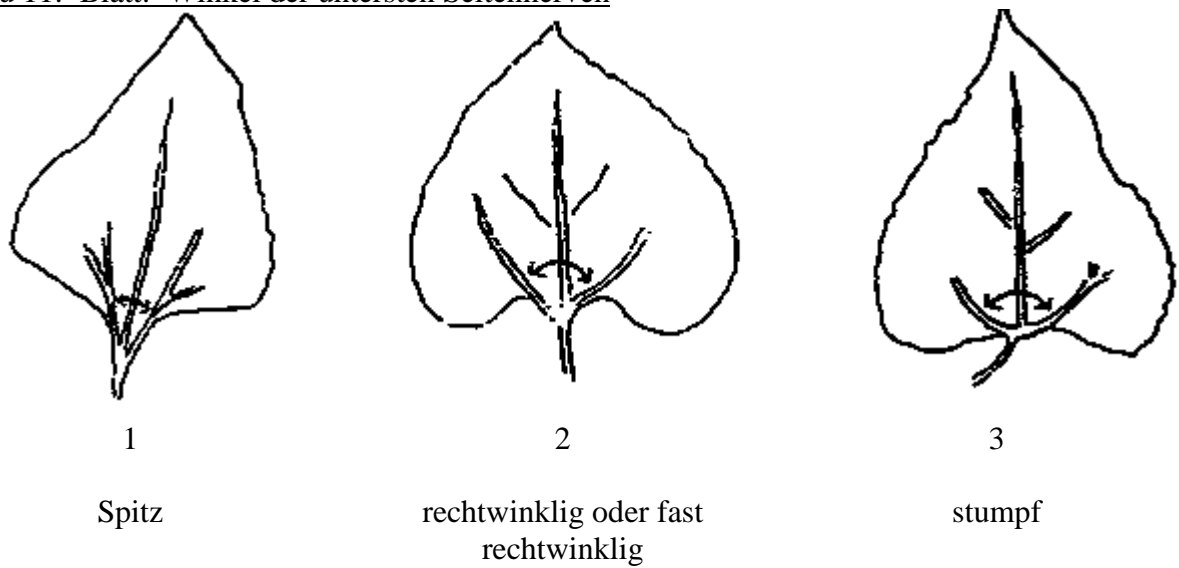
Zu 9: Blatt: Form des Querschnitts
 (durch die Mitte des Blattes)



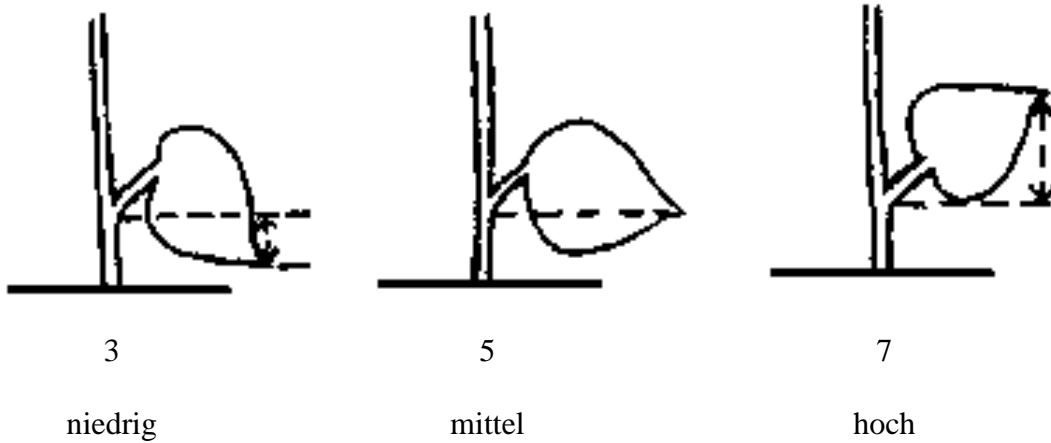
Zu 10: Blatt: Flügel
 (Parenchym an der Basis der untersten Seitennerven)



Zu 11: Blatt: Winkel der untersten Seitennerven



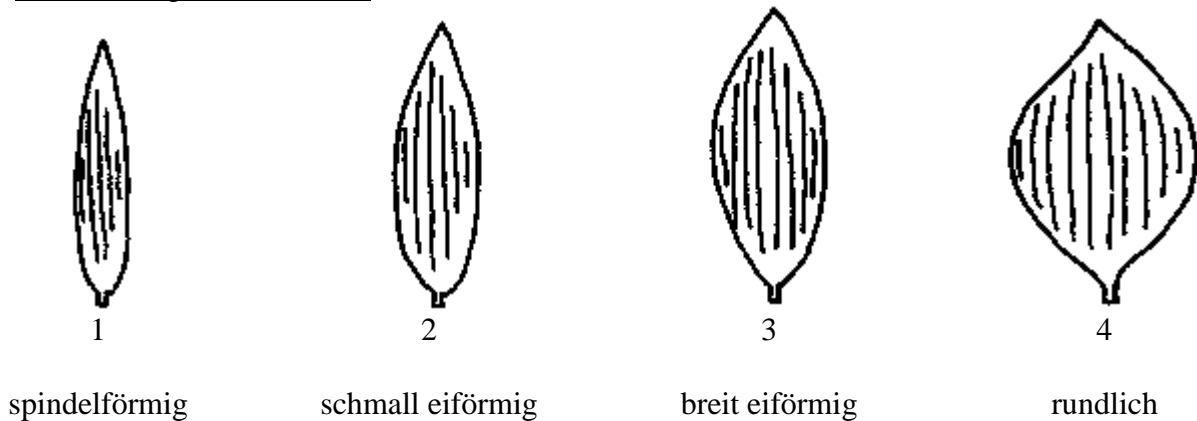
Zu 12 Blatt: Höhe der Blattspitze im Verhältnis zur Ansatzstelle des Stieles (in 2/3 der Pflanzenhöhe)



Zu 14: Zeitpunkt der Blüte

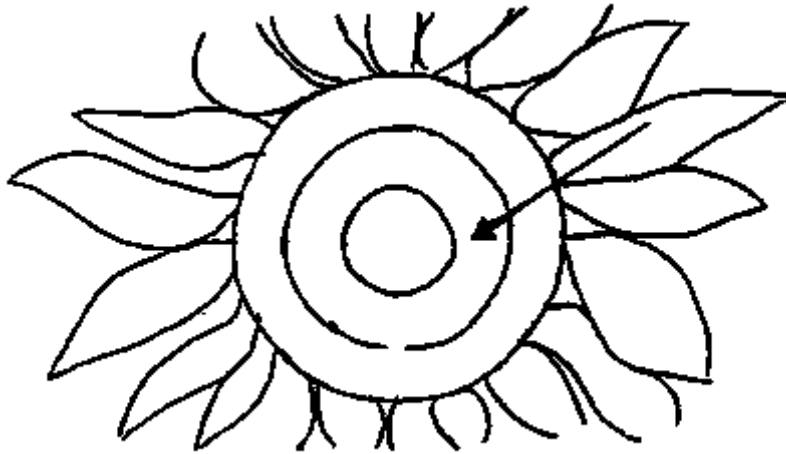
Der Zeitpunkt der Blüte ist erreicht, wenn 50% der Pflanzen blühen. Eine Pflanze wird als blühend angesehen, wenn sie wenigstens eine aufrechte und gefärbte Zungenblüte aufweist.

Zu 16: Zungenblüte: Form

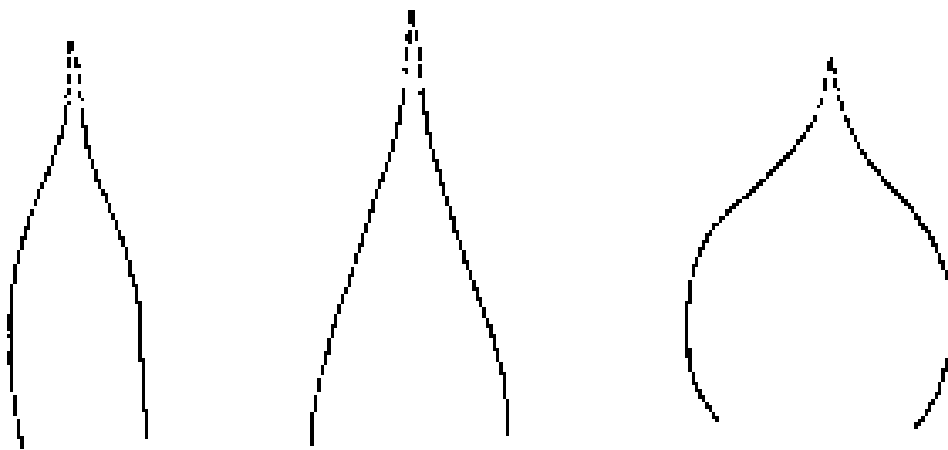


Zu 21 und 22: Röhrenblüte: Anthocyanfärbung der Narbe

Die Anthocyanfärbung sollte an Narben aus dem mittleren Drittel des Korbes erfaßt werden und zwar unmittelbar nach dem Erscheinen des Pollens an der Spitze der Antheren.



Zu 24: Hüllblatt: Form



1

deutlich länglich

2

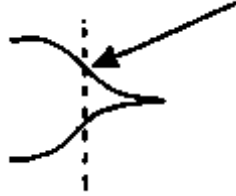
weder deutlich
länglich noch deutlich
rundlich

3

deutlich rundlich

Zu 25: Hüllblatt: Länge der Spitze

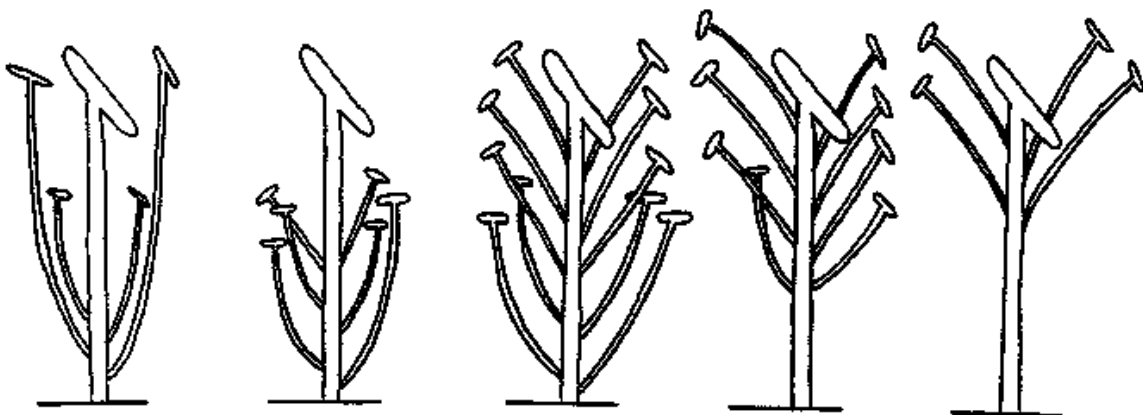
Die Spitze beginnt dort, wo sich der
Kurvenverlauf ändert



Zu 27: Pflanze: natürlicher Höhe

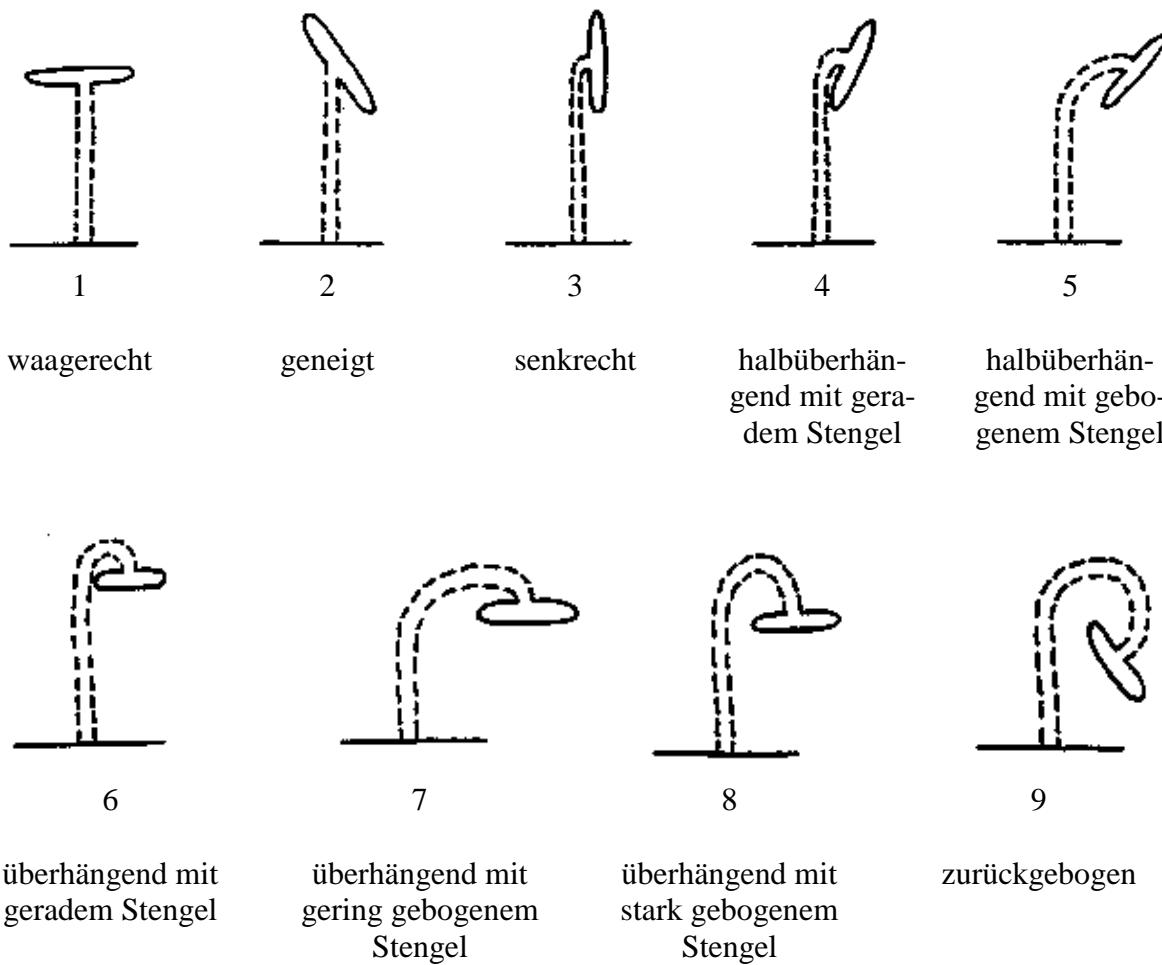
Unterschiedliche Umweltbedingungen können getrennte Skalen für Linien, Hybriden
und offen-abblühende Sorten erfordern

Zu 30: Pflanze: Art der Verzweigung
(ohne umweltbedingte Verzweigung)

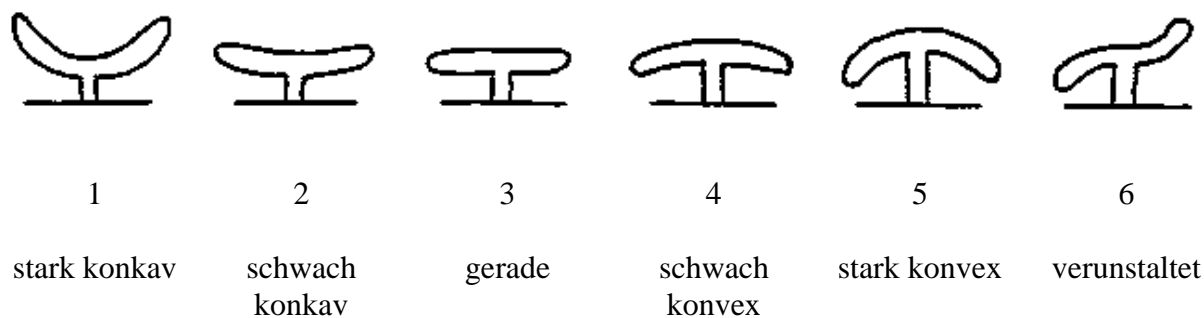


- | | | | | |
|-----------|-------------------|-------------|--------------------|------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| nur basal | überwiegend basal | vollständig | überwiegend apikal | nur apikal |

Zu 32: Korb: Haltung



Zu 34: Korb: Form der Kornseite



Zu 36: Korn: Form



1

länglich



2

schmal eiförmig



3

breit eiförmig



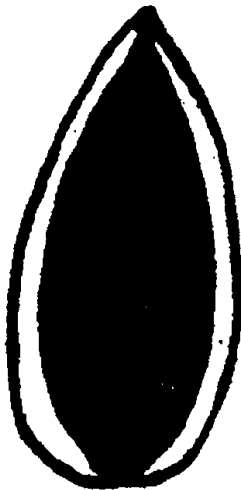
4

rundlich

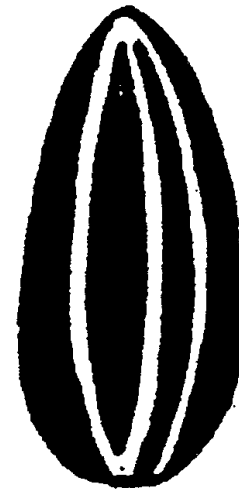
Zu 38: Korn: Hauptfarbe

Die Hauptfarbe des Korns ist die Farbe mit der größten Fläche. Bei Zweifeln bezüglich der größten Fläche ist die dunkelste Farbe die Hauptfarbe.

Zu 39 und 40: Korn: Streifen



am Rand



zwischen dem Rand

ENTWICKLUNGSSTADIEN VON SONNENBLUME¹

(Ein Stadium ist erreicht, wenn 50% der Pflanzen dieses Stadium aufweisen)

Keimung - Aufgang (A)



A 1

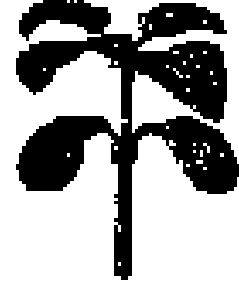
Erscheinen des Keimblatts als Haken.



A 2

Erscheinen der Keimblätter und erste Blätter sichtbar.

Vegetative Phase (B)



B 3 – B 4

Das zweite Paar gegenüberstehender Blätter erscheint und hat eine Länge von ca. 4 cm; die Stiele sind von unten her sichtbar.

Phase der Blütenknospenentwicklung (E)



E 1

Erscheinen der Blütenknospe in der Mitte der eng anliegenden jungen Blätter: Stadium der Sternknospe.



E 2

Die Knospe steht von der Blattkrone ab, die Hüllblätter sind deutlich von den Blättern unterscheidbar. Der Durchmesser schwankt zwischen 0,5 und 2 cm.



E 4

Die Knospe ist deutlich frei von den Blättern, ihr Durchmesser schwankt zwischen 5 und 8 cm, sie bleibt horizontal. Ein Teil der Hüllblätter ist entfaltet.

¹ Mit freundlicher Genehmigung von CETIOM (Frankreich) abgedruckt.

Blüte (F)



F 1

Die Blütenknospe neigt sich, die Zungenblüten stehen aufrecht auf dem Korb.



F 3.2

Die Antheren der drei äußersten Reihen der Röhrenblüten sind sichtbar und freistehend und ihre Narben entfaltet.



M 0

Abfall der Zungenblüten. Die Korbrückseite ist noch grün.

Reifezeit (M)



M 2

Die Korbrückseite ist gelb. Die Hüllblätter sind zu 3/4 braun. Die Feuchtigkeit des Korns beträgt ca. 20 bis 25%.



M 3

Die Korbrückseite ist braun marmoriert. Die Hüllblätter sind braun. Der Stengel trocknet aus. Die Feuchtigkeit des Korns liegt bei ca. 15%.



M 4

Alle Organe der Pflanze sind dunkelbraun. Die Feuchtigkeit des Korns liegt bei ca. 10%.

IX. Literatur

J.F. Miller: "Update on Inheritance of Sunflower Characteristics," USDA - ARS, Northern Crop Science Laboratory, Fargo, North Dakota 58105, USA

X. Technischer Fragebogen

	Referenznummer (nicht vom Anmelder auszufüllen)
TECHNISCHER FRAGEBOGEN in Verbindung mit der Anmeldung zum Sortenschutz auszufüllen	
1. Art	<i>Helianthus annuus L.</i> SONNENBLUME
2. Anmelder (Name und Adresse)	
3. Vorgeschlagene Sortenbezeichnung oder Anmeldebezeichnung	

4. Informationen über Ursprung, Erhaltung und Vermehrung der Sorte

4.1 Züchtungsmaterial

- a) Inzuchtlinie
 - männlich sterile Linie []
 - männlich fertile Linie []
- b) Hybride
 - männlich sterile Einfachhybride []
 - männlich fertile Einfachhybride []
 - Dreiweghybride []
- c) offen abblühende Sorte []
- d) sonstige (Formel angeben) []

.....

4.2 Formel (gegebenenfalls die Informationen gemäß den nachstehenden Kapiteln 5 bis 7 für jede Komponente auf getrennten Blättern hinzufügen).

Einfachhybride

(.....) x (.....)
 weibliche Linie männliche Linie

Dreiweghybride

- als weiblicher Elter verwendete Einfachhybride:

(.....) x (.....)
 weibliche Linie männliche Linie

- männliche Elternlinie der Dreiweghybride:

NB: Im Fall der Verwendung eines Systems männlicher Sterilität ist der Maintainer der weiblichen Elternlinie anzugeben:

.....

4.3 Genetische Herkunft (im Falle von Hybridsorten für jede einzelne Komponente auszufüllen)

Komponentenname	Genetische Herkunft	Herkunft mit irgendeiner bereits bekannten Komponente
...
...

4.4 Sonstige Informationen

5. Anzugebende Merkmale der Sorte (die in Klammern angegebene Zahl verweist auf das entsprechende Merkmal in den Prüfungsrichtlinien; die Ausprägungsstufe, die der Sorte am nächsten kommt, bitte ankreuzen).

Merkmale	Beispielssorten	Note
5.1 Blatt: Grünfärbung (6)		
hell	H 52.9.1.1	3[]
mittel	HA 821	5[]
dunkel	HA 303	7[]
5.2 Blatt: Blasigkeit (7)		
fehlend oder sehr gering		1[]
gering	HA 342, RHA 273	3[]
mittel	HA 291	5[]
stark	HA 303, RHA 361	7[]
sehr stark		9[]
5.3 Zeitpunkt der Blüte (14)		
sehr früh	HA302, RHA 381	1[]
früh	RHA 273	3[]
mittel	RHA 274	5[]
spät	RHA 271	7[]
sehr spät	RHA 361	9[]

Merkmale	Beispielsorten	Note
5.4 Zungenblüte: Farbe (19)		
elfenbein		1[]
hellgelb		2[]
mittelgelb	HA 89	3[]
orange gelb	RHA 361	4[]
orange	CM 587, RHA 295	5[]
purpur		6[]
rotbraun		7[]
mehrfarbig		8[]
5.5 Pflanze: natürliche Höhe (bei der Reife) (27)		
sehr kurz	HA 379	1[]
kurz	HA 291	3[]
mittel	RHA 801	5[]
lang	H 52.9.1.1	7[]
sehr lang		9[]
5.6 Pflanze: Verzweigung (ohne umweltbedingte Verzweigung) (29)		
fehlend	HA89	1[]
vorhanden	RHA 271	9[]
5.7 Korn: Streifen am Rand (39)		
keine oder sehr schwach ausgeprägt	RHA 273	1[]
schwach ausgeprägt	H 52.9.1.1	2[]
stark ausgeprägt	HA 89	3[]

Merkmale		Beispielsorten	Note
5.8 Korn: Streifen zwischen dem Rand (40)			
keine oder sehr schwach ausgeprägt		RHA 273	1[]
schwach ausgeprägt		RHA 293	2[]
stark ausgeprägt		HA 89	3[]
6. Ähnliche Sorten und Unterschiede zu diesen Sorten			
Bezeichnung der ähnlichen Sorte	Merkmal, in dem die ähnliche Sorte unterschiedlich ist ^{o)}	Ausprägungsstufe der ähnlichen Sorte	Ausprägungsstufe der Kandidatensorte
<p>^{o)} Sofern die Ausprägungsstufen der beiden Sorten identisch sind, bitte die Größe des Unterschieds angeben.</p>			

7. Zusätzliche Informationen zur Erleichterung der Unterscheidung der Sorte

7.1 Resistenz gegen Schädlinge und Krankheiten

- a) Mehltau []
(die Rassen angeben)

.....
.....

- b) Rost []

- c) Sonstige Schädlinge und Krankheiten []
(erläutern)

.....

7.2 Verwendung

- a) Öl und Ölkuchen []
b) Vogelfutter und direkter menschlicher Verzehr []
c) Zu Zierzwecken []
c) Sonstige Verwendung []

.....

7.3 Besondere Bedingungen für die Prüfung der Sorte

7.4 Sonstige Informationen

8. Genehmigung zur Freisetzung

- a) Ist es erforderlich, eine vorherige Genehmigung zur Freisetzung der Sorte gemäß der Gesetzgebung für Umwelt-, Gesundheits- und Tierschutz zu erhalten?

Ja [] Nein []

- b) Wurde eine solche Genehmigung erhalten?

Ja [] Nein []

Sofern die Frage mit "ja" beantwortet wurde, bitte eine Kopie der Genehmigung beifügen.

[Anlage folgt]

ANLAGE

Zusätzliche nützliche Erklärungen

	<u>INHALT</u>	<u>SEITE</u>
Teil I:	Einführung	2
Teil II:	Merkmale, die sich bei Verwendung der Elektrophorese ergeben	3
Teil III:	Beschreibung der zu verwendenden Methode	5

Teil I

Einführung

Die folgende Anlage enthält eine Liste der Merkmale, die sich bei Verwendung der Elektrophorese ergeben, sowie eine Beschreibung der zu verwendenden Methode. Die UPOV hat entschieden, diese Merkmale in einer Anlage zu den Prüfungsrichtlinien aufzuführen und damit eine besondere Kategorie von Merkmalen zu bilden, da die Mehrheit der UPOV Verbandsstaaten der Meinung ist, daß es nicht möglich ist, die Unterscheidbarkeit allein auf der Grundlage eines Unterschiedes zu begründen, der in einem mit Hilfe der Elektrophorese sich ergebenden Merkmal erfaßt wurde. Solche Merkmale sollten daher nur ergänzend zu anderen Unterschieden in morphologischen oder physiologischen Merkmalen verwendet werden. Die UPOV bestätigt, daß diese Merkmale als nützlich angesehen werden; es könnte aber sein, daß sie alleine für sich genommen für die Erstellung der Unterscheidbarkeit nicht ausreichen. Sie sollten nicht als Routinemerkmale verwendet werden, sondern nur auf Antrag oder mit Zustimmung des Anmelders der Kandidatensorte.

Teil II

Merkmale, die sich bei der Verwendung der Elektrophorese ergeben

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
43. (+)	Allele expression at locus Me1	Expression allélique au locus Me1	Allel-Ausprägung im Genlocus Me1	Expression alélica del locus Me 1		
	Genotype 2/2	Génotype 2/2	Genotyp 2/2	Genotipo 2/2	HA89	1
	Genotype 4/4	Génotype 4/4	Genotyp 4/4	Genotipo 4/4	RHA274	2
	Genotype 2/4	Génotype 2/4	Genotyp 2/4	Genotipo 2/4	Florence	3
44. (+)	Allele expression at locus Pgd1	Expression allélique au locus Pgd1	Allel-Ausprägung im Genlocus Pgd1	Expression alélica del locus Pgd1		
	Genotype 2/2	Génotype 2/2	Genotyp 2/2	Genotipo 2/2	RHA274	1
	Genotype 4/4	Génotype 4/4	Genotyp 4/4	Genotipo 4/4	HA850	2
	Genotype 2/4	Génotype 2/4	Genotyp 2/4	Genotipo 2/4	Santafe	3
45. (+)	Allele expression at locus Pgi2	Expression allélique au locus Pgi2	Allel-Ausprägung im Genlocus Pgi2	Expression alélica del locus Pgi2		
	Genotype 2/2	Génotype 2/2	Genotyp 2/2	Genotipo 2/2	RHA274	1
	Genotype 4/4	Génotype 4/4	Genotyp 4/4	Genotipo 4/4	H559211	2
	Genotype 2/4	Génotype 2/4	Genotyp 2/4	Genotipo 2/4	Santafe	3
46. (+)	Allele expression at locus Shdh1	Expression allélique au locus Shdh1	Allel-Ausprägung im Genlocus Shdh1	Expression alélica del locus Shdh 1		
	Genotype 2/2	Génotype 2/2	Genotyp 2/2	Genotipo 2/2	HA89	1
	Genotype 4/4	Génotype 4/4	Genotyp 4/4	Genotipo 4/4	RHA856	2
	Genotype 2/4	Génotype 2/4	Genotyp 2/4	Genotipo 2/4	Florence	3

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
47. (+)	Allele expression at locus Pgm4	Expression allélique au locus Pgm4	Allel-Ausprägung im Genlocus Pgm4	Expression alélica del locus Pgm4		
	Genotype 2/2	Génotype 2/2	Genotyp 2/2	Genotipo 2/2	RHA274	1
	Genotype 4/4	Génotype 4/4	Genotyp 4/4	Genotipo 4/4	HA89	2
	Genotype 2/4	Génotype 2/4	Genotyp 2/4	Genotipo 2/4	Florence	3

Teil III

Beschreibung der zu verwendenden Methode

Beschreibung der SGE-Methode für die Analyse von Isoenzymen von *Helianthus annuus L.*

1. Anzahl der Keimlinge pro Prüfung

- zur Überprüfung der Formel:
 - 10 Keimlinge von jeder Inzuchtlinie
 - 4 Keimlinge von Einfachhybriden
 - 10 Keimlinge von 3-Weghybriden
- für die Prüfung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit:
 - mindestens 40 Keimlinge für Inzuchtlinien, Hybriden und freiabblühende Sorten.

2. Geräte und Ausrüstung

Verwendet werden kann jedes geeignete horizontale Elektrophorese-System unter der Voraussetzung, daß die Gele auf einer Temperatur von 4° C gehalten werden können. Die Gele sollten eine Stärke von 10 mm aufweisen. Die verwendete Energiequelle sollte sowohl konstante Stromstärke als auch eine konstante Stromspannung liefern.

3. Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien sollten mindestens Analysenreinheit aufweisen.

3.1 Chemikalien zur Enzym-Extraktion

β-Mercaptoethanol
Salzsäure (HCl)
Tris-(hydroxymethyl)-Aminomethan (Tris)

3.2 Chemikalien zur Elektrophorese

Bromphenolblau
Citronensäure-Monohydrat
L-Histidin
Hydrolisierte Stärke für Elektrophorese (Sigma S-4501 oder gleichwertig)

3.3 Chemikalien zur Enzymfärbung

DL-Aepfelsäure
Dimethylthiazol-Diphenyl-Tetrazolium (MTT)
Ethanol 95 %
Ethylenediamin-Tetraessigsäure Na₂-Salz (EDTA Na₂)

D-Fructose 6-Phosphat Na₂-Salz
α-D-Glucose-1-Phosphat-Na₂-Salz
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Sigma G5885)
Magnesium-Chlorid-Hexahydrat (MgCl₂ x 6H₂O)
Natriumhydroxid (NaOH)
β-Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADP)
Nitro-Blue-Tetrazolium (NBT)
Phenazin-Methosulfat (PMS)
6-Phosphogluconsäure Na₃-Salz-Dihydrat
Salzsäure (HCl)
Shikimisäure
Tris-(hydroxymethyl)-Aminomethan (Tris)

4. Lösungen

4.1 Extraktionslösung: 0,1 M Tris-HCl (pH 7,2) und 0,2 % 2-Mercaptoethanol (v/v).

4.2 Elektrophoresepuffer

4.2.1 Puffer für SGE pH 6,5

4.2.1.1 Stammlösung: 0,364 M L-Histidin-Citrat

50,44 g L-Histidin
8,34 g Citronensäure-Monohydrat,
mit entionisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt

4.2.1.2 Elektrophoresepuffer: 0,072 M L-Histidin-Citrat pH 6,5 (Stammlösung, verdünnt 1 in 5)

400 ml Stammlösung (4.2.1.1),
mit entionisiertem Wasser auf 2 Liter aufgefüllt

4.2.1.3 Gelpuffer: 0,024 M L-Histidin-Citrat(Stammlösung, verdünnt 1 in 15)

80 ml Stammlösung (4.2.1.1),
mit entionisiertem Wasser auf 1200 ml aufgefüllt

4.2.2 Puffer für SGE pH 5,7

4.2.2.1 Elektrophoresepuffer: 0,067 M L-Histidin-Citrat pH 5,7:

20,18 g L-Histidin
8,34 g Citronensäure-Monohydrat,
mit entionisiertem Wasser auf 2 Liter aufgefüllt

4.2.2.2 Gelpuffer: 0,011 M L-Histidin-Citrat (Elektrophoresepuffer, verdünnt 1 in 6)

100 ml Elektrophoresepuffer (4.2.2.1), mit entionisiertem Wasser auf 1200 ml aufgefüllt

4.2.2.3 Bromphenolblau-Lösung:

50 mg Bromphenolblau, in 100 ml entionisiertem Wasser aufgelöst

4.3 Farblösungen

4.3.1 Stammlösungen

4.3.1.1 1 M Tris-HCl pH 7,5

121,1 g Tris, mit entionisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und mit 50 % HCl auf pH 7,5 eingestellt

4.3.1.2 1 M Tris-HCl pH 8,5

121,1 g Tris, mit entionisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und mit 50 % HCl auf pH 8,5 eingestellt

4.3.1.3 MTT-Lösung

1,0 g MTT, mit entionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt

4.3.1.3 NBT-Lösung

1,0 g NBT, mit entionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt

4.3.1.5 PMS-Lösung

200 mg PMS, mit entionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt

4.3.1.6 MgCl₂-Lösung

10 g Magnesiumchlorid-Hexahydrat, mit entionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt

4.3.1.7 Aepfelsäure-Lösung

2,5 g DL-Aepfelsäure, mit entionisiertem Wasser auf 50 ml aufgefüllt und mit 1 M NaOH auf pH 8,0 eingestellt

4.3.2 Farblösungen

4.3.2.1 ME-Farblösung

100 ml 0,1 M Tris HCl, pH 7,5 (4.3.1.1, verdünnt 1 in 10)
4 ml Aepfelsäure-Lösung (4.3.1.7)
1 ml NBT-Lösung (4.3.1.4)

1 ml PMS-Lösung (4.3.1.5)
17,5 mg NADP
1,8 ml MgCl₂-Lösung (4.3.1.6)

4.3.2.2 PGI + PGD-Farblösung

100 ml 0,1 M Tris HCl, pH 7,5 (4.3.1.1, verdünnt 1 in 10)
100 mg Fructose 6-Phosphat Na₂-Salz
60 mg 6-Phosphogluconsäure Na₃-Trihydrat-Salz
10 mg NADP
1 ml MTT-Lösung (4.3.1.3)
1,5 ml PMS-Lösung (4.3.1.5)
1 ml MgCl₂-Lösung (4.3.1.6)
40 Einheiten Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase (Sigma G 5885)

Um PGI alleine anzufärben, keine 6-Phosphogluconsäure zugeben.

Um PGD alleine anzufärben, entweder kein Fructose-6-Phosphat Na₂-Salz oder keine Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase zugeben.

4.3.2.3 PGM-Farblösung

100 ml 0,1 M Tris-HCl, pH 8,5 (4.3.1.2, verdünnt 1 in 10)
150 mg α-D-Glucose-1-Phosphat 1H₂O₂-Na₂-Salz
150 mg EDTA Na₂
10 mg NADP
1,5 ml MTT-Lösung (4.3.1.3)
1 ml PMS-Lösung (4.3.1.5)
4 ml MgCl₂-Lösung (4.3.1.6)
140 Einheiten Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

4.3.2.4 ShDH-Farblösung

100 ml 0,2 M Tris HCl, pH 8,5 (4.3.1.2, verdünnt 1 in 5)
50 mg Shikimisäure
1 ml MTT-Lösung (4.3.1.3)
1,25 ml PMS-Lösung (4.3.1.5)
12 mg NADP

5. Verfahren

5.1 Enzym-Extraktion

Die Keimlinge werden im Dunkeln 2 bis 3 Tage bei einer Temperatur von 25° C auf feuchtem Keimungspapier angezogen. Die Samenschalen werden entfernt und die Cotyledonen werden mit einem Stößel bei 4° C in einem 1,5 ml Mikroröhrchen in jeweils 300 µl Extraktionslösung (4.1) homogenisiert.

Die Extrakte können bei -30° C oder bei -80° C aufbewahrt werden.

5.2 Herstellung des Gels

Die Gele werden am Vortag hergestellt.

Um zwei Stärkegele (18 x 18 x 1 cm) von 12,5 % herzustellen, ist folgendes nötig: 128 g Stärke werden in 1020 ml Gelpuffer (4.2.1.3 oder 4.2.2.2) bei 78° C in einem 1000 ml-Büchner-Kolben gelöst. Die Lösung wird 30 Sekunden entgast. Die Gele werden, gemäß der Beschreibung in der Bedienungsanleitung für das verwendete Gerät, in Gelformen gegossen. Die Bildung von Luftbläschen ist zu vermeiden. Man läßt die Gele bei Raumtemperatur mindestens 45 Minuten abkühlen, danach werden sie für 1 Stunde in den Kühlschrank gegeben. Die Gele werden dann über Nacht gelagert, wobei sie durch eine Polyäthylenfolie geschützt werden. Vor der Elektrophorese werden die Gele während mindestens einer Stunde auf 4° C abgekühlt.

5.3 Elektrophorese

5.3.1 Die Elektrophoresekammern werden mit 4° C kaltem Elektrophoresepuffer (4.2.1.2 oder 4.2.2.1) befüllt. Die Polyäthylenfolie wird entfernt. Jeweils in 3 cm und 4 cm Entfernung von dem kathodenseitigen Rand der Gußform werden zwei Querslitze in das Gel geschnitten.

Der so entstandene 1 cm breite Gelblock wird entfernt. Die Extrakte werden wie folgt aufgetragen: Die Enzymextrakte aus 5.1 werden aufgetaut und in 15 x 2 x 1 mm Dochte aus Chromatographie-Papier Whatman Nr. 3 aufgesaugt. Die Dochte werden in das Gel eingebracht, indem man sie an die Schnittfläche des Gels in Laufrichtung drückt. An den beiden Seiten des Gels wird ein mit Bromphenolblau-Lösung (4.2.2.3) als Markerfarbstoff für die Laufstrecke vollgesaugter Docht eingelegt. Der entnommene Gelblock wird sorgfältig wieder eingebaut. Jedes Gel wird mit einer Polyäthylenfolie bedeckt.

Zwei Gele mit den Extrakten auf der Kathodenseite werden auf zwei Elektrodenpuffertanks plaziert und in ein bei 4° C gehaltenes Kühlkabinett gebracht. Die Elektrophorese wird bei 4° C durchgeführt, die Laufrichtung ist anodenseits. Nach 15 Minuten bei herabgesetzter Spannung werden die Dochte entfernt und die Spannung erhöht. In beiden Phasen soll die Spannung konstant gehalten werden.

Die Elektrophoresebedingungen sind in der folgenden Tabelle definiert:

Puffersysteme	Stromspannung	Laufstrecke Bromphenolblau	Laufzeit
L-Histidin-Citrat pH 7,5	15 Min. bei 260 V, dann 290 V	13 cm	5 Stunden
L-Histidin-Citrat pH 6,5	15 Min. bei 240 V, dann 280 V	11 cm	5 Stunden

SGE pH 5,7 sollte eingesetzt werden zum Nachweis der ME, PGD und PGM. Die Isoenzyme PGM und ShDH sollten mittels SGE pH 6,5 analysiert werden.

5.4 Enzym-Färbung

Nach dem Abschalten des Stromes wird das Gel mittels eines feinen Stahldrahtes oder einer Angelschnur horizontal in 1 mm dicke Scheiben geschnitten. Die oberste Scheibe wird weggeworfen. Einzelne Gelscheiben werden im Dunkeln bei einer Temperatur von 37° C in folgenden Lösungen gefärbt:

für ME:	Lösung 4.3.2.1	Inkubationszeit: 15 Stunden
für PGI + PGD	Lösung 4.3.2.2	Inkubationszeit: 1 Stunde
für PGM:	Lösung 4.3.2.3	Inkubationszeit: 1/2 Stunde
für ShDH:	Lösung 4.3.2.4	Inkubationszeit: 1 Stunde

Nach der Färbung werden die Gelscheiben in destilliertem Wasser gewaschen und in 40 % Ethanol fixiert, bevor sie aufbewahrt werden. Folgende Verfahren werden für die langfristige Lagerung angewandt: die Gele werden zwischen zwei Cellophanfolien, die in 5 % Glycerin-Lösung eingeweicht wurden, getrocknet oder in versiegelten Polyäthylen-Beuteln aufbewahrt.

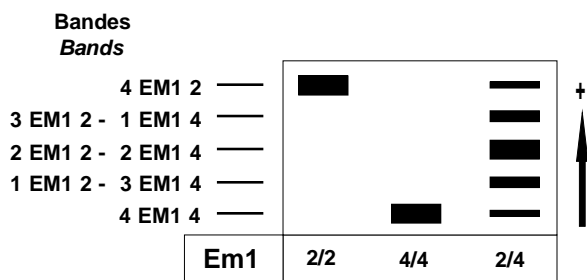
6. Zuordnung der Isoenzyme zu den codierenden Allelen

6.1 Zuordnung der ME

6.1.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Malatenzym (ME)	Tetramer	Me 1	2 4

6.1.2 Schematisierung der Zymogramme

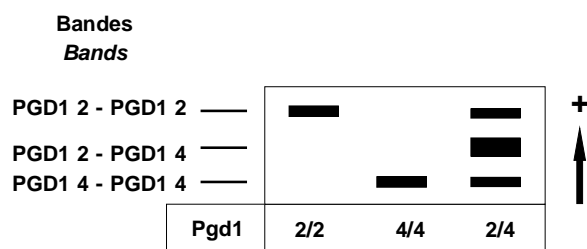


6.2 Zuordnung der PGD

6.2.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (PGD)	Dimer	Pgd1	2 4

6.2.2 Schematisierung der Zymogramme



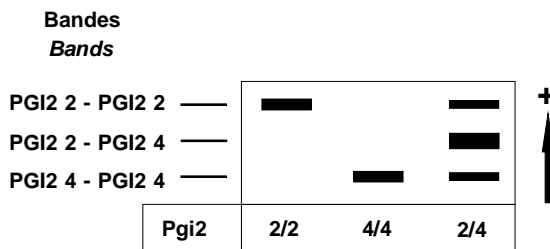
Zwei Zonen können beobachtet werden. Nur die Banden mit der geringsten Mobilität sind polymorph.

6.3 Zuordnung der PGI

6.3.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Phosphoglucoisomerase (PGI)	Dimer	Pgi2	2 4

6.3.2 Schematisierung der Zymogramme



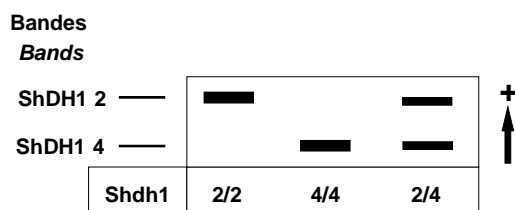
Es werden zwei Bandenblöcke beobachtet. Nur der Bandenblock mit der geringeren Mobilität wird ausgewertet.

6.4 Zuordnung der ShDH

6.4.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Shikimatdehydrogenase (ShDH)	Monomer	Shdh1	2 4

6.4.2 Schematisierung der ShDH-Zymogramme

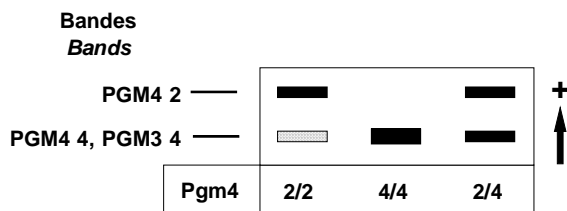


6.5 Zuordnung der PGM

6.5.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Phosphoglucomutase (PGM)	Monomer	Pgm4	2 4

6.5.2 Schematisierung der Zymogramme



Es können mehrere Bandenblöcke beobachtet werden. Nur der Bandenblock mit der höchsten Mobilität ist polymorph.

Es gibt einen weiteren Locus, den wir als Pgm3 bezeichnet haben. Dieser ist noch nicht untersucht, aber er codiert ein Enzym, daß die gleiche Mobilität aufweist wie Pgm4 4/4 aufweist. Folglich geben die Genotypen Pgm4 2/2 und Pgm4 2/4 ein zweibandiges Zymogramm. Beide Genotypen unterscheiden sich nur durch die relative Bandenintensität.

[Ende des Dokumentes]