

UPOV

TG/38/7(proj.3)

ORIGINAL: Inglés

FECHA: 17 de enero de 2003

UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES
GINEBRA

PROYECTO

TRÉBOL BLANCO

(*Trifolium repens* L.)

DIRECTRICES

PARA LA EJECUCIÓN DEL EXAMEN

DE LA DISTINCIÓN, LA HOMOGENEIDAD Y LA ESTABILIDAD

Nombre(s) alternativo(s): *

<i>Latín</i>	<i>Inglés</i>	<i>Francés</i>	<i>Alemán</i>	<i>Español</i>
<i>Trifolium repens</i> L.	Whiteclover	Trèfle blanc	Weissklee	Trébol blanco

DOCUMENTOS CONEXOS

Estas Directrices deberán leerse en conjunción con el documento TG/1/3, “Introducción General al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y al desarrollo de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales” (en adelante denominado “la Introducción General”) y sus documentos “T GP” conexos.

* Estos nombres eran correctos en el momento de la introducción de estas Directrices de Examen pero podrían ser objeto de revisión o actualización. [Se aconseja a los lectores consultar el código UPOV en el sitio Web de la UPOV (www.upov.int), donde encontrarán la información más reciente.]

ÍNDICE

Página

1. OBJETODEESTASDIRE CTRICES.....	3
2. MATERIALNECESARIO	3
3. MÉTODODEEXAMEN	3
3.1 Duracióndelosensayos	3
3.2 Lugardeejecióndelosensayos	3
3.3 Condicionesdeejecióndelosensayos	4
3.4 Diseñodelosensayos	4
3.5 Númerodeplantas/partesdeplantas queshadeexaminar	5
3.6 Ensayosadicionales	5
4. EVALUACIÓNDELADIS TINCIÓN,LAHOMOGENE IDADYLAESTABILIDA D.....	5
4.1 Distinción	5
4.2 Homogeneidad.....	5
4.3 Estabilidad	6
5. MODODEAGRUPARLAS VARIETADES YORGANIZ ACIÓNDELOSENSAYOS EN CULTIVO.....	6
6. INTRODUCCIÓNALATA BLADECARACTERES	6
6.1 Categoríasdecaracteres	6
6.2 Nivelesdeexpresiónynotascorrespondientes	7
6.3 Tiposdeexpresión	7
6.4 Variedadesejemplo	7
6.5 Leyenda	7
7. TABLADECARACTERES	8
8. EXPLICACIONESDELA TABLADECARACTERES	14
8.1 Explicacionesqueabarcanvariascaracterísticas	14
8.2 Explicacionesparacaracterísticasindividualmente	14
9. BIBLIOGRAFÍA	18
10. CUESTIONARIOTÉCNICO	19

1. ObjetodeestasDirectrices

Las presentes Directrices de Examen se aplican a todas las variedades de *Trifolium repens* L.

2. Materialnecesario

2.1 Las autoridades competentes deciden cuándo, dónde y en qué cantidad y calidad se deberá entregar el material vegetal necesario para la ejecución del examen de la variedad. Los solicitantes que presenten material procedente de un país distinto de aquel en el que se efectuará el examen, deberán asegurarse de que se han cumplido todas las formalidades aduaneras y fitosanitarias.

2.2 El material se entregará en forma de semilla.

2.3 La cantidad mínima de material vegetal que ha de entregar el solicitante deberá ser de:

1.0kg.

2.4 La semilla deberá satisfacer, por lo menos, los requisitos mínimos de germinación, pureza analítica y de la especie, sanidad y contenido de humedad que especifiquen las autoridades competentes. Cuando la semilla deba almacenarse, la capacidad de germinación deberá ser lo más elevada posible y deberá ser especificada por el solicitante.

2.5 El material vegetal proporcionado deberá presentar una apariencia saludable y no carecer de vicio ni estar afectado por enfermedades o plagas importantes.

2.6 El material vegetal deberá estar exento de todo tratamiento que afecte la expresión de los caracteres de la variedad, salvo autorización en contrario o solicitud expresa de las autoridades competentes. Si ha sido tratado, se deberá indicar en detalle el tratamiento aplicado.

3. Métododeexamen

3.1 *Duración de los ensayos*

La duración mínima de los ensayos deberá ser normalmente de dos ciclos de crecimiento independientes.

3.2 *Lugar de ejecución de los ensayos*

Normalmente los ensayos deberán efectuarse en un solo lugar. Si ese lugar no permite la expresión de ciertos caracteres de la variedad que sean pertinentes para el examen DHE, se podrá examinar la variedad en otro lugar.

3.3 *Condiciones de ejecución de los ensayos*

3.3.1 Se deberán efectuar los ensayos en condiciones que aseguren un desarrollo satisfactorio para la expresión de los caracteres pertinentes de la variedad y de la ejecución del examen.

3.3.2 Tipo de observación -visual o medición

El método recomendado para la observación del carácter se indica por medio de la siguiente clave en la segunda columna de la Tabla de caracteres.

MG: medición única de un grupo de plantas o partes de plantas
MS: medición de varias plantas o partes de plantas individuales
VG: evaluación visual mediante una única observación de un grupo de plantas o partes de plantas
VS: evaluación visual mediante observación de varias plantas o partes de plantas individuales

3.3.3 Tipo de parcela para efectuar la observación

El tipo de parcela recomendado en la cual se efectuará la observación del carácter se indica por medio de la siguiente clave en la segunda columna de la Tabla de caracteres.

A = plantas aisladas
B = parcelas en hileras
C = ensayos especiales

3.4 *Diseño de los ensayos*

3.4.1 General

Los ensayos deberán diseñarse de manera tal que se permita la extracción de plantas o partes de plantas para efectuar medidas y conteos, sin perjudicar las observaciones ulteriores que deberán efectuarse hasta el final del ciclo de vegetación.

3.4.2 Diseño de las parcelas

Cada ensayo deberá estar concebido de tal manera que resulte en un total de, por lo menos, 60 plantas individuales y 10 metros de parcelas en hileras.

Parcelas con plantas aisladas: Cada ensayo deberá consistir en 60 plantas individuales aisladas por variedad dispuestas en 3, 4, 5 o 6 repeticiones, en parcelas de 20, 15, 12 ó 10 plantas.

Parcelas en hileras: Cada ensayo que incluya parcelas en hileras deberá consistir en al menos 10 metros de hileras dispuestas en dos repeticiones de 5 metros cada una. La densidad de siembra deberá ser tal que permita obtener alrededor de 200 plantas por metro.

3.5 *Número de plantas/partes de plantas que se ha de examinar*

Salvo indicación en contrario, todas las observaciones determinadas por medición o conteo se deberán efectuar sobre 60 plantas o partes de cada una de las 60 plantas.

3.6 *Ensayos adicionales*

Se podrán efectuar ensayos adicionales para estudiar caracteres pertinentes.

4. Evaluación de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad

4.1 *Distinción*

4.1.1 *Recomendaciones generales*

4.1.1.1 Es de particular importancia para los usuarios de estas Directrices de Examen consultar la Introducción General antes de tomar decisiones relativas a la distinción. Sin embargo, se citan los puntos que figuran a continuación para mayor elaboración para hacer hincapié en ellos en las Directrices de Examen.

4.1.1.2 Los caracteres deberán medirse de manera tal de obtener un valor promedio por parcela: a partir de estos datos se podrá obtener el desvío estándar y remitir los datos a un análisis de variancia de doble entrada. Para establecer la distinción y la preparación de la descripción se deberá tener en cuenta la significancia de las diferencias medidas.

4.1.2 *Diferencias consistentes*

La duración mínima recomendada para los ensayos en la Sección 3.1 refleja, por lo general, la necesidad de garantizar que las diferencias en un carácter sean suficientemente consistentes.

4.1.3 *Diferencias claras*

El determinar si una diferencia entre dos variedades es clara depende de muchos factores y, para ello, se tendría que considerar, en particular, el tipo de expresión del carácter que se esté examinando, es decir, si éste se expresa de manera cualitativa, cuantitativa o pseudocualitativa. Por consiguiente, es importante que los usuarios de estas Directrices de Examen estén familiarizados con las recomendaciones contenidas en la Introducción General antes de tomar decisiones relativas a la distinción.

4.2 *Homogeneidad*

4.2.1 Es particularmente importante que los usuarios de estas Directrices de Examen consulten la Introducción General antes de tomar decisiones relativas a la homogeneidad. Sin embargo, se citan los puntos que figuran a continuación para mayor elaboración para hacer hincapié en ellos en las Directrices de Examen.

4.2.2 La evaluación de la homogeneidad para las variedades alógamas se efectuará de conformidad con las recomendaciones de la Introducción General.

4.2.3 Para la evaluación de la homogeneidad de la variedad, se deberá comparar el desvío estándar de la media de cada carácter con la media de los desvíos estándar de las variedades comparable empleando un método estadístico reconocido.

4.3 *Estabilidad*

4.3.1 En la práctica, no es corriente efectuar exámenes de la estabilidad que registren resultados tan fiables como los de un examen de la distinción y la homogeneidad. No obstante, la experiencia ha demostrado que, en muchos tipos de variedades, cuando una variedad ha demostrado ser homogénea, también podrá considerarse estable.

4.3.2 Cuando proceda, o en caso de duda, se examinará la estabilidad cultivando una generación complementaria o examinando un nuevo lote de semillas o plantas para verificar que se presentan los mismos caracteres que los contenidos en el material suministrado anteriormente.

5. Modo de agrupar las variedades y organización de los ensayos en cultivo

5.1 El modo de agrupar las variedades contribuye a la selección de las variedades notoriamente conocidas que se han de cultivar en el ensayo con las variedades candidatas y a la manera en que estas variedades se dividen en grupos para facilitar la evaluación de la distinción.

5.2 Los caracteres de agrupamiento son aquellos en los que los niveles de expresión documentados, aun cuando hayan sido registrados en distintos lugares, pueden utilizarse, individualmente o en combinación con otros caracteres similares: a) para seleccionar las variedades notoriamente conocidas que puedan ser excluidas del ensayo de cultivo utilizado para el examen de la distinción; y b) para organizar el ensayo en cultivo de manera tal que variedades similares queden agrupadas conjuntamente.

5.3 Ha habido acuerdo sobre la utilidad de los siguientes caracteres de agrupamiento:

- (a) Planta: prominencia de las marcas foliares blancas (carácter 5);
- (b) Hoja: tamaño del folíolo central (carácter 16).

5.4 En la Introducción General se dan orientaciones sobre el uso de los caracteres de agrupamiento en el proceso de examen de la distinción.

6. Introducción a la tabla de caracteres

6.1 *Categorías de caracteres*

6.1.1 Caracteres estándar de las Directrices de Examen

Los caracteres estándar de las Directrices de Examen son aquellos que han sido aprobados por la UPOV para el examen DHE y de los cuales los miembros de la Unión pueden elegir los que convengan para determinadas circunstancias.

6.1.2 Caracteres con asterisco

Los caracteres con asterisco (señalados con *) son los caracteres incluidos en las Directrices de Examen que son importantes para la armonización internacional de las descripciones de variedades y que deberán utilizarse siempre en el examen DHE e incluirse en la descripción de la variedad por todos los miembros de la Unión, excepto cuando el nivel de expresión de un carácter precedente o las condiciones medioambientales de la región lo imposibiliten.

6.2 Niveles de expresión y notas correspondientes

Se atribuyen a cada carácter niveles de expresión con el fin de definir el carácter y armonizar las descripciones. A cada nivel de expresión le corresponde una nota numérica para facilitar el registro de los datos y la elaboración y el intercambio de la descripción.

6.3 Tipos de expresión

En la Introducción General figura una explicación de los tipos de expresión de los caracteres (cualitativo, cuantitativo o pseudocualitativo).

6.4 Variedades ejemplo

En caso necesario, se proporcionan ejemplos de variedades en las Directrices de Examen con el fin de aclarar los niveles de expresión de un carácter.

6.5 Leyenda

(*) Carácter con asterisco –véase la sección 6.1.2

(QL) Carácter cualitativo –véase la sección 6.3

(QN) Carácter cuantitativo –véase la sección 6.3

(PQ) Carácter pseudocualitativo –véase la sección 6.3

(a)-(b) Véanse las explicaciones sobre la Tabla de Caracteres en el Capítulo 8, sección 8.1.

(+) Véanse las explicaciones sobre la Tabla de Caracteres en el Capítulo 8, sección 8.2.

MG }
MS }
VG } Tipode observación –véase la sección 3.3.2
VS }

A }
B } Tipode observación de la parcela –véase la sección 3.3.3
C }

7. Table of Characteristics/Tableau des caractères/Merkmalstabelle/Tablades caracteres

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1. A	Plant:tendency to form inflorescences before vernalization	Plante:tendance à former des inflorescences avant la vernalisation	Pflanze:Neigung zur Bildung von Blütenständen vor der Vernalisation	Planta:tendencia a formar inflorescencias antes de la vernalización		
(+)	VS					
QN	absent or very weak	nulle ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	Barbian	1
	weak	faible	gering	débil	Aran	3
	medium	moyenne	mittel	media	Milkanova	5
	strong	forte	stark	fuerte	LunedeMai	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte	Tivoli	9
2. A -VS	Plant:intensity of green color	Plante:intensité de la couleur verte	Pflanze:Intensität der Grünfärbung	Planta:intensidad del color verde		
(+)	B -VG					
QN	light	claire	hell	claro	Avoca	3
	medium	moyenne	mittel	medio	Milkanova	5
	dark	foncée	dunkel	oscuro	Brindisi	7
3. A -VS	Plant:density of foliage	Plante:densité du feuillage	Pflanze:Dichte des Laubes	Planta:densidad del follaje		
(+)	B -VG					
QN	low	faible	gering	baja	Makuri	3
	medium	moyenne	mittel	media	Barblanca	5
	high	élevée	hoch	alta	Grasslands Tahora	7
4. C	Plant:proportion of plants with cyanid glucoside	Plante:proportion de plantes à glucosides cyanogènes	Pflanze:Anteile der Pflanzen mit Cyanglukosid	Planta:proporción de plantas con glucosidos cianogénicos		
(+)						
QN	absent or very low	absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy baja	Pertina	1
	low	faible	gering	baja	Barbian	3
	medium	moyenne	mittel	media	Grasslands Tahora	5
	high	élevée	hoch	alta	Avoca	7
	very high	très élevée	sehr stark	muy alta	Grasslands Pitau	9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
5. A -VS (*) (+) B -VG	Plant:prominence ofwhiteleafmarks	Plante: proéminence desmarques foliairesblanches	Pflanze: Ausprägungder weißen Blattzeichnung	Planta: prominencia delasmarcas foliaresblancas		
QN	absentorveryweak	nulleoutrèsfaible	fehlendodersehr gering	ausenteomuydébil	SteinacherWeißklee	1
	weak	faible	gering	débil		3
	medium	moyenne	mittel	media	Asterix	5
	strong	forte	stark	fuerte		7
	verystrong	trèsforte	sehrstark	muyfuerte	Haifa	9
6. A -MS (*) (+) B -MG	Plant:timeof flowering	Plante:époquede floraison	Pflanze:Zeitpunkt derBlüte	Planta:épocadela floración		
QN	veryearly	trèsprécoce	sehrfrüh	muyprecoz	Haifa	1
	early	précoce	früh	precoz	Chieftain	3
	medium	moyenne	mittel	media	GrasslandsHuia	5
	late	tardive	spät	tardía	Tivoli	7
	verylate	trèstardive	sehrspät	muytardía	Regal	9
7. A -MS B -MG	Plant:natural height	Plante:hauteur naturelle	Pflanze:natürliche Höhe	Planta:altura		
QN (a)	short	courte	niedrig	corta	KentWildWhite	3
	medium	moyenne	mittel	media	Pertina	5
	tall	longue	hoch	larga	Milkanova	7
8. A MS	Plant:width	Plante:largeur	Pflanze:Breite	Planta:anchura		
QN (a)	narrow	étroite	schmal	estrecha	Asterix	3
	medium	moyenne	mittel	media	Regal	5
	broad	large	breit	ancha	Aran	7

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedadesejemplo	Note/ Nota
9.	A –VS	Plante:port	Pflanze:Wuchs form	Planta:porte		
	B –VG					
QN	(a)	semi-erect	demi dressé	halbaufrecht	semierecto	3
		intermediate	demi dresséà demi étalé	mittel	intermedio	Makuri 5
		semi-postrate	demi étalé	halbliiegend	semipostrado	GrasslandsTahora 7
10.	A	Stem: internode lengthofstolon	Tige:longueurde l'entreœud du stolon	Stengel: Internodienlänge desAusläufers	Tallo: longituddel entrenudodel estolón	
(+)	MS					
QN	(b)	short	court	kurz	corta	GrasslandsTahora 3
		medium	moyen	mittel	media	Aran 5
		long	long	lang	larga	Barblanca 7
11.	A	Stem:thicknessof stolon	Tige:grosseurdu stolon	Stengel:Dickedes Ausläufers	Tallo:grosordel estolón	
(+)	MS					
QN	(b)	verythin	trèsfin	sehrdünn	muydelgado	KentWildWhite 1
		thin	fin	dünn	delgado	Barbian 3
		medium	moyen	mittel	medio	GrasslandsHuia 5
		thick	gros	dick	grueso	Kersey 7
		verythick	très gros	sehrdick	muygrueso	Aran 9
12.	A	Leaf:lengthof petiole	Feuille:longueurdu pétiole	Blatt:Längedes Blattstiels	Hoja:longituddel pecíolo	
(+)	MS					
QN	(b)	short	court	kurz	corta	Asterix 3
		medium	moyen	mittel	media	GrasslandsHuia 5
		long	long	lang	larga	Chieftain 7

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
13.	A	Leaf:thicknessof petiole	Feuille:grosseurdu pétiole	Blatt:Dickedes Blattstiels	Hoja:grosordel pecíolo	
(+)	MS					
QN	(b)	verythin	trèsfin	sehrdünn	muydelgado	KentWildWhite 1
		thin	fin	dünn	delgado	Barbian 3
		medium	moyen	mittel	medio	Avoca 5
		thick	gros	dick	grueso	Milkanova 7
		verythick	trèsgros	sehrdick	muygrueso	Regal 9
14.	A	Leaf:lengthof medianleaflet	Feuille:longueurde lafoiolemédiane	Blatt:Längedes mittleren Fiederblattes	Hoja:longitud del folíolocentral	
(*)	MS					
(+)						
QN	(b)	veryshort	trèscourte	sehrkurz	muycorta	KentWildWhite 1
		short	courte	kurz	corta	Barbian 3
		medium	moyenne	mittel	media	Avoca 5
		long	longue	lang	larga	GrasslandsPitau 7
		verylong	trèslongue	sehrlang	muylar ga	Aran 9
15.	A	Leaf:widthof medianleaflet	Feuille:largeurdela foiolemédiane	Blatt:Breitedes mittleren Fiederblattes	Hoja:anchuradel folíolocentral	
(*)	MS					
(+)						
QN	(b)	verynarrow	trèsétroite	sehrschmal	muyestrecha	KentWildWhite 1
		narrow	étroite	schmal	estrecha	Barbian 3
		medium	moyenne	mittel	media	GrasslandsHuia 5
		broad	large	breit	ancha	GrasslandsPitau 7
		verybroad	trèslarge	sehrbreit	muyancha	Aran 9

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedadesejemplo	Note/ Nota
16.	A	Leaf: size of median leaflet	Feuille: taille de la foliole médiane	Blatt: Größe des mittleren Fiederblattes	Hoja: tamaño del folíolo central	
(*)	MS					
(+)						
QN	(b)	verysmall	trèspetite	sehrklein	muypequeño	KentWildWhite 1
		small	petite	klein	pequeño	Rivendel 3
		medium	moyenne	mittel	medio	Pertina 5
		large	grande	groß	grande	GrasslandsPitau 7
		verylarge	trèsgrande	sehrgroß	muygrande	Aran 9
17.	A	Leaf: ratio of length to width of median leaflet	Feuille: rapport longueur/largeur de la foliole latérale	Blatt: Verhältnis Länge/Breite des mittleren Fiederblattes	Hoja: relación longitud/anchura del folíolo central	
(*)	MS					
(+)						
QN		small	petit	klein	pequeño	Donna 3
		medium	moyen	mittel	medio	Barbian 5
		large	grand	groß	grande	Rivendel 7
18.	A	Inflorescence: length of peduncle	Inflorescence: longueur du pédoncule	Blütenstand: Länge des Blütenstandsstiels	Inflorescencia: longitud del pedúnculo	
(+)	MS					
QN		short	court	kurz	corto	KentWildWhite 3
		medium	moyen	mittel	medio	GrasslandsHuia 5
		long	long	lang	alto	Aran 7
19.	A	Inflorescence: thickness of peduncle	Inflorescence: grosseur du pédoncule	Blütenstand: Dike des Blütenstandsstiels	Inflorescencia: grosor del pedúnculo	
(+)	MS					
QN		thin	fin	dünn	delgado	GrasslandsDemand 3
		medium	moyen	mittel	medio	GrasslandsPitau 5
		thick	gros	dick	grueso	Aran 7

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
20.	A	Plant: number of inflorescences	Plante: nombre d'inflorescences	Pflanze: Anzahl Blütenstände	Planta: número de inflorescencias	
(+)	VS					
QN	small	petit	klein	pequeño	Regal	3
	medium	moyen	mittel	medio	Avoca	5
	large	grand	groß	grande	Milkanova	7
21.	A	Inflorescence: diameter	Inflorescence: diamètre	Blütenstand: Durchmesser	Inflorescencia: diámetro	
(+)	VS					
QN	small	petit	klein	pequeño	Grasslands Demand	3
	medium	moyen	mittel	medio	Beaumont	5
	large	grand	groß	grande	Crusader	7

8. Explicaciones de la tabla de caracteres

8.1 *Explicaciones que abarcan varias características*

Las características que incluyan el siguiente código en la segunda columna de la Tabla de Características deberán examinarse como se indica a continuación:

- (a) Las observaciones deberán efectuarse en plantas en época de floración (se considerará a la variedad como florecida cuando el 50% de las plantas hayan florecido).
- (b) Tallo y hoja : Las observaciones sobre el tallo y la hoja deberán efectuarse luego que todas las plantas de cada variedad en una repetición hayan florecido y dentro de las dos semanas siguientes a la floración. Se seleccionará para la medición el stolón en crecimiento más largo de cada planta.

8.2 *Explicaciones para características individualmente*

Ad.1: Planta: tendencia a formar inflorescencias antes de la vernalización

Se deberá efectuar la observación antes del período de vernalización. Se determinará y registrará el número de inflorescencias producidas por cada planta.

Ad.2: Planta: intensidad del color verde

Se deberá efectuar la observación en estado vegetativo, determinando y registrando el color verde general de la planta.

Ad.3: Planta: densidad del follaje

Se deberá efectuar la observación en estado vegetativo, determinando y registrando la cobertura general del suelo por el follaje de la planta.

Ad.4: Planta: proporción de plantas con glucosidos cianogénicos (HCN)

Preparación del papel con picrato de sodio (papel indicador):

Disolver 1.0 gr. de ácido pícrico en 100 ml de agua destilada (comúnmente se requiere calor).

Disolver 10 gr. de carbonato de sodio en 100 ml de agua destilada.

Cuando la solución de ácido pícrico se haya enfriado agregar la solución de carbonato de sodio, mezclar y almacenar en una botella para reactivos color ámbar.

Sumergir cintas de papel de filtro Whatmann N° 1 en esta solución las cuales se podrán guardar secas en un secante.

Procedimiento de análisis:

1. Se seleccionarán hojas sanas (preferentemente plegadas) de cada una de las sesenta plantas y se las colocará separadamente en tubos eppendorf (una hoja trifoliada por tubo).
2. Los tubos se cierran y se colocan en un congelador a 18°C bajo cero por un mínimo de dos horas.
3. Luego del congelado, se coloca una cinta de papel indicador a través de la apertura del tubo eppendorf y se cierra la tapa. Esto es suficiente para mantener el papel en su lugar.
4. Se colocan los tubos en un baño de agua a 50°C en la oscuridad por un tiempo de dos horas.
5. Ante la presencia de HCN el papel virará de amarillo a rojo. La reacción de color se registrará como presencia/ausencia de color rojo para cada una de las sesenta plantas.

Ad.5: Planta: prominencia de las marcas foliares blancas

Se efectuará la observación antes de la floración, determinando y registrando la planta en su totalidad. Se registrará la presencia de cualquier tipo de marca blanca o la completa ausencia de marcas.

Ad.6: Planta: época de la floración

En plantas individuales, se considerará que una planta está florecida cuando tres inflorescencias de dicha planta presenten color. Se deberá efectuar las observaciones al menos dos veces por semana. Se observará la época de floración de todas las plantas de la variedad y se establecerá como la época de floración de la variedad el momento en el cual el 50 % de las plantas hayan florecido.

En parcelas en hileras, se considerará que una planta está floreciendo cuando tres inflorescencias por plantas presenten color. Se deberán efectuar las observaciones al menos dos veces por semana. Se observará la época de floración de todas las plantas de la variedad y se establecerá como la época de floración de la variedad el momento en el cual el 80 % de las plantas hayan florecido.

Ad.10,11: Tallo: longitud del entrenudo (10) y grosor (11) del estolón

La longitud del entrenudo se medirá entre el tercer y cuarto nudo contados a partir del ápice.

El grosor del estolón se medirá en el punto medio entre el tercer y cuarto nudo contados a partir del ápice.

Ad.12 ,13:Hoja:longitud(12)y grosor(13)del pecíolo _____

Se deberá seleccionar para la medición el pecíolo de la tercer hoja expandida contada a partir del ápice del estolón.

La longitud del pecíolo se deberá medir desde la base del folíolo trifoliado central hasta el estolón. al

El grosor se deberá medir en el punto más ancho del pecíolo.

Ad.14,15:Hoja:longitud(14)y anchura(15),del folíolo central _____

Se deberá seleccionar para medir su longitud y anchura el folíolo trifoliado central de la tercer hoja expandida contada a partir del ápice del estolón.

Ad.16:Hoja:tamaño del folíolo central _____

Calculado a partir de las mediciones de la longitud de hoja (14) por la anchura de hoja (15).

Ad.17:Hoja:relación longitud/anchura del folíolo central _____ al

Calculado a partir de la relación entre la longitud de hoja (14) y anchura de hoja (15).

Ad.18,19: Inflorescencia:longitud (18)y grosor(19) del pedúnculo _____

Se seleccionará una inflorescencia madura tomada cerca del centro de la planta para medir la longitud y grosor del pedúnculo.

La longitud del pedúnculo deberá medirse desde la base de la inflorescencia hasta el estolón.

El grosor del pedúnculo deberá medirse en el punto medio entre la base de la inflorescencia y el estolón.

Ad.20:Planta número de inflorescencias _____

El número de inflorescencias por planta se determinará en cada una de las 60 plantas de la variedad a la madurez, normalmente 30 días luego de la floración de la variedad.

Ad.21: Inflorescencia:diámetro

La época de medición es como para 20. Se deberá estimar el tamaño de la inflorescencia sobre la planta en cada una de las 60 plantas de la variedad en una escala de 1 a 9 tomando la planta en su totalidad.

9. Bibliografía

No existe bibliografía específica.

10. CuestionarioTécnico

CUESTIONARIOTÉCNICO	Página{x}de{y}	Númerodereferencia:
		Fechadelasolicitud: (nodebeserrellenadoporel solicitante)
CUESTIONARIOTÉCNICO debeserrellenadoenrelaciónconunasolicituddederechosdeobtentor		
1. ObjetodelCuestionarioTécnico		
1.1 <i>Nombrelatino</i>	<input type="text" value="Trifoliumrepens L."/>	
1.2 <i>Nombrecomún</i>	<input type="text" value="Trébolblanco"/>	
2. Solicitante		
Nombre	<input type="text"/>	
Dirección	<input type="text"/>	
Númerodeléfono	<input type="text"/>	
Númerodefax	<input type="text"/>	
Direcciónelectrónica	<input type="text"/>	
Obtentor(sidiferentedelsolicitante)	<input type="text"/>	
3. Denominaciónpropuestayreferenciadelobtentor		
Denominaciónpropuesta (sistádisponible)	<input type="text"/>	
Referenciadelobtentor	<input type="text"/>	

CUESTIONARIOTÉCNICO	Página {x} de {y}	Númerodereferencia:
---------------------	-------------------	---------------------

4. Información sobre el método de obtención y la reproducción de la variedad

4.1 Método de obtención

4.2 Método de reproducción de la variedad:

5. Caracteres de la variedad que se deben indicar (el número entre paréntesis indica el carácter correspondiente en las Directrices de Examen; sírvase poner la nota apropiada).

Caracteres	Variedadesejemplo	Nota
5.1 Planta: prominencia de las marcas foliares blancas (5)		
ausente o muy débil	Steinacher Weißklee	1[]
débil		3[]
media	Asterix	5[]
fuerte		7[]
muy fuerte	Haifa	9[]

CUESTIONARIOTÉCNICO	Página{x}de{y}	Númerodereferencia:
5.2 Planta:épocadelafloración (6)		
muyprecoz	Haifa	1[]
precoz	Chieftain	3[]
media	GrasslandsHuia	5[]
tardía	Tivoli	7[]
muytardía	Regal	9[]
5.3 Hoja:longituddelfolío central (14)		
muycorta	KentWildWhite	1[]
corta	Barbian	3[]
media	Avoca	5[]
larga	GrasslandsPitau	7[]
muylarga	Aran	9[]
5.4 Hoja:anchuradelfolío central (15)		
muyestrecha	KentWildWhite	1[]
estrecha	Barbian	3[]
media	GrasslandsHuia	5[]
ancha	GrasslandsPitau	7[]
muyancha	Aran	9[]
5.5 Hoja:tamañodelfolío central (16)		
muypequeño	KentWildWhite	1[]
pequeño	Rivendel	3[]
medio	Pertina	5[]
grande	GrasslandsPitau	7[]
muy grande	Aran	9[]

