



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

**RICHTLINIEN**  
**FÜR DIE DURCHFÜHRUNG DER PRÜFUNG**  
**AUF UNTERSCHIEDBARKEIT, HOMOGENITÄT UND BESTÄNDIGKEIT**

**SOJABOHNEN**  
*(Glycine max (L.) Merrill.)*

**Genf**  
**1998**

Exemplare dieser Veröffentlichung können zum Preis von 10 Schweizer Franken pro Exemplar einschließlich normalem Porto von dem Büro der UPOV, 34, chemin des Colombettes, Postfach 18, 1211 Genf 20, Schweiz, bezogen werden.

Dieses Dokument oder Teile daraus dürfen ohne vorherige ausdrückliche Erlaubnis der UPOV vervielfältigt, übersetzt und veröffentlicht werden, vorausgesetzt, daß die Quelle angegeben wird.

\* \* \* \* \*

Revision von TG/80/3



TG/80/6

**ORIGINAL:** englisch

**DATUM:** 1998-04-01

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

## **RICHTLINIEN**

### **FÜR DIE DURCHFÜHRUNG DER PRÜFUNG**

### **AUF UNTERSCHIEDBARKEIT, HOMOGENITÄT UND BESTÄNDIGKEIT**

**SOJABOHNE**

***(Glycine max (L.) Merrill.)***

Diese Richtlinien sind in Verbindung mit dem 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.....	3
V. Gruppierung der Sorten.....	4
VI. Merkmale und Symbole.....	4
VII. Merkmalstabelle.....	5
VIII. Erklärungen zu der Merkmalstabelle.....	11
IX. Literatur.....	20
X. Technischer Fragebogen.....	21

ANLAGE

## I. Anwendung dieser Richtlinien

Diese Richtlinien gelten für alle Sorten von *Glycine max* (L.) Merrill.

## 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 Proben einzusendende Mindestmenge an Vermehrungsmaterial sollte betragen:

2 kg.

Das Saatgut sollte wenigstens die Mindestanforderungen an die Keimfähigkeit, den Feuchtigkeitsgehalt und die Reinheit für die Vermarktung von zertifiziertem Saatgut des Landes erfüllen, in dem die Anmeldung eingereicht wurde. Die tatsächliche Keimfähigkeit sollte so hoch wie möglich 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 Mindestprüfungsdauer sollte in der Regel zwei gleichartige Wachstumsperioden betragen.

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

3. Die Feldprüfungen 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 Beobachtungen, die bis zum Abschluß der Vegetationsperiode durchzuführen sind, beeinträchtigt werden. Jede Prüfung sollte insgesamt etwa 300 Pflanzen umfassen, die auf zwei oder mehrere 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.

## IV. Methoden und Erfassungen

1. Alle Erfassungen zur Feststellung der Unterscheidbarkeit und Beständigkeit sollten an 20 Pflanzen oder Teilen von 20 Pflanzen erfolgen.

2. Für die Bestimmung der Homogenität sollte ein Populationsstandard von 0,5 % mit einer Akzeptanzwahrscheinlichkeit von mindestens 95 % angewendet werden. Bei einer Probengröße von 300 Pflanzen würde die höchste zulässige Anzahl von Abweichern 4 betragen.

3. Alle Erfassungen am Blatt und an der Blüte sollten zum Zeitpunkt der Vollblüte erfolgen.

#### 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. Den zuständigen Behörden wird empfohlen, die nachstehenden Merkmale für die Gruppierung der Sorten heranzuziehen:

- a) Pflanze: Farbe der Behaarung des Haupttriebes (im mittleren Drittel) (Merkmal 5)
- b) Blüte: Farbe (Merkmal 11)
- c) Samen: Farbe des Nabels (Merkmal 17)
- d) Pflanze: Zeitpunkt der Reife (Merkmal 20)

#### 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 Erfassung eines jeden Merkmals ist durch eine Ziffer in der zweiten Spalte angegeben. Die durch die einzelnen Ziffern angegebenen Entwicklungsstadien sind am Ende des Kapitels VIII beschrieben.

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

Stage <sup>1)</sup> Stade <sup>1)</sup> Stadium <sup>1)</sup> Estado <sup>1)</sup>	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>1. 10</b> <b>(*)</b>	<b>Hypocotyl: anthocyanin coloration</b>	<b>Hypocotyle: pigmentation anthocyanique</b>	<b>Hypokotyl: Anthocyanfärbung</b>	<b>Hipocotilo: pigmentación antociánica</b>		
	absent	absente	fehlend	ausente	Chandor, Goldor	1
	present	présente	vorhanden	presente	Alaric, Apache, Imari	9
<b>2. 10</b>	<b>Hypocotyl: intensity of anthocyanin coloration</b>	<b>Hypocotyle: intensité de la pigmentation anthocyanique</b>	<b>Hypokotyl: Intensität der Anthocyanfärbung</b>	<b>Hipocotilo: intensidad de la pigmentación antociánica</b>		
	very weak	très faible	sehr gering	muy débil	Azzurra	1
	weak	faible	gering	débil	Akashi, Candir	3
	medium	moyenne	mittel	media	Canton, Kendo	5
	strong	forte	stark	fuerte	Aries, Visir	7
	very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte		9
<b>3. (*)</b> <b>(+)</b>	<b>Plant: growth type</b>	<b>Plante: croissance</b>	<b>Pflanze: Wuchstyp</b>	<b>Planta: crecimiento</b>		
	determinate	déterminée	begrenzt wachsend	determinado	Gnome, Spot, Fiskeby	1
	semi-determinate	semi-déterminée	halb begrenzt wachsend	semideterminado	Alaric, Alba, Silvia, Paradis	2
	semi-determinate to indeterminate	semi-déterminée à indéterminée	halb begrenzt wachsend bis unbegrenzt wachsend	semideterminado a indeterminado	Chandor, Kador	3
	indeterminate	indéterminée	unbegrenzt wachsend	indeterminado		4

	Stage <sup>1)</sup> Stade <sup>1)</sup> Stadium <sup>1)</sup> Estado <sup>1)</sup>	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>4.</b>	<b>66</b>	<b>Plant: growth habit</b>	<b>Plante: port</b>	<b>Pflanze: Wuchsform</b>	<b>Planta: porte</b>		
(+)		erect	dressé	aufrecht	erecto		1
		erect to semi-erect	dressé à demi-dressé	aufrecht bis halbaufrecht	erecto a semierecto	Tirol, Queen, Essor, Labrador	2
		semi-erect	demi-dressé	halbaufrecht	semierecto	Chandor, Apache, Paoki	3
		semi-erect to horizontal	demi-dressé à horizontal	halbaufrecht bis waagerecht	semierecto a horizontal	Alaric, Major, Sapporo	4
		horizontal	horizontal	waagerecht	horizontal		5
<b>5.</b>	<b>65-85</b>	<b>Plant: color of hairs of main stem (on middle third)</b>	<b>Plante: couleur de la pilosité de la tige principale (au tiers central)</b>	<b>Pflanze: Farbe der Behaarung des Haupttriebes (im mittleren Drittel)</b>	<b>Planta: color de la vellosidad del tallo principal (en el tercio central)</b>		
(*)		grey	grise	grau	gris	Apache, Alaric, Talon, Imari	1
		tawny	fauve	gelbbraun	castaño	Maple Glen, Chandor, Paoki, Agata	2
<b>6.</b>	<b>85</b>	<b>Plant: height</b>	<b>Plante: hauteur</b>	<b>Pflanze: Höhe</b>	<b>Planta: altura</b>		
(*)		short	basse	niedrig	baja	Carla, Paradis, Spot	3
		short to medium	basse à moyenne	niedrig bis mittel	baja a media	Trump, Essor	4
		medium	moyenne	mittel	media	Alaric, Chandor	5
		medium to tall	moyenne à haute	mittel bis hoch	media a alta	Kador	6
		tall	haute	hoch	alta	Tirol, Toréador	7



	Stage <sup>1)</sup> Stade <sup>1)</sup> Stadium <sup>1)</sup> Estado <sup>1)</sup>	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>7.</b>	<b>65</b>	<b>Leaf: blistering</b>	<b>Feuille: cloqûre</b>	<b>Blatt: Blasigkeit</b>	<b>Hoja: abullonado</b>		
		absent or very weak	absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	Bayou, Arpège, Chandor	1
		weak	faible	gering	débil	Kador, Quito	3
		medium	moyenne	mittel	medio	Paoki, Imari	5
		strong	forte	stark	fuerte	Matador	7
		very strong	très forte	sehr stark	muy fuerte		9
<b>8.</b>	<b>65</b>	<b>Leaf: shape of lateral leaflet</b>	<b>Feuille: forme de la foliole latérale</b>	<b>Blatt: Form der Seitenfieder</b>	<b>Hoja: forma del foliolo lateral</b>		
(*)		lanceolate	lancéolée	lanzettlich	lanceolado	Toréador, Dumas, Trésor	1
(+)		triangular	triangulaire	dreieckig	triangular	Contessa	2
		pointed ovate	pointue ovale	spitz eiförmig	oval puntiagudo	Kador, Major, Apache, Talon	3
		rounded ovate	arrondie ovale	abgerundet eiförmig	oval redondeado	Paoki, Agata, Chandor	4
<b>9.</b>	<b>65</b>	<b>Leaf: size of lateral leaflet</b>	<b>Feuille: taille de la foliole latérale</b>	<b>Blatt: Größe der Seitenfieder</b>	<b>Hoja: tamaño del foliolo lateral</b>		
		small	petite	klein	pequeño	Trump, Labrador, Baron, Arcade	3
		medium	moyenne	mittel	mediano	Alaric, Kushiro, Talon	5
		large	grande	groß	grande	Williams	7
<b>10.</b>	<b>65</b>	<b>Leaf: intensity of green color</b>	<b>Feuille: intensité de la couleur verte</b>	<b>Blatt: Intensität der Grünfärbung</b>	<b>Hoja: intensidad del color verde</b>		
		light	claire	hell	claro	Chandor, Arcade, Junior	3
		medium	moyenne	mittel	medio	Alaric, Apache, Imari	5
		dark	foncée	dunkel	oscuro	Spot. Cresir, Jedor, Ardir	7

	Stage <sup>1)</sup> Stade <sup>1)</sup> Stadium <sup>1)</sup> Estado <sup>1)</sup>	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>11.</b>	<b>66</b>	<b>Flower: color</b>	<b>Fleur: couleur</b>	<b>Blüte: Farbe</b>	<b>Flor: color</b>		
(*)		white	blanche	weiß	blanca	Chandor, Crésir, Toréador	1
		violet	violette	violett	violeta	Fransoy 242, Imari, Apache, Queen	2
<b>12.</b>	<b>85</b>	<b>Pod: intensity of brown color</b>	<b>Gousse: intensité de la couleur brune</b>	<b>Hülse: Intensität der Braunfärbung</b>	<b>Vaina: intensidad del color marrón</b>		
		light	claire	hell	clara	Chandor, Contessa, Alba, Arcade	3
		medium	moyenne	mittel	media	Alaric, Apache, Fuji, Paoki	5
		dark	foncée	dunkel	oscura	Toréador, Tirol, Royal	7
<b>13.</b>	<b>89</b>	<b>Seed: size</b>	<b>Graine: grosseur</b>	<b>Samen: Größe</b>	<b>Semilla: tamaño</b>		
		small	petite	klein	pequeña	Alba, Aurélia, Flusk GT 512	3
		medium	moyenne	mittel	mediana	Queen, Goldor	5
		large	grande	groß	grande	Clédor, Cervin, Mondor	7
<b>14.</b>	<b>89</b>	<b>Seed: shape</b>	<b>Graine: forme</b>	<b>Samen: Form</b>	<b>Semilla: forma</b>		
		spherical	sphérique	kugelförmig	subesférica	Paoki, Valkir, Niva	1
		spherical flattened	sphérique aplatie	kugelförmig abgeflacht	subesférica aplanada	Queen, Sapporo, Clédor	2
		elongated	allongée	länglich	alargada	Soleo, Talon, Excel, Recor	3
		elongated flattened	allongée aplatie	länglich abgeflacht	alargada aplanada		4

Stage <sup>1)</sup> Stade <sup>1)</sup> Stadium <sup>1)</sup> Estado <sup>1)</sup>	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>15. 89</b> (* )	<b>Seed: ground color of testa (excluding hilum)</b>	<b>Graine: couleur de fond du tégument (à l'exclusion du hile)</b>	<b>Samen: Grundfarbe der Samenschale (ohne Nabel)</b>	<b>Semilla: color de fondo del tegumento (excluyendo el filamento)</b>		
	yellow	claire	gelb	amarillo	Queen, Paoki	1
	yellow green	vert jaune	gelbgrün	verde amarillento		2
	green	verte	grün	verde		3
	light brown	brun clair	hellbraun	marrón claro		4
	medium brown	brun moyen	mittelbraun	marrón medio		5
	dark brown	brun foncé	dunkelbraun	marrón oscuro		6
black	noire	schwarz	negro		7	
<b>16. 89</b> (+ )	<b>Seed: coloration due to peroxidase activity in seed coat</b>	<b>Graine: coloration due à l'activité peroxidase dans le tégument</b>	<b>Samen: Färbung hervorgerufen durch Peroxidase-reaktion in der Samenschale</b>	<b>Semillas: coloración debida a la actividad de peroxidasa en el tegumento</b>		
	absent	absente	fehlend	ausente	Bragg	1
	present	présente	vorhanden	presente	Hood, Hood 75	2
<b>17. 89</b> (* )	<b>Seed: hilum color</b>	<b>Graine: couleur du hile</b>	<b>Samen: Farbe des Nabels</b>	<b>Semilla: color del hilo</b>		
	grey	gris	grau	gris	Spot, Major, Apache	1
	yellow	jaune	gelb	amarillo	Maple Arrow, Imari, Talon	2
	light brown	brun clair	hellbraun	marrón claro	Kingsoy, Argenta, Baron, Opale	3
	dark brown	brun foncé	dunkelbraun	marrón oscuro	Fransoy 242, Aurélia, Léman	4
	imperfect black	noir imparfait	fast schwarz	negro imperfecto	Wells, Kador, Folio	5
black	noir	schwarz	negro	Chandor, Queen, Paoki	6	
<b>18. 89</b>	<b>Seed: color of hilum funicle</b>	<b>Graine: couleur de l'attache hilaire</b>	<b>Samen: Farbe des Nabelansatzes</b>	<b>Semilla: color de la inserción del hilo</b>		
	same as testa	même couleur que le tégument	wie Samenschale	igual que el del tegumento	Queen	1
	different to testa	couleur différente du tégument	anders als Samenschale	diferente de el del tegumento	Gieso	2

Stage <sup>1)</sup> Stade <sup>1)</sup> Stadium <sup>1)</sup> Estado <sup>1)</sup>	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>19.</b> (* )	<b>Plant: time of beginning of flowering (50% plants with at least one flower open)</b>	<b>Plante: époque de début de floraison (50 % des plantes avec au moins une fleur ouverte)</b>	<b>Pflanze: Zeitpunkt des Blühbeginns (50 % der Pflanzen mit mindestens einer geöffneten Blüte)</b>	<b>Planta: fecha del comienzo de la floración (50 % de las plantas con al menos una flor abierta)</b>		
	very early	très précoce	sehr früh	muy precoz	Sito, Trump, Carla, Paradis	1
	very early to early	très précoce à précoce	sehr früh bis früh	muy precoz a precoz	Labrador, Essor, Arcade	2
	early	précoce	früh	precoz	Canton, Queen, Imari	3
	early to medium	précoce à moyenne	früh bis mittel	precoz a media	Kador, Alaric, Niva	4
	medium	moyenne	mittel	media	Williams	5
	medium to late	moyenne à tardive	mittel bis spät	media a tardía		6
	late	tardive	spät	tardía		7
	late to very late	tardive à très tardive	spät bis sehr spät	tardía a muy tardía		8
	very late	très tardive	sehr spät	muy tardía		9
<b>20.</b> (* )	<b>89</b> <b>Plant: time of maturity</b>	<b>Plante: époque de maturité</b>	<b>Pflanze: Zeitpunkt der Reife</b>	<b>Planta: fecha de la madurez</b>		
	very early	très précoce	sehr früh	muy precoz	Trump, Soléo, Kola, Carla, Paradis	1
	very early to early	très précoce à précoce	sehr früh bis früh	muy precoz a precoz	Chandor, Apache, Labrador	2
	early	précoce	früh	precoz	Canton, Queen, Paoki, Aurélia	3
	early to medium	précoce à moyenne	früh bis mittel	precoz a media	Kador, Kingsoy, Alaric, Niva	4
	medium	moyenne	mittel	media	Williams	5
	medium to late	moyenne à tardive	mittel bis spät	media a tardía		6
	late	tardive	spät	tardía		7
	late to very late	tardive à très tardive	spät bis sehr spät	tardía a muy tardía		8
	very late	très tardive	sehr spät	muy tardía		9

## VIII. Erklärungen zu der Merkmalstabelle

### Zu 3: Pflanze: Wuchstyp

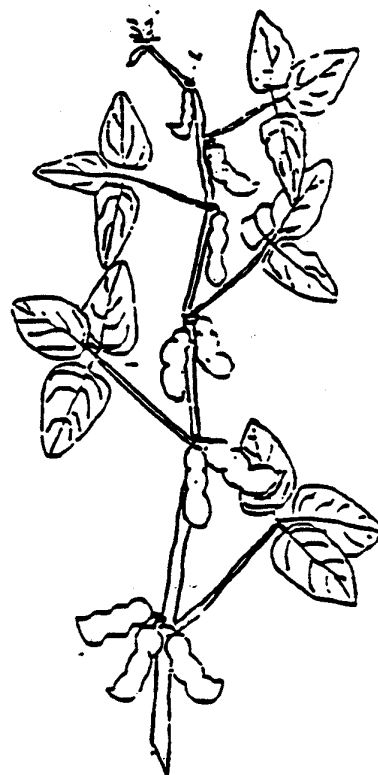
- Prüfungsanordnung: Dieses Merkmal sollte vorzugsweise in einer besonderen Prüfung mit 3 oder 4 Wiederholungen mit je 20 Pflanzen mit einem Abstand der Pflanzen in den Reihen von etwa 9 cm erfaßt werden. Jeder Randeffect ist auszuschließen.
- Pflanzenmaterial: Kandidaten- und Beispielsorten müssen in Gruppen gemäß ihrer Reife (Merkmal 20) gruppiert werden.
- Erfassung:  
Zu Beginn der Blütezeit (1 Blüte an irgendeinem Niveau des Haupttriebes) sollte die Spitze der Pflanze markiert werden.  
Zum Reifezeitpunkt (freie Samen in der Hülse) sollte die Anzahl der Knoten zwischen der Markierung und der Spitze der Pflanze gezählt werden. Die Durchschnittszahl je Sorte – im Vergleich mit Standardsorten - ergibt die Ausprägungsstufe des Merkmals.

Zusätzlich kann das Merkmal "Größe des Endblattes" ebenfalls einbezogen werden, um die Ausprägung "begrenzt wachsend (Note 1)" von den anderen Ausprägungsstufen deutlicher zu trennen. Das Endblatt des Haupttriebes von begrenzt wachsenden Sorten ist etwa gleich groß wie andere Blätter an niederen Niveaus. Bei anderen Wuchstypen ist das Endblatt deutlich kleiner.



1

begrenzt wachsend



4

unbegrenzt wachsend

Zu 4: Pflanze: Wuchsform



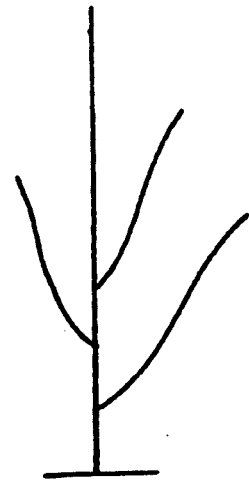
1

aufrecht



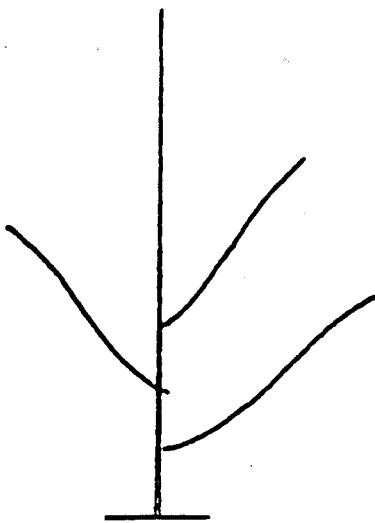
2

aufrecht bis halbaufrecht



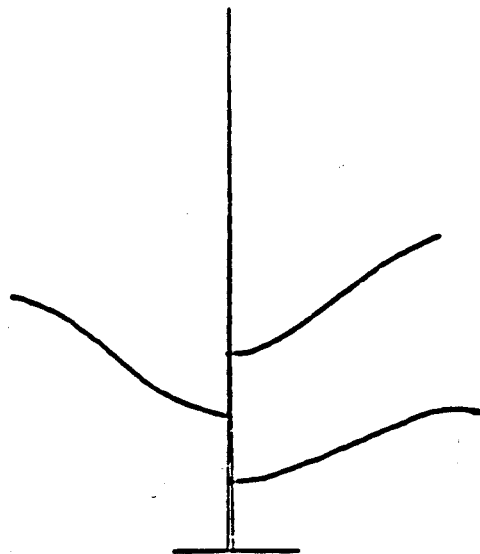
3

halbaufrecht



4

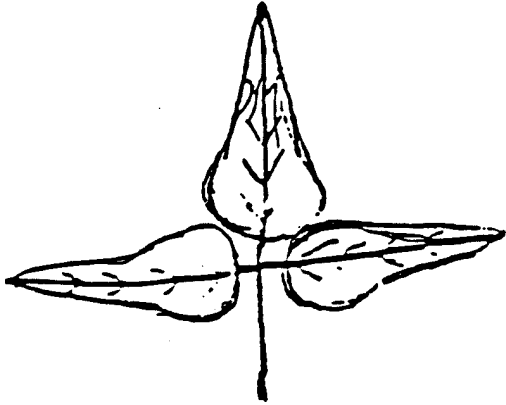
halbaufrecht bis waagrecht



5

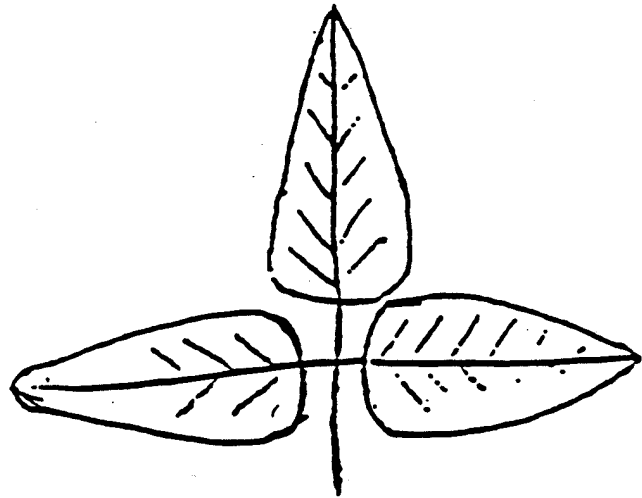
waagrecht

Zu 8: Blatt: Form der Seitenfieder



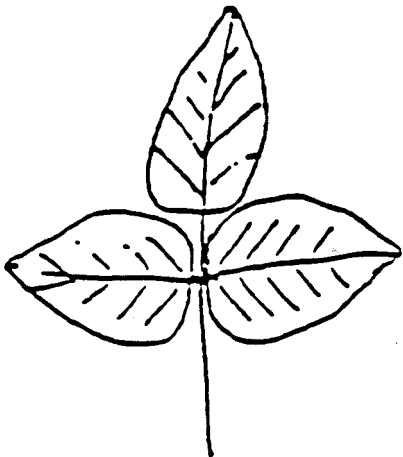
1

lanzettlich



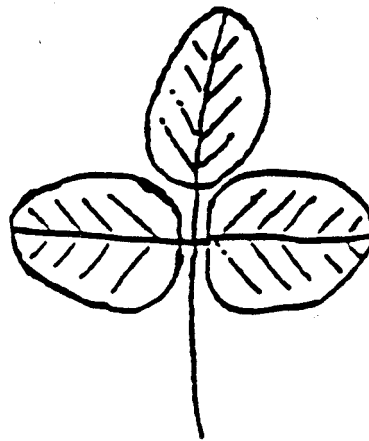
2

dreieckig



3

spitz eiförmig



4

abgerundet eiförmig

Zu 16: Samen: Färbung hervorgerufen durch Peroxidasereaktion in der Samenschale

Pro Sorte sollten 20 Samen geprüft werden.

Die Samenschale sollte so sorgfältig entfernt werden, daß kein Teil des Keimblattes mehr anhaftet. Um dies zu erleichtern, sollten die Samen für zwei Stunden in Wasser gelegt werden.

Die Samenschale sollte in eine Zellkulturplatte oder in Röhrchen (1 Röhrchen pro Samen) gebracht und 3 bis 4 cm<sup>3</sup> einer 0,5 prozentigen Guayacol-Lösung hinzugegeben werden. Die 0,5 prozentige Guayacol-Lösung sollte nicht länger als zwei Monate im Kühlschrank aufbewahrt werden. Wenn sie mehr als einen Tag Zimmertemperatur ausgesetzt war, darf sie nicht mehr verwendet werden.

Nach 10 Minuten Wartezeit sollte ein Tropfen einer 0,1 prozentigen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung zugegeben werden.

Die Lösung färbt sich bei einer positiven Reaktion dunkelrotbraun oder bleibt bei einer negativen Reaktion farblos. Zur Überprüfung der 0,5 prozentigen Guayacol-Lösung sollten einige Samen einer Vergleichssorte mit positiver Reaktion eingeschlossen werden. Die Erfassung der Reaktion darf nicht später als 60 Sekunden nach Zugabe von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> erfolgen. Es ist wichtig, daß die Erfassung nicht länger als 60 Sekunden dauert, da sie sonst zu falschen Ergebnissen führt.

Die Zellkulturplatte oder die Röhrchen können für eine bessere Reaktion leicht geschüttelt werden. Für eine bessere Erfassung der Ausprägung sollten die Zellkulturplatten oder Röhrchen auf eine weiße Unterlage gebracht werden.



BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien der Sojabohne \*

CODE		BESCHREIBUNG
2- und 3stellig		
<b>Makrostadium 0: Keimung</b>		
00	000	Trockener Samen
01	001	Beginn der Samenquellung
02	002	-
03	003	Ende der Samenquellung
04	004	-
05	005	Keimwurzel aus Samen ausgetreten
06	006	Streckung der Keimwurzel
07	007	Hypokotyl mit Keimblättern hat Samenschale durchgebrochen
08	008	Hypokotyl erreicht die Bodenoberfläche. Keimblätter noch im Boden
09	009	Auflaufen: Hypokotyl mit Keimblättern durchbricht Bodenoberfläche ("cracking stage")
<b>Makrostadium 1: Blattentwicklung (Hauptproß)</b>		
10	100	Keimblätter voll entfaltet
11	101	Erstes Laubblattpaar am ersten Nodium entfaltet
12	102	Laubblatt am 2. Nodium entfaltet
13	103	Laubblatt am 3. Nodium entfaltet
1.	10.	Stadien fortlaufend bis ...
19	109	Laubblatt am 9. Nodium entfaltet <sup>1</sup>
-	110	Laubblatt am 10. Nodium entfaltet <sup>1</sup>
-	111	Laubblatt am 11. Nodium entfaltet <sup>1</sup>
-	112	Laubblatt am 12. Nodium entfaltet <sup>1</sup>
-	113	Laubblatt am 13. Nodium entfaltet <sup>1</sup>
-	11.	Stadien fortlaufend bis ....
-	119	Laubblatt am 19. Nodium entfaltet <sup>1</sup>

\* Mit freundlicher Erlaubnis der Autoren entnommen aus "Entwicklungsstadien mono- und dikotyle Pflanzen" (siehe Literatur: Meier, Uwe (Editor), 1997)

<sup>1</sup> Die Seitentriebentwicklung kann früher beginnen; in diesem Fall auf Makrostadium 2 übergehen

<b>CODE</b>		<b>BESCHREIBUNG</b>
<b>2- und 3stellig</b>		
<b>Makrostadium 2: Entwicklung von Seitensprossen</b>		
20	200	-
21	201	Erster Seitensproß sichtbar
22	202	2. Seitensproß erster Ordnung sichtbar
23	203	3. Seitensproß erster Ordnung sichtbar
2.	20.	Stadien fortlaufend bis ...
29	209	9 oder mehr Seitensprosse erster Ordnung sichtbar (2stellig) 9. Seitensproß erster Ordnung sichtbar (3stellig)
-	210	10. Seitensproß erster Ordnung sichtbar
-	221	Erster Seitensproß zweiter Ordnung sichtbar
-	22.	Stadien fortlaufend bis ...
-	229	9. Seitensproß zweiter Ordnung sichtbar
-	2N1	Erster Seitensproß N-ter Ordnung sichtbar
-	2N9	9. Seitensproß N-ter Ordnung sichtbar
<b>Makrostadium 3: <sup>2</sup></b>		
<b>Makrostadium 4: Entwicklung vegetativer Pflanzenteile – Ernteprodukt –</b>		
40	400	-
41	401	-
42	402	-
43	403	-
44	404	-
45	405	-
46	406	-
47	407	-
48	408	-
49	409	Erntefähige vegetative Pflanzenteile haben endgültige Größe erreicht (Schnittgut von Soja zur Verfütterung)

<sup>2</sup> Das Längenwachstum der Sojabohne verläuft parallel zur Blattentwicklung (Makrostadium 1).  
Es wird daher nicht beschrieben

CODE		BESCHREIBUNG
2- und 3stellig		
<b>Makrostadium 5: Entwicklung der Blütenanlagen</b>		
50	500	-
51	501	Erste Blütenknospen sichtbar
52	502	-
53	503	-
54	504	-
55	505	Erste Blütenknospen gestreckt
56	506	-
57	507	-
58	508	-
59	509	Erste Blütenblätter sichtbar; Blüten noch geschlossen
<b>Makrostadium 6: Blüte</b>		
60	600	Erste Blüten vereinzelt im Bestand offen
61	601	Beginn der Blüte: 10 % der Blüten offen <sup>3</sup> Beginn der Blüte <sup>4</sup>
62	602	20 % der Blüten offen <sup>3</sup>
63	603	30 % der Blüten offen <sup>3</sup>
64	604	40 % der Blüten offen <sup>3</sup>
65	605	Vollblüte: 50 % der Blüten offen <sup>3</sup> Hauptblüte <sup>4</sup>
66	606	60 % der Blüten offen <sup>3</sup>
67	607	Abgehende Blüte <sup>3</sup>
68	608	-
69	609	Ende der Blüte: erste Hülsen sichtbar (ca. 5 mm lang) <sup>3</sup>

<sup>3</sup> Für die determinierten Sorten

<sup>4</sup> Für die nicht determinierten Sorten

CODE		BESCHREIBUNG
2- und 3stellig		
<b>Makrostadium 7: Frucht und Samenentwicklung</b>		
70	700	Erste Hülsen haben endgültige Länge erreicht (15-20 mm)
71	701	10 % der Hülsen haben endgültige Länge erreicht (15-20 mm) <sup>3</sup> Beginn der Hülsenentwicklung <sup>4</sup>
72	702	20 % der Hülsen haben endgültige Länge erreicht (15-20 mm) <sup>3</sup> Beginn der Hülsenentwicklung <sup>4</sup>
73	703	30 % der Hülsen haben endgültige Länge erreicht (15-20 mm) <sup>3</sup> Beginn der Hülsenentwicklung <sup>4</sup>
74	704	40 % der Hülsen haben endgültige Länge erreicht (15-20 mm) <sup>3</sup> Beginn der Hülsenentwicklung <sup>4</sup>
75	705	50 % der Hülsen haben endgültige Länge erreicht (15-20 mm): <sup>3</sup> Hauptphase der Hülsenentwicklung: fortschreitende Hülsenfüllung <sup>4</sup>
76	706	-
77	707	70 % der Hülsen haben endgültige Länge erreicht (15-20 mm): <sup>3</sup> fortgeschrittene Hülsenfüllung. <sup>3</sup> Fortgeschrittene Hülsenfüllung <sup>4</sup>
78	708	-
79	709	Fast alle Hülsen haben endgültige Größe erreicht (15-20 mm) Samen füllt die Hülse aus <sup>3,4</sup>
<b>Makrostadium 8: Frucht- und Samenreife</b>		
80	800	Erste Hülsen reif, Samen haben endgültige Farbe und sind hart und trocken
81	801	Beginn der Reife: 10 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart. <sup>3</sup> Beginn der Hülsen- und Samenreife <sup>4</sup>
82	802	20 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart <sup>3</sup>
83	803	30 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart <sup>3</sup>
84	804	40 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart <sup>3</sup>

<sup>3</sup> Für die determinierten Sorten

<sup>4</sup> Für die nicht determinierten Sorten

CODE		BESCHREIBUNG
<b>2- und 3stellig</b>		
85	805	Fortschreitende Reife: 50 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart. <sup>3</sup> Hauptphase der Hülsen und Samenreife <sup>4</sup>
86	806	60 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart <sup>3</sup>
87	807	70 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart <sup>3</sup>
88	808	80 % der Hülsen reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart <sup>3</sup>
89	809	Vollreife: alle Hülsen sind reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart (Erntereife) <sup>3</sup> Mehrzahl der Hülsen sind reif; Samen haben endgültige Farbe und sind trocken und hart <sup>4</sup>
<b>Makrostadium 9: Absterben</b>		
90	900	-
91	901	10 % der Blätter sind verfärbt oder abgefallen
92	902	20 % der Blätter sind verfärbt oder abgefallen
93	903	30 % der Blätter sind verfärbt oder abgefallen
94	904	40 % der Blätter sind verfärbt oder abgefallen
95	905	50 % der Blätter sind verfärbt oder abgefallen
96	906	60 % der Blätter sind verfärbt oder abgefallen
97	907	Fast alle oberirdischen Pflanzenteile trocken
98	908	-
99	909	Erntegut

<sup>3</sup> Für die determinierten Sorten

<sup>4</sup> Für die nicht determinierten Sorten

## IX. Literatur

Buzzell and Buttery, 1969: Inheritance of peroxidase activity on soybean seed coats. *Crop Sci.*, 9, 387-388.

Cardy, B.J. and Beversdorf, W.D., 1984: Identification of soybean cultivars using isoenzyme electrophoresis. *Seed Sci. Technol.*, 12 (3), 943-954.

Gorman, M.B. and Kiang, Y.T., 1977: Variety specific electrophoretic variants of four soybean enzymes. *Crop Sci.*, 17 (6), 963-965.

Gorman, M.B. and Kiang, Y.T., 1983: Inheritance of soybean electrophoretic variants. *Soybean Genet. Newsl.*, 10, 67-84.

Kiang, Y.T. and Gorman, M.B., 1985: Inheritance of NADP active isocitrate dehydrogenase isozymes in soybean. *J. Hered.*, 76, 279-284.

Palmer, R.G., Shoemaker, R.C. and Rennie, B., 1987: Approved soybean gene symbols. *Soybean Genet. Newsl.*, 41-58

Bourgoin-Greneche M. and Lallemand J., 1993: "L'électrophorèse et son application à la description des variétés. Présentation des techniques utilisées par le GEVES," GEVES, France

Meier, Uwe (Editor), 1997: "Growth Stages of Mono- and Dicotyledonous Plants", BBCH-Monograph, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin-Wien 1997 (quadrilingual version: English, français, deutsch, español)

X. Technischer Fragebogen

	Referenznummer (nicht vom Anmelder auszufüllen)
<p><b>TECHNISCHER FRAGEBOGEN</b> in Verbindung mit der Anmeldung zum Sortenschutz auszufüllen</p>	
1. Art	<p><i>Glycine max</i> (L.) Merrill.  SOJABOHNE</p>
2. Anmelder (Name und Adresse)	
3. Vorgeschlagene Sortenbezeichnung oder Anmeldebezeichnung	

4. Information über Ursprung, Erhaltung und Vermehrung der Sorte

4.1 Genetische Herkunft und Züchtungsmethode

- 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.

4.2 Andere Informationen



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

Merkmale	Beispielssorten	Note
<b>5.1 Pflanze: Farbe der Behaarung des Haupttriebes (im mittleren Drittel; zur Zeit der Blüte)</b> (5)		
grau	Apache, Alaric, Talon, Imari	1[ ]
gelbbraun	Maple Glen, Chandor, Paoki, Agata	2[ ]
<b>5.2 Blüte: Farbe (Zur Vollblüte)</b> (11)		
weiß	Chandor, Crésir, Toréador	1[ ]
violett	Fransoy 242, Imari, Apache, Queen	2[ ]
<b>5.3 Samen: Farbe des Nabels</b> (17)		
grau	Spot, Major, Apache	1[ ]
gelb	Maple Arrow, Imari, Talon	2[ ]
hellbraun	Kingsoy, Argenta, Baron, Opale	3[ ]
dunkelbraun	Fransoy 242, Aurélia, Léman	4[ ]
fast schwarz	Wells, Kador, Folio	5[ ]
schwarz	Chandor, Queen, Paoki	6[ ]

Merkmale	Beispielssorten	Note
<b>5.4 Pflanze: Zeitpunkt der Reife (20)</b>		
sehr früh	Trump, Soléo, Kola, Carla, Paradis	1[ ]
sehr früh bis früh	Chandor, Apache, Labrador	2[ ]
früh	Canton, Queen, Paoki, Aurélia	3[ ]
früh bis mittel	Kador, Kingsoy, Alaric, Niva	4[ ]
mittel	Williams	5[ ]
mittel bis spät		6[ ]
spät		7[ ]
spät bis sehr spät		8[ ]
sehr spät		9[ ]

6. Ähnliche Sorten und Unterschiede zu diesen Sorten

Bezeichnung der ähnlichen Sorte	Merkmal, in dem die ähnliche Sorte unterschiedlich ist <sup>o)</sup>	Ausprägungsstufe der ähnlichen Sorte	Ausprägungsstufe der Kandidatensorte
---------------------------------	--	--------------------------------------	--------------------------------------

<sup>o)</sup> Sofern die Ausprägungsstufen der beiden Sorten identisch sind, bitte die Größe des Unterschieds angeben.

7. Zusätzliche Informationen zur Erleichterung der Unterscheidung der Sorte

7.1 Resistenzen gegenüber Schadorganismen

7.2 Besondere Bedingungen für die Prüfung der Sorte

7.3 Andere Informationen

[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

---

\* Diese Anlage ist nur vorläufig angenommen worden und kann geändert werden, wenn weitere Informationen zugänglich werden.

## 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.

Für die Analyse von Enzymen wird die Stärke-Gel-Elektrophorese empfohlen. Polymorphismus der Enzyme (z. B. 8 Enzymloci) kann erfaßt werden. Die genetische Kontrolle ist für jeden Enzymlocus bekannt. Für die Beschreibung der Methode wird verwiesen auf "L'électrophorèse et son application à la description des variétés. Présentation des techniques utilisées par le GEVES" von Mireille Bourgoïn-Greñeche und Joëlle Lallemand, GEVES, September 1993, und zusätzliche Referenzen in Kapitel IX, Literatur, dieser Prüfungsrichtlinien.

Teil II

Merkmale, die sich bei Verwendung der Elektrophorese ergeben

English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>21. Allele expression at gene locus Pgd</b>	<b>Expression allélique au locus Pgd</b>	<b>Allel-Ausprägung im Genlocus Pgd</b>	<b>Expresión del alelo en el locus Pgd</b>		
Genotype	Génotype	Genotyp	Genotipo		
a/a	a/a	a/a	a/a	Essor	1
b/b	b/b	b/b	b/b	Apache	2
<b>22. Allele expression at gene locus Idh 1 + Idh 2</b>	<b>Expression allélique au locus Idh 1 + Idh 2</b>	<b>Allel-Ausprägung in den Genloci Idh 1 + Idh 2</b>	<b>Expresión del alelo en los loci Idh 1 + Idh 2</b>		
Genotype	Génotype	Genotyp	Genotipo		
a/a + a/a	a/a + a/a	a/a + a/a	a/a + a/a	Imari	1
a/a + b/b	a/a + b/b	a/a + b/b	a/a + b/b	Apache	2
b/b + a/a	b/b + a/a	b/b + a/a	b/b + a/a	Essor	3
b/b + b/b	b/b + b/b	b/b + b/b	b/b + b/b	Sapporo	4
<b>23. Allele expression at gene locus Ep</b>	<b>Expression allélique au locus Ep</b>	<b>Allel-Ausprägung im Genlocus Ep</b>	<b>Expresión del alelo en el locus Ep</b>		
Genotype*	Génotype*	Genotyp*	Genotipo*		
Ep a/Ep a	Ep a/Ep a	Ep a/Ep a	Ep a/Ep a	Apache	1
ep n/ep n	ep n/ep n	ep n/ep n	ep n/ep n	Goldor	2
<b>24. Allele expression at gene locus Mpi</b>	<b>Expression allélique au locus Mpi</b>	<b>Allel-Ausprägung im Genlocus Mpi</b>	<b>Expresión del alelo en el locus Mpi</b>		
Genotype	Génotype	Genotyp	Genotipo		
b/b	b/b	b/b	b/b	Essor	1
c/c	c/c	c/c	c/c	Apache	2

\* Die Allel-Nomenklatur entspricht dem Vorschlag des "Soybean Genetics Committee" (Palmer *et al*, 1987). Die Bezeichnung "n" wurde den Nullallelen dia3 und ep zugeteilt und die Bezeichnung "a" den aktiven Allelen Dia3 und Ep, um die Unterscheidung zu der Bezeichnung der Gene zu ermöglichen sowie die Möglichkeit zu schaffen, in der Zukunft neue Allele zu bezeichnen.

English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
<b>25. Allele expression at gene locus Pgm 1</b>	<b>Expression allélique au locus Pgm 1</b>	<b>Allel-Ausprägung im Genlocus Pgm 1</b>	<b>Expresión del alelo en el locus Pgm 1</b>		
Genotype	Génotype	Genotyp	Genotipo		
a/a	a/a	a/a	a/a	Apache	1
b/b	b/b	b/b	b/b	Essor	2
<b>26. Allele expression at gene locus Acp</b>	<b>Expression allélique au locus Acp</b>	<b>Allel-Ausprägung im Genlocus Acp</b>	<b>Expresión del alelo en el locus Acp</b>		
Genotype	Génotype	Genotyp	Genotipo		
a/a	a/a	a/a	a/a	Goldor	1
b/b	b/b	b/b	b/b	Apache	2
<b>27. Allele expression at gene locus Dia 3</b>	<b>Expression allélique au locus Dia 3</b>	<b>Allel-Ausprägung im Genlocus Dia 3</b>	<b>Expresión del alelo en el locus Dia 3</b>		
Genotype*	Génotype*	Genotyp*	Genotipo*		
Dia3 a/Dia3 a	Dia3 a/Dia3 a	Dia3 a/Dia3 a	Dia3 a/Dia3 a	Apache	1
dia3 n/dia3 n	dia3 n/dia3 n	dia3 n/dia3 n	dia3 n/dia3 n	Goldor	2

### Teil III

#### **Beschreibung der SGE-Methode für die Analyse von Isoenzymen von Glycine max (L.)**

1. Anzahl der Samen für die Prüfung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit

Mindestens 20 Samen

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 für Enzym-Extraktion

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

3.2 Chemikalien für Elektrophorese

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

3.3 Chemikalien zur Enzymfärbung

DL-Aepfelsäure  
Dimethylthiazol-Diphenyl-Tetrazolium (MTT)  
Eisessig  
Ethanol  
Ethylenediamin-Tetraessigsäure Na<sub>2</sub>-Salz (EDTA)  
Fast Garnet-GBC-Salz  
Glucose-1-Phosphat-Dehydrogenase (Serva 22820 oder 22822 oder Sigma G5885)  
Hanker yates  
DL-Isocitronensäure Na<sub>3</sub>-Salz  
Magnesium-Chlorid-Hexahydrat  
Menadion



Natriumacetat-Trihydrat  
1-Naphthylphosphat Na<sub>3</sub>-Salz-Dihydrat  
Natriumhydroxid (NaOH)  
β-Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD)  
β-Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid reduziert (NADH)  
β-Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADP)  
Nitro-blue-Tetrazolium (NBT)  
Phenazin-Methosulfat (PMS)  
6-Phosphogluconsäure Na<sub>3</sub>-Salz-Dihydrat  
Polyvinylpyrrolidon 40 (PVP-40)  
Salzsäure (HCl)  
Tris-(hydroxymethyl)-Aminomethan (Tris)  
Wasserstoffperoxyd

#### 4. Lösungen

##### 4.1 Extraktionslösung

10 ml Tris-HCl pH 7.5 (4.3.1.3) plus 20 µl β-Mercaptoethanol, mit entionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

##### 4.2 Elektrophoresepuffer

4.2.1 Stammlösung: 0,364 M L-Histidin-Citrat  
50,44 g L-Histidin und 8,20 g Citronensäure-Monohydrat,  
mit entionisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt

4.2.2 Elektrophoresepuffer: 0,072 M L-Histidin-Citrat pH 6,5  
(Stammlösung, verdünnt 1 in 5)  
400 ml Stammlösung (4.2.1), mit entionisiertem Wasser auf 2 Liter aufgefüllt

4.2.3 Gelpuffer: 0,024 M L-Histidin-Citrat  
(Stammlösung, verdünnt 1 in 15)  
80 ml Stammlösung (4.2.1), mit entionisiertem Wasser auf 1200 ml aufgefüllt

4.2.4 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 8,0  
121,1 g Tris, mit entionisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und mit 50 % HCl auf pH  
8,0 eingestellt

4.3.1.2 1 M Tris-HCl pH 9,0  
121,1 g Tris, mit entionisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und mit 50 % HCl auf pH

9,0 eingestellt

4.3.1.3 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

4.3.1.4 MTT-Lösung

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

4.3.1.5 NBT-Lösung

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

4.3.1.6 PMS-Lösung

200 mg PMS, mit entionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt

4.3.1.7 Magnesiumchlorid-Lösung

21,35 g Magnesiumchlorid-Hexahydrat, mit entionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt

4.3.1.8 1 M Natriumacetat pH 5,5

136,08 Natriumacetat, mit entionisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und mit Eisessig auf pH 5,5 eingestellt

4.3.2 Farblösungen (Volumen: 200 ml)

4.3.2.1 PGD + IDH-Farblösung

20 ml Tris-HCl pH 8,0 (4.3.1.1)  
+ 180 ml entionisiertes Wasser  
+ 100 mg DL-Isocitronensäure Na<sub>3</sub>-Salz  
+ 100 mg 6-Phosphogluconsäure Na<sub>3</sub>-Trihydrat-Salz  
+ 10 ml Magnesiumchlorid-Lösung (4.3.1.7)  
+ 6 mg NADP  
+ 4 ml MTT-Lösung (4.3.1.4)  
+ 3 ml PMS-Lösung (4.3.1.6)

4.3.2.2 PRX-Farblösung

40 ml Tris-HCl pH 9,0 (4.3.1.2)  
+ 160 ml entionisiertes Wasser  
+ 34 µl Wasserstoffperoxyd (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)  
+ 200 mg Hanker yates

4.3.2.3 MPI-Farblösung

16 ml Tris-HCl pH 7,5 (4.3.1.3)  
+ 72 ml entionisiertes Wasser  
+ 48 mg Mannose- 6-Phosphat Na<sub>2</sub>-Salz

- + 1,6 ml Magnesiumchlorid-Lösung (4.3.1.7)
- + 20 mg NADP
- + 2 ml MTT-Lösung (4.3.1.4)
- + 10 ml PMS-Lösung (4.3.1.6)
- + 60 Einheiten Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
- + 120 Einheiten Phosphoglucose-Isomerase
- + 100 ml 2% Agar

#### 4.3.2.4 PGM-Farblösung

- 20 ml Tris-HCl pH 8,0 (4.3.1.1)
- + 180 ml entionisiertes Wasser
- + 200 mg  $\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphat-Na<sub>2</sub>-Salz
- + 20 ml Magnesiumchlorid-Lösung (4.3.1.7)
- + 10 mg NADP
- + 3 ml MTT-Lösung (4.3.1.4)
- + 2 ml PMS-Lösung (4.3.1.6)
- + 120 Einheiten Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

#### 4.3.2.5 ACP-Farblösung

- 40 ml Natriumacetat pH 5,5 (4.3.1.8)
- + 160 ml entionisiertes Wasser
- + 150 mg Fast-Garnet-GBC-Salz
- + 200 mg 1-Naphthylphosphat Na<sub>3</sub>-Salz-Dihydrat
- + 0,5 ml Magnesiumchlorid-Lösung (4.3.1.7)

#### 4.3.2.6 DIA-Farblösung

- 10 ml Tris-HCl pH 7,0 (4.3.1.1)
- + 190 ml entionisiertes Wasser
- + 68 mg NADH
- + 2,7 ml NBT-Lösung (4.3.1.5)
- + 53 mg Menadion

## 5. Verfahren

### 5.1 Enzym-Extraktion

Die Samen werden mit einer Flachzange zerkleinert und bei 4° C in 1ml Extraktionspuffer (4.1) homogenisiert.

### 5.2 Herstellung des Gels

Um zwei Stärkegele (18 x 18 x 1 cm) von 12,5 % herzustellen, ist folgendes nötig: 128 g Stärke werden in 1020 ml Gelpuffer bei 80° C in einem Buchner-Kolben gelöst. Die Lösung wird 40 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 zwei

Stunden lang abkühlen und lässt sie dann über Nacht lagern, wobei die Gele durch eine Polyäthylenfolie geschützt werden. Vor der Elektrophorese werden die Gele während mindestens einer Stunde auf 4° C abgekühlt.

### 5.3 Elektrophorese

Die Elektrophoresekammern werden mit 4° C kaltem Elektrophoresepuffer befüllt. 1 cm von der Kathode wird ein Schlitz in das Gel geschnitten. Die Enzymextrakte von 5.1 (30 Extrakte für ein Gel von 18 x 18 x 1 cm) werden in 15 x 2 x 1 mm Dochte aus Chromatographie-Papier Whatman Nr. 3 aufgesaugt. Die Dochte werden in den Schlitz gesteckt. 1 cm von jeder Gelkante entfernt wird ein mit Bromphenolblau-Lösung vollgesaugter Docht eingelegt. Die Elektrophorese erfolgt bei 4° C. Das System wird 20 Minuten lang auf konstanter Spannung von 200 V (maximale Stromstärke 150 mA für zwei Gele von 18 x 18 x 1 cm) gehalten. Dann werden die Dochte entfernt und die Elektrophorese wird bei konstanter Spannung von 280 V (maximale Stromstärke 180 mA für zwei Gele von 18 x 18 x 1 cm) fortgesetzt, bis der Bromphenolblau-Marker 14 cm gewandert ist (4 Stunden).

### 5.4 Enzym-Färbung

Nach der Elektrophorese wird das Gel 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 PGD + IDH:	Lösung 4.3.2.1
für PRX:	Lösung 4.3.2.2
für MPI:	Lösung 4.3.2.3
für PGM:	Lösung 4.3.2.4
für ACP:	Lösung 4.3.2.5
für DIA:	Lösung 4.3.2.6

Die Färbungen dauern 30 bis 120 Minuten. Nach der Färbung werden die Gelscheiben in destilliertem Wasser gewaschen, bevor sie aufbewahrt werden. Folgende Verfahren können für die langfristige Lagerung angewandt werden: die Gele werden zwischen zwei Cellophanfolien getrocknet oder in versiegelten Polyäthylen-Beuteln aufbewahrt.

## 6. Zuordnung der Isoenzyme zu den codierenden Allelen

### 6.1 Zuordnung der PGD

#### 6.1.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Phosphoglucose-Dehydrogenase (PGD)	Dimer	Pgd	a (Essor) b (Apache)

6.1.2 Schematisierung der Zymogramme

	<table border="1"> <tr> <td>bbb</td> <td>bbb</td> </tr> <tr> <td>bbb</td> <td>bbb</td> </tr> <tr> <td>bbb</td> <td>bbb</td> </tr> <tr> <td>bbb</td> <td>bbb</td> </tr> </table>	bbb	bbb	bbb	bbb	bbb	bbb	bbb	bbb
bbb	bbb								
bbb	bbb								
bbb	bbb								
bbb	bbb								
Pgd 1	<table border="1"> <tr> <td>a/a</td> <td>b/b</td> </tr> </table>	a/a	b/b						
a/a	b/b								

6.2 Zuordnung der IDH

6.2.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele	
Isocitrat-Dehydrogenase (IDH)	Dimérica	Idh1	a (Apache) b (Essor)	Intergenische Interaktionen
		Idh2	a (Essor) b (Apache)	

Es bestehen Interaktionen zwischen den Genprodukten (Polypeptid-Untereinheiten) aus Idh1 und Idh2. Es ist einfacher, die beiden Genorte in Kombination zu analysieren.

Genotyp		Beispielsorten
Idh1	Idh2	
b/b	a/a	Essor
a/a	a/a	Imari
b/b	b/b	Sapporo
a/a	b/b	Apache

### 6.2.2 Schematisierung der Zymogramme

		<p>bbb</p> <p>bbb</p> <p>bbb</p> <p>bbb</p>	<p>bbb</p> <p>bbb</p> <p>bbb</p>	<p>bbb</p> <p>bbb</p> <p>bbb</p>
Idh1	b/b	a/a	b/b	a/a
Idh2	a/a	a/a	b/b	b/b

### 6.3 Zuordnung der PRX

#### 6.3.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Peroxidasa (PRX)	Dimérica	Ep	Ep a (Apache) ep n (Goldor)

#### 6.3.2 Schematisierung der Zymogramme

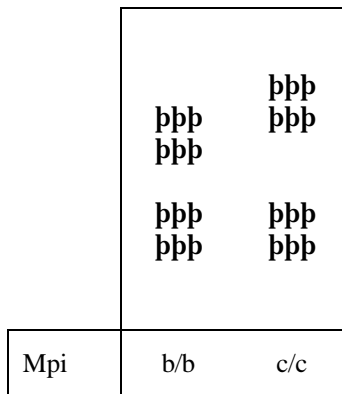
	<p>bbb</p>
Ep	Ep a/Ep a    ep n/ep n

### 6.4 Zuordnung der MPI

#### 6.4.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzyme	Quartärstruktur	Locus	Allele
Mannosephosphat-Dehydrogenase (MPI)	Dimer	Mpi	b (Essor) c (Apache)

6.4.2 Schematisierung der Zymogramme

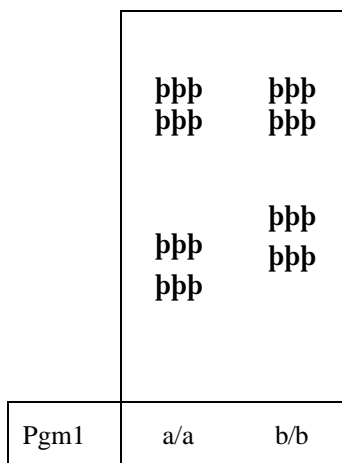


6.5 Zuordnung der PGM

6.5.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Phosphoglucomutase (PGM)	Monomer	Pgm1	a (Apache) b (Essor)

6.5.2 Schematisierung der Zymogramme



## 6.6 Zuordnung der ACP

### 6.6.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele
Saure Phosphatase (ACP)	Dimer	Acp	a (Goldor) b (Apache)

### 6.6.2 Schematisierung der Zymogramme

	<p>bbb      bbb</p>	
Acp	a/a	b/b

## 6.7 Zuordnung der DIA

### 6.7.1 Genetische Interpretation der Zymogramme

Enzym	Quartärstruktur	Locus	Allele	
Diaphorase (DIA)	Tetramer	Dia3	Dia3 a (Apache) dia3 n (Goldor)	Intergenische Interaktionen

Es bestehen Interaktionen zwischen den Genprodukten aus Dia3 und Dia4

### 6.7.2 Schematisierung der Zymogramme

	<p>bbb      bbb                      bbb      bbb                      bbb      bbb                      bbb      bbb</p> <p>bbb                      bbb                      bbb      bbb                      bbb      bbb                      bbb      bbb</p>	
Dia 3	Dia3 a/ Dia3 a	dia3 n/ dia3 n

[Ende des Dokumentes]