



These Test Guidelines have been superseded by a later version. The latest adopted version of Test Guidelines can be found at http://www.upov.int/test_guidelines/en/list.jsp

This publication has been scanned from a paper copy and may have some discrepancies from the original document.

Ces principes directeurs d'examen ont été remplacés par une version ultérieure. La version adoptée la plus récente des principes directeurs d'examen figure à l'adresse suivante : http://www.upov.int/test_guidelines/fr/list.jsp

Cette publication a été numérisée à partir d'une copie papier et peut contenir des différences avec le document original.

Diese Prüfungsrichtlinien wurden durch eine neuere Fassung ersetzt. Die neueste angenommene Fassung von Prüfungsrichtlinien ist unter http://www.upov.int/test_guidelines/en/list.jsp zu finden.

Diese Veröffentlichung wurde von einer Papierkopie gescannt und könnte Abweichungen von der originalen Veröffentlichung aufweisen.

Las presentes directrices de examen han sido reemplazadas por una versión posterior. La versión de las directrices de examen de más reciente aprobación está disponible en http://www.upov.int/test_guidelines/es/list.jsp.

Este documento ha sido escaneado a partir de una copia en papel y puede que existan divergencias en relación con el documento original.



TG/38/3.

Original: English/anglais/englisch

Date/Datum: 1976-11-19

INTERNATIONALER VERBAND
ZUM SCHUTZ VON
PFLANZENZÜCHTUNGEN

UNION INTERNATIONALE
POUR LA PROTECTION
DES OBTENTIONS VÉGÉTALES

INTERNATIONAL UNION
FOR THE PROTECTION OF
NEW VARIETIES OF PLANTS

GUIDELINES
FOR THE CONDUCT OF TESTS
FOR DISTINCTNESS, HOMOGENEITY AND STABILITY

PRINCIPES DIRECTEURS
POUR LA CONDUITE DE L'EXAMEN
DES CARACTÈRES DISTINCTIFS, DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE

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

WHITE CLOVER
TREFLE BLANC
WEISSKLEE
(*Trifolium repens* L.)

These Guidelines should be read in conjunction with document UPOV/TG/1/1, which contains explanatory notes on the general principles on which the Guidelines have been established.

Ces principes directeurs doivent être interprétés en relation avec le document UPOV/TG/1/1, qui contient des explications sur les principes généraux qui sont à la base de leur rédaction.

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

Technical Notes

1. The competent authorities decide when, where and in what quantity and quality the seed required for testing the variety is to be delivered. Applicants submitting material from a State other than that where the testing takes place must make sure that all customs formalities are complied with. Unless the competent authorities make an exception, in the second year of sowing a comparison is undertaken between the initial sample and a second sample from another seed multiplication.
2. The minimum quantity of seed to be supplied by the applicant should be:
 - (a) during the testing period every year 100 g
 - (b) as a reference sample 500 g.
3. The minimum requirements for germination capacity, moisture content and purity should not be less than the marketing standard for certified seed accepted in the country. Especially for storage, which requires a higher standard, the applicant should state on the label the actual germination capacity which should be as high as possible.
4. The seed must not have undergone any chemical treatment unless the competent authorities allow or request such treatment. If seed has been treated chemically, full details of the treatment must be given.
5. The minimum requirements for the conduct of tests should be:
 - (a) Single plants:

number of growing and recording periods	2
number of trials per growing period	1
number of replications per trial	2
number of plants per trial	50
 - (b) Rows:

number of growing and recording periods	2
number of trials per growing period	1
number of replications per trial	2
row length per trial	10 m.
6. The collection to be grown should be divided into groups to facilitate the assessment of distinctness. Characteristics which are suitable for grouping purposes are those which are known from experience not to vary, or to vary only slightly, within a variety and which in their various states are fairly evenly distributed within the collection. It is recommended that the competent authorities use the length of the central leaflet for the grouping of the varieties.

Table of Characteristics

7. To assess distinctness, homogeneity and stability, the characteristics with their states, as given in Annex 1, in the three UPOV working languages, should be used. Those characteristics marked with an asterisk (*) should be used every growing period for the examination of all varieties and should always be included in the description of the variety.
8. Opposite the States of the different characteristics, Notes (1 to 9) for electronic data processing are given.

[Three Annexes follow]

Notes techniques

1. Les autorités compétentes décident des quantités de semences nécessaires pour l'examen de la variété, de leur qualité ainsi que des dates et lieux d'envoi. Il appartient au demandeur qui soumet des semences provenant d'un pays autre que celui où l'examen doit avoir lieu, de s'assurer que toutes les formalités douanières ont été dûment accomplies. Sauf dérogation des autorités compétentes, au cours de la seconde année de semis, il est procédé à une comparaison entre l'échantillon original et un second échantillon provenant d'une autre multiplication.

2. La quantité minimum de semences à fournir par le demandeur sera de :

- a) tous les ans, pendant la durée de l'examen, 100 g
- b) comme échantillon de référence, 500 g.

3. Les conditions minimales exigées pour la faculté germinative, la teneur en eau et la pureté ne devront pas être inférieures aux normes commerciales acceptées dans le pays pour les semences certifiées. En particulier, pour le maintien en collection qui nécessite une qualité supérieure, le demandeur doit indiquer sur l'étiquette la faculté germinative réelle, qui doit être aussi élevée que possible.

4. Les semences ne doivent pas avoir subi de traitement chimique sauf autorisation ou demande expresse des autorités compétentes. Si les semences ont été traitées chimiquement, le traitement appliqué doit être indiqué en détail.

5. Les conditions minimales pour la conduite des examens doivent être les suivantes :

a) Plantes isolées :

nombre de cycles de végétation et d'observation	2
nombre d'essais par cycle de végétation	1
nombre de répétitions par essai	2
nombre de plantes par essai	50

b) Essais en lignes :

nombre de cycles de végétation et d'observation	2
nombre d'essais par cycle de végétation	1
nombre de répétitions par essai	2
longueur de ligne par essai	10 m.

6. La collection à cultiver doit être divisée en groupes pour faciliter la détermination des caractères distinctifs. Les caractères à utiliser pour définir les groupes sont ceux dont on sait par expérience qu'ils ne varient pas, ou qu'ils varient peu, à l'intérieur d'une variété, et dont les différents niveaux d'expression sont assez uniformément répartis dans la collection. Il est recommandé aux autorités compétentes d'utiliser la longueur de la foliole centrale pour le groupement des variétés.

Tableau des caractères

7. Pour évaluer les possibilités de distinction, l'homogénéité et la stabilité, on doit utiliser les caractères indiqués à l'annexe, avec leurs différents niveaux d'expression, dans les trois langues de travail de l'UPOV. Les caractères marqués d'un astérisque (*) doivent, à chaque cycle de végétation, pendant la durée des essais, être utilisés pour l'examen de toutes les variétés et doivent toujours figurer dans la description de la variété.

8. En regard des différents niveaux d'expression des caractères, sont indiquées des notes (1 à 9) destinées au traitement électronique des données.

[Trois annexes suivent]

Technische Hinweise

1. Die zuständigen Behörden bestimmen, wann, wohin und in welcher Menge und Beschaffenheit das für die Prüfung der Sorte erforderliche Vermehrungsgut zu liefern ist. Anmelder, die Material von ausserhalb des Staates, in dem die Prüfung vorgenommen wird, einreichen, müssen sicherstellen, dass alle Zollvorschriften erfüllt sind. Soweit die zuständigen Behörden nicht etwas anderes zulassen, muss im zweiten Prüfungsjahr ein Vergleich zwischen dem Ursprungsmuster und einem zweiten Muster einer anderen Saatgutvermehrung durchgeführt werden.
2. Die vom Anmelder einzusendende Mindestmenge an Vermehrungsgut sollte betragen :
 - a) Jährlich während der Dauer der Prüfung 100 g
 - b) Als Vergleichsmuster 500 g.
3. Die Mindestanforderungen an die Keimfähigkeit, den Wassergehalt und die Reinheit sollten nicht niedriger sein als die in dem betreffenden Land bestehende Vermarktungsnorm für zertifiziertes Saatgut. Der Anmelder sollte besonders für die Lagerung, die höhere Anforderungen verlangt, die tatsächliche Keimfähigkeit, die so hoch wie möglich sein sollte, auf dem Etikett angeben.
4. Das Vermehrungsgut darf keiner chemischen Behandlung unterzogen worden sein, es sei denn, dass die zuständigen Behörden eine solche Behandlung gestatten oder vorschreiben. Soweit das Vermehrungsgut chemisch behandelt worden ist, müssen die Einzelheiten der Behandlung angegeben werden.
5. Die Mindestanforderungen für die Durchführung der Prüfungen sollten sein:
 - a) Einzelne Pflanzen:

Zahl der Wachstums- und Erfassungsperioden	2
Zahl der Versuche je Wachstumsperiode	1
Zahl der Wiederholungen je Versuch	2
Zahl der Pflanzen je Versuch	50
 - b) Reihen:

Zahl der Wachstums- und Erfassungsperioden	2
Zahl der Versuche je Wachstumsperiode	1
Zahl der Wiederholungen je Versuch	2
Zahl der Reihenlänge je Versuch	10 m.
6. Das Prüfungssortiment ist zur leichteren Herausarbeitung der Unterscheidbarkeit in Gruppen zu unterteilen. Für die Gruppierung sind solche Merkmale geeignet, die erfahrungsgemäss innerhalb einer Sorte nicht oder nur wenig variieren, und die in ihren verschiedenen Ausprägungsstufen in der Vergleichssammlung ziemlich gleichmässig verteilt sind. Den zuständigen Behörden wird empfohlen, die Länge des mittleren Teilblattes für die Gruppierung der Sorten heranzuziehen.

Merkmalstabelle

7. Zur Beurteilung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit sollten die Merkmale mit ihren Ausprägungsstufen, wie sie in der Anlage 1 in den drei UPOV-Arbeitssprachen aufgeführt sind, verwendet werden. Diejenigen Merkmale, die mit einem Sternchen (*) versehen sind, sollten in jeder Wachstumsperiode zur Prüfung aller Sorten herangezogen werden und in jeder Sortenbeschreibung enthalten sein.
8. Hinter den Merkmalsausprägungen stehen Noten von (1 bis 9) für eine elektronische Datenverarbeitung.

[Drei Anlagen folgen]

TABLE OF CHARACTERISTICS - TABLEAU DES CARACTERES - MERKMALSTABELLE

Characteristics Caractères Merkmale	English	français	deutsch	Example Varieties Exemples Beispielssorten	Note
(*) 1. Leaf : length of central leaflet (at time of flowering; 3rd to 4th leaf from end tip of rapidly growing stolon; from plots with single spaced plants) Feuille : longueur de la foliole centrale (à l'époque de la florai- son; 3e ou 4e feuille à partir de l'extrémité d'un stolon en croissance rapide; sur par- celles de plantes isolées) Blatt : Länge des mittleren Teil- blattes (zur Zeit der Blüte; 3. bis 4. Blatt von der äussersten Spitze eines schnell wachsenden Ausläufers; von Einzelpflanzen- parzellen)	very short	très courte	sehr kurz	Kent Wild White	1
	short	courte	kurz	S 184	3
	medium	moyenne	mittel	Milkanova	5
	long	longue	lang	Gigant	7
	very long	très longue	sehr lang	Ladino	9
(*) 2. Leaf : width of central leaflet (as for 1.) Feuille : largeur de la foliole centrale (comme pour 1.) Blatt : Breite des mittleren Teilblattes (wie unter 1.)	very narrow	très étroite	sehr schmal	Kent Wild White	1
	narrow	étroite	schmal	S 184	3
	medium	moyenne	mittel	Milkanova	5
	broad	large	breit	Gigant	7
	very broad	très large	sehr breit	Ladino	9
(*) 3. Leaf : mark (from plots with single spaced plants) Feuille : marque (sur parcelles de plantes isolées) Blatt : Zeichnung (von Einzel- pflanzenparzellen)	absent	absente	fehlend	Pronitro, Gigant	1
	présent	présente	vorhanden	Tamar	9

(*) Characteristics which should always be included in the description of the variety.
 Caractères à toujours inclure dans la description de la variété.
 Merkmale, die in jeder Sortenbeschreibung enthalten sein sollten.

	Characteristics Caractères Merkmale	English	français	deutsch	Example Varieties Exemples Beispielsorten	Note
4.	Leaf : position of mark (as for 3.)	central	centrale	zentral	Tamar	1
	Feuille : position de la marque (comme pour 3.)	central and marginal	centrale et marginale	zentral und marginal	Luclair	2
	Blatt : Position der Zeichnung (wie unter 3.)	marginal	marginale	marginal		3
(*)5.	Leaf : length of petiole (as for 1.)	short	court	kurz	S. 184	3
	Feuille : longueur du pétiole (comme pour 1.)	medium	moyen	mittel	Milkanova	5
	Blatt : Länge des Stieles (wie unter 1.)	long	long	lang	Gigant	7
6.	Leaf : thickness of petiole (as for 1.)	thin	fin	dünn	Nora	3
	Feuille : grosseur du pétiole (comme pour 1.)	medium	moyen	mittel	Cultura	5
	Blatt : Dicke des Stieles (wie unter 1.)	thick	gros	dick	Crau	7
7.	Stem : thickness of stolon (as for 1.)	thin	fin	dünn	Nora	3
	Tige : grosseur du stolon (comme pour 1.)	medium	moyen	mittel	Blanka	5
	Stengel : Dicke des Ausläufers (wie unter 1.)	thick	gros	dick	Crau	7
(*)8.	Time of flowering (in the year after sowing when 3 florets per plant are open; from plots with single spaced plants or rows)	very early	très précoce	sehr früh	Podkova	1
		early	précoce	früh	von Kamekes, Milkanova	3
	Epoque de floraison (l'année suivant le semis quand 3 fleurs par plante sont ouvertes; sur parcelles de plantes isolées ou en lignes)	medium	moyenne	mittel	Huia, S 184	5
		late	tardive	spät	Gigant	7
		very late	très tardive	sehr spät		9
	Blühzeitpunkt (im Jahr nach der Aussaat wenn 3 Blüten pro Pflanze geöffnet sind; von Ein- zelpflanzenparzellen oder Parzellen mit Reihen)					

Characteristics Caractères Merkmale		English	français	deutsch	Example Varieties Exemples Beispielssorten	Note
9.	Leaf blade: content of cyanid glucoside (from sample of leaves; from plots with rows; see method in Annex 2)	absent or very low	nulle ou très faible	fehlend oder oder sehr niedrig		1
	Limbe : teneur en glucosides cyanogénés (sur échantillon de feuilles; sur parcelles en lignes; voir méthode à l'annexe 2)	low	faible	niedrig	Retor	3
		medium	moyenne	mittel	Milkanova	5
		high	forte	hoch	Cocarde	7
	Blattespreite: Gehalt an Cyanid- glycosid (von einer Blätterprobe; von Parzellen mit Reihen; siehe Methode in Anlage 2)	very high	très forte	sehr hoch	S 100	9

[End of Annex 1, Annex 2 follows;
 Fin de l'annexe 1, l'annexe 2 suit;
 Ende der Anlage 1, Anlage 2 folgt]

Explanation of Characteristics

Explication des caractères

Erläuterungen zu den Merkmalen

Ad/Add./Zu 9

Leaf blade: content of cyanid glucoside

Limbe : teneur en glucosides cyanogénés

Blattspreite: Gehalt an Cyanidglycosid

Quantitative determination of cyanoglucosides in fresh material

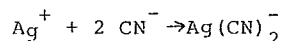
A freshly collected sample of leaflet matter is minced in a meat mincer and about 50 g of the minced material is introduced into a 500 ml roundbottom boiling flask with at least 100 ml water made up to a maximum of 250 ml if needed to cover the material, and the flask should be stoppered preferably with a rubber cork. As hydrogen cyanide is rapidly liberated by linamarase after crushing the leaves, these operations must be carried out as rapidly as possible. The sample is incubated at room temperature for 20-24 hours and should be protected against direct sunlight. After this period the flask is refrigerated at a temperature of 4°C for at least 20 min to prevent loss of HCN after which water is added up to a final volume of 250 ml. A few glass beads are added and the hydrocyanic acid is then distilled off immediately through a condenser protected from the boiling flask by a spray trap into a 250 ml flask containing 20 ml 0,1 N NaOH (see figure). The tip of the condenser must dip below the surface of the liquid. In heating an electric heating mantle should preferably be used, to prevent local overheating of the leaf mash. Distillation is continued until about 125 ml of distillate is collected. An ample volume of water should be used in the distilling flask, otherwise compounds appear in the distillate which interfere with the subsequent titration.

The flask with the distillate is made up to volume with ethyl alcohol (to prevent turbidity) and mixed. To 100 ml of this solution are added 4 ml of a 10% KI solution and 10 ml 10% by weight ammonia. The flask is placed on a piece of dull-surfaced black paper and titrated to the first permanent opalescence with 0,02 N silvernitrate. The black paper allows the end point to be seen more easily.

The titration should be carried out at a steady rate and be completed within 5 minutes. If this time is exceeded repeat the titration. Carry out a blank, using the same quantities of water, alcohol, KI and ammonia, and subtract the blank value from the titration value.

Small amounts of chloride in the distillate do not affect the titration; therefore the small amount of chloride present in the leaves will cause no interference.

Reaction in ammoniacal milieu:



The endpoint of the titration is indicated by the formation of an opalescent AgI sol.

HCN mol. weight = 27. Consequently 1 ml 0,02 N AgNO₃ is equivalent to 2 x 0,02 x 27 mg = 1,08 mg HCN.

Cyanoglucosides calculated as % HCN in dry matter

Titrating 100 ml out of 250 ml distillate from about 50 g fresh material with 0,02 N AgNO₃:

$$\% \text{ HCN in fresh matter} = \frac{250}{100} \times (\text{ml titration} - \text{ml blank}) \times \frac{1,08}{1000} \times \frac{100}{\text{g fresh material}}$$

$$\% \text{ HCN in dry matter} = \% \text{ HCN in fresh matter} \times \frac{100}{\% \text{ dry matter}}$$

Remarks

Linamarase activity has its optimum at pH 6.0, declining rapidly at higher values. The pH of mashed clover leaves has been found in the Netherlands in autumn to be 5.2 to 5.5; this renders any addition of dilute acid unnecessary.

Moreover the pH in distillation should not drop below pH 5, to eliminate the risk of irreversible uptake of HCN by the plant material.

Addition of linamarase to all samples before digestion, as recommended by Melville, has not been proved to be necessary.

* * *

Dosage des glucosides cyanogénés de la matière verte

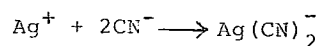
Un échantillon fraîchement récolté de folioles est dilacéré avec un hache-viande; environ 50 g de folioles dilacérées sont introduits dans un ballon de 500 ml avec au moins 100 ml d'eau, quantité pouvant être portée à un maximum de 250 ml si cela est nécessaire pour recouvrir l'échantillon; le ballon doit être bouché de préférence avec un bouchon de caoutchouc. L'acide cyanhydrique étant libéré rapidement par l'action de la linamarase après écrasement des feuilles, ces opérations doivent être effectuées le plus rapidement possible. L'échantillon est mis en incubation à la température ambiante pendant 20 à 24 heures et doit être soustrait à une exposition directe à la lumière du jour. Le ballon est ensuite refroidi à 4° C pendant au moins 20 minutes afin d'éviter des pertes de HCN, puis on complète à 250 ml avec de l'eau. On ajoute quelques billes de verre et l'acide cyanhydrique est immédiatement extrait par distillation à l'aide d'un condenseur séparé du ballon d'ébullition par un collecteur de gouttelettes, et recueilli dans un ballon de 250 ml contenant 20 ml d'une solution décinormale de soude (voir figure). La sortie du condenseur doit être immergée dans le liquide. Il est préférable d'utiliser un manchon électrique pour le chauffage afin d'éviter une surchauffe localisée de la purée de feuilles. La distillation est poursuivie jusqu'à ce qu'environ 125 ml de distillat aient été recueillis. Il faut un volume d'eau abondant dans le ballon d'ébullition, sinon il apparaît dans le distillat des composés qui interfèrent dans le dosage ultérieur.

Le distillat est complété au volume avec de l'alcool éthylique (pour éviter une turbidité) et homogénéisé. Pour 100 ml de cette solution, on ajoute 4 ml d'une solution de KI à 10% et 10 ml d'une solution d'ammoniaque à 10% en poids. Le ballon est placé sur une feuille de papier noir mat et le dosage est arrêté à la première opalescence permanente observée par addition de nitrate d'argent 0,02N. Le papier noir permet d'apprécier plus facilement la fin du dosage.

Le dosage doit être effectué à un rythme soutenu et terminé en moins de 5 minutes. Passé ce délai, il faut recommencer le dosage. Un dosage à blanc avec les mêmes quantités d'eau, d'alcool, d'iodure de potassium et d'ammoniaque est effectué et on soustrait la valeur obtenue à blanc de la valeur trouvée pour l'échantillon.

De petites quantités de chlorures dans le distillat n'influencent pas le dosage; les petites quantités de chlorures présentes dans les feuilles ne provoquent donc pas d'interférences.

Réaction en milieu ammoniacal :



La fin du dosage est indiquée par la formation d'un sol opalescent d'AgI.

Masse molaire de HCN = 27. Par conséquent, 1 ml d'AgNO₃ 0,02N équivaut à 2 x 0,02 x 27 mg = 1,08 mg HCN.

Teneur en glucosides cyanogénés exprimée en pour cent de HCN dans la matière sèche

Dosage de 100 ml sur les 250 ml de distillat correspondant à environ 50 g de matière verte à l'aide d'AgNO₃ 0,02 N :

$$\% \text{ HCN dans la matière verte} = \frac{250}{100} \times (\text{ml}_{\text{dosage}} - \text{ml}_{\text{blanc}}) \times \frac{1,08}{1000} \times \frac{100}{\text{g matière verte}}$$

$$\% \text{ HCN dans la matière sèche} = \% \text{ HCN dans la matière verte} \times \frac{100}{\% \text{ de matière sèche}}$$

Remarques

L'activité de la linamarase a son optimum à pH 6,0 et décroît rapidement à des valeurs plus élevées. Aux Pays-Bas, on a trouvé que le pH des feuilles écrasées est en automne de 5,2 à 5,5; il n'est donc pas nécessaire d'ajouter de l'acide dilué.

Par ailleurs, le pH ne devrait pas descendre en-dessous de 5 lors de la distillation, afin d'éviter une fixation irréversible de HCN par le matériel végétal.

L'addition de linamarase à tous les échantillons avant macération, recommandée par Melville, ne s'est pas révélée nécessaire.

* * *

Quantitative Bestimmung des Cyanidglycosids in frischem Material

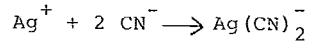
Eine frisch gesammelte Probe Blattmaterial wird durch einen Fleischwolf gedreht und ca. 50 g des zerkleinerten Materials in einem 500 ml Rundkolben mit mindestens 100 ml Wasser und, falls zur Bedeckung des Materials nötig, bis auf maximal 250 ml aufgefüllt. Der Kolben wird mit einem Gummistopfen verschlossen. Da Hydrogencyanid nach dem Zerstoren der Blätter sofort durch Linamarase freigesetzt wird, muss dieser Vorgang so schnell wie möglich erfolgen. Die Probe wird bei Zimmertemperatur 20 - 24 Stunden inkubiert und vor direktem Sonnenlicht geschützt. Danach wird der Kolben für mindestens 20 Minuten auf 4°C abgekühlt, um HCN-Verluste zu vermeiden. Dann wird mit Wasser auf das Endvolumen von 250 ml aufgefüllt. Einige Glasperlen werden hinzugefügt und die Hydrocyansäure wird sofort durch einen von dem kochenden Kolben durch einen Abscheider getrennten Verdichter in einen 250 ml Kolben destilliert, der 20 ml 0,1 normale NaOH enthält (siehe Abbildung). Die Spitze des Destilliervorstosses muss in die Lösung eintauchen. Zur Heizung sollte vorzugsweise ein elektrischer Heizmantel verwendet werden, um lokales Überhitzen des Blattbreies zu vermeiden. Die Destillation wird fortgesetzt bis ca. 125 ml Destillat gesammelt sind. Eine ausreichend grosse Wassermenge sollte im Destillierkolben vorhanden sein, da sonst im Destillat Verbindungen entstehen können, die in der darauffolgenden Titration stören.

Der Kolben mit dem Destillat wird mit Äthylalkohol (um eine Trübung zu vermeiden) bis auf 250 ml aufgefüllt und geschüttelt. Zu 100 ml dieser Lösung werden 4 ml einer 10%-igen KJ und 10 ml einer 10 gewichtsprozentigen Ammoniaklösung hinzugefügt. Der Kolben wird auf matt-schwarzes Papier gestellt und bis zur beständigen Opaleszenz mit 0,02 normalem Silbernitrat titriert. Das schwarze Papier ermöglicht es, den Endpunkt leichter zu erkennen.

Die Titration sollte zügig durchgeführt werden und innerhalb von 5 Minuten beendet sein. Wenn diese Zeit überschritten wird, ist die Titration zu wiederholen. Ein Kontrollversuch mit den gleichen Mengen an Wasser, Alkohol, KJ und Ammoniaklösung ist durchzuführen und der erhaltene Wert vom Titrationswert abzuziehen.

Geringe Mengen Chloride im Destillat beeinflussen die Titration nicht und haben daher keinen Einfluss auf das Endergebnis.

Reaktion in ammoniakalischem Milieu:



Der Endpunkt der Titration wird durch die Bildung vom opalisierenden AgJ Sol angezeigt. Das Molekulargewicht von HCN ist 27, daher entspricht 1 ml 0,02 normale Ag NO₃ = 2 x 0,02 x 27 mg = 1,08 mg HCN.

Berechnung des Cyanidglycosids als % HCN in der Trockensubstanz

Bei der Titrierung von 100 ml aus 250 ml Destillat von ca. 50 g Frischmaterial mit 0,02 n Ag NO₃ ergibt sich:

% HCN in Frischsubstanz =

$$\frac{250}{100} \times (\text{ml Titrierung} - \text{ml Kontrollprobe}) \times \frac{1,08}{1000} \times \frac{100}{\text{g Frischmaterial}}$$

% HCN in der Trockensubstanz =

$$\% \text{ HCN in der Frischsubstanz} \times \frac{100}{\% \text{ Trockensubstanz}}$$

Bemerkungen

Die Wirkung der Linamarase hat ihr Optimum bei einem ph-Wert von 6,0 und sinkt schnell bei höheren Werten. In den Niederlanden wurde bei zerkleinerten Kleeblättern im Herbst ein ph-Wert zwischen 5,2 und 5,5 gefunden, so dass ein Zusatz verdünnter Säure unnötig ist.

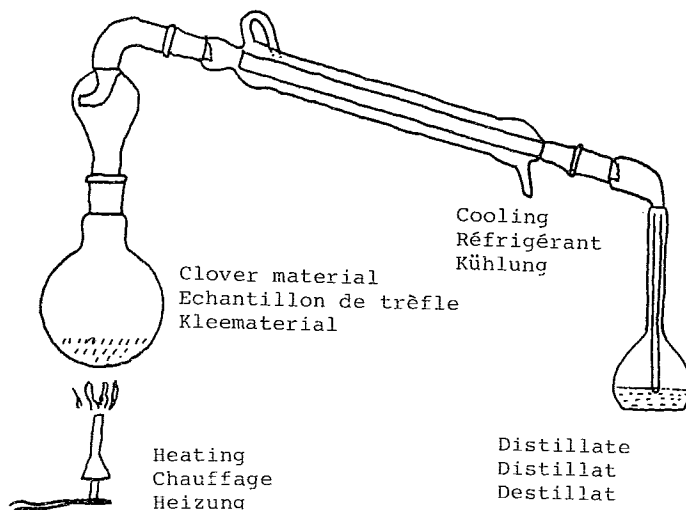
Ausserdem sollte der ph-Wert bei der Destillierung nicht unter 5,0 sinken, um die irreversible Aufnahme von HCN durch das Pflanzenmaterial zu vermeiden.

Eine Zugabe von Linamarase, wie von Melville empfohlen, hat sich als nicht nötig erwiesen.

* * *

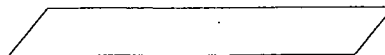
Figure/Figure/Abbildung

Distillation apparatus
Appareil de distillation
Destillierapparat



[End of Annex 2, Annex 3 follows;
Fin de l'annexe 2, l'annexe 3 suit;
Ende der Anlage 2, Anlage 3 folgt]

Reference Number (not to be filled in by the applicant)
Référence (réservé aux Administrations)
Referenznummer (nicht vom Anmelder auszufüllen)



TECHNICAL QUESTIONNAIRE
to be completed in connection with an application for plant breeders' rights

QUESTIONNAIRE TECHNIQUE
à remplir en relation avec une demande de certificat d'obtention végétale

TECHNISCHER FRAGEBOGEN
in Verbindung mit der Anmeldung zum Sortenschutz auszufüllen

1. Species/Espèce/Art	<u>Trifolium repens L.</u> WHITE CLOVER TREFLE BLANC WEISSKLEE
2. Applicant (Name and address)/Demandeur (nom et adresse)/Anmelder (Name und Adresse)	
3. Proposed denomination or breeder's reference Dénomination proposée ou référence de l'obtenteur Vorgeschlagene Sortenbezeichnung oder Anmeldebezeichnung	
4. Information on origin, maintenance and reproduction of the variety Renseignements sur l'origine, le maintien et la reproduction de la variété Information über Ursprung, Erhaltung und Vermehrung der Sorte	

5. Characteristics of the variety to be indicated (the number in brackets refers to the corresponding characteristic in the test guidelines; please mark the state of expression which best corresponds)

Caractères de la variété à indiquer (le nombre entre parenthèses renvoie au caractère correspondant dans les principes directeurs d'examen; prière de marquer d'une croix le niveau d'expression approprié)

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

	Characteristics Caractères Merkmale	English	français	deutsch	Example Varieties Exemples Beispielssorten	Note
5.1	Leaf: length of central leaflet (at time of flowering; 3rd to 4th leaf from end tip of rapidly growing stolon)	very short	très courte	sehr kurz	Kent Wild White	1 []
(1)	Feuille : longueur de la foliole centrale (à l'époque de la floraison; 3e ou 4e feuille à partir de l'extrémité d'un stolon en croissance rapide)	short	courte	kurz	S 184	3 []
	Blatt: Länge des mittleren Teilblattes (zur Zeit der Blüte; 3. bis 4. Blatt von der äussersten Spitze eines schnell wachsenden Ausläufers)	medium	moyenne	mittel	Milkanova	5 []
		long	longue	lang	Gigant	7 []
		very long	très longue	sehr lang	Ladino	9 []
5.2	Leaf: width of central leaflet (as for 5.1)	very narrow	très étroite	sehr schmal	Kent Wild White	1 []
(2)	Feuille : largeur de la foliole centrale (comme pour 5.1)	narrow	étroite	schmal	S 184	3 []
	Blatt : Breite des mittleren Teilblattes (wie unter 5.1)	medium	moyenne	mittel	Milkanova	5 []
		broad	large	breit	Gigant	7 []
		very broad	très large	sehr breit	Ladino	9 []
5.3	Leaf: mark	absent	absente	fehlend	Pronitro, Gigant	1 []
(3)	Feuille : marque	present	présente	vorhanden	Tamar	9 []
	Blatt: Zeichnung					
5.4	Leaf: length of petiole (as for 5.1)	short	court	kurz	S. 184	3 []
(5)	Feuille : longueur du pétiole (comme pour 5.1)	medium	moyen	mittel	Milkanova	5 []
	Blatt: Länge des Stieles (wie unter 5.1)	long	long	lang	Gigant	7 []
5.5	Time of flowering (in the year after sowing when 3 florets per plant are open)	very early	très précoce	sehr früh		1 []
(8)	Epoque de floraison (l'année suivant le semis quand 3 fleurs par plante sont ouvertes)	early	précoce	früh	von Kamekes	3 []
	Blühzeitpunkt (im Jahr nach der Aussaat wenn 3 Blüten pro Pflanze geöffnet sind)	medium	moyenne	mittel	Huia, S 184	5 []
		late	tardive	spät	Gigant	7 []
		very late	très tardive	sehr spät		9 []

6. Similar varieties and differences from these varieties
Variétés voisines et différences par rapport à ces variétés
Ähnliche Sorten und Unterschiede zu diesen Sorten

Denomination of varieties
Dénomination des variétés
Bezeichnung der Sorten

Differences
Différences
Unterschiede

7. Additional information which may help to distinguish the variety
Renseignements complémentaires pouvant faciliter la détermination des caractères distinctifs
de la variété
Zusätzliche Information zur Erleichterung der Unterscheidung der Sorte

- 7.1 Resistance to pests and diseases
Résistances aux parasites et aux maladies
Resistenzen gegenüber Schadorganismen

- 7.2 Special conditions for the examination of the variety
Conditions particulières pour l'examen de la variété
Besondere Bedingungen für die Prüfung der Sorte

- 7.3 Other information
Autres renseignements
Andere Information