



TG/81/7

ORIGINAL: Inglés

FECHA: 2023-08-31

UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES

Ginebra

GIRASOL

Código(s) UPOV: HLNTS_ANN

Helianthus annuus L.

DIRECTRICES

PARA LA EJECUCIÓN DEL EXAMEN

DE LA DISTINCIÓN, LA HOMOGENEIDAD Y LA ESTABILIDAD

Nombres alternativos:*

Nombre botánico	Inglés	Francés	Alemán	Español
<i>Helianthus annuus</i> L.	Common Sunflower	Soleil, Tournesol	Sonnenblume	Girasol

La finalidad de estas directrices ("directrices de examen") es elaborar los principios que figuran en la Introducción General (documento TG/1/3) y sus documentos TGP conexos, con objeto de que sirvan de orientación práctica y detallada para el examen armonizado de la distinción, homogeneidad y estabilidad (DHE) y en particular, para identificar los caracteres apropiados para el examen DHE y producir descripciones armonizadas de variedades.

DOCUMENTOS CONEXOS

Estas directrices de examen deberán leerse en conjunción con la Introducción General y sus documentos TGP conexos.

* Estos nombres eran correctos en el momento de la adopción 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.]

<u>ÍNDICE</u>	<u>PÁGINA</u>
1. OBJETO DE ESTAS DIRECTRICES DE EXAMEN.....	3
2. MATERIAL NECESARIO.....	3
3. MÉTODO DE EXAMEN.....	3
3.1 Número De Ciclos De Cultivo.....	3
3.2 Lugar De Ejecución De Los Ensayos.....	3
3.3 Condiciones Para Efectuar El Examen.....	3
3.4 Diseño De Los Ensayos.....	3
3.5 Ensayos Adicionales.....	4
4. EVALUACIÓN DE LA DISTINCIÓN, LA HOMOGENEIDAD Y LA ESTABILIDAD.....	4
4.1 Distinción.....	4
4.2 Homogeneidad.....	5
4.3 Estabilidad.....	6
5. MODO DE AGRUPAR LAS VARIEDADES Y ORGANIZACIÓN DE LOS ENSAYOS EN CULTIVO.....	6
6. INTRODUCCIÓN A LA TABLA DE CARACTERES.....	7
6.1 Categorías De Caracteres.....	7
6.2 Niveles De Expresión Y Notas Correspondientes.....	7
6.3 Tipos De Expresión.....	7
6.4 Variedades Ejemplo.....	7
6.5 Leyenda.....	8
7. TABLE OF CHARACTERISTICS/TABLEAU DES CARACTÈRES/MERKMALSTABELLE/TABLA DE CARACTERES.....	9
8. EXPLICACIONES DE LA TABLA DE CARACTERES.....	20
8.1 Explicaciones Relativas A Varios Caracteres.....	20
8.2 Explicaciones Relativas A Caracteres Individuales.....	20
8.3 Los estados de desarrollo de <i>Helianthus annuus</i> L. adaptadas a la escala BBCH (Meier U., 1997) aplicable a cada una de las plantas.....	27
9. BIBLIOGRAFÍA.....	28
10. CUESTIONARIO TÉCNICO.....	29

ANEXO Explicaciones útiles adicionales

1. Objeto de estas directrices de examen

Las presentes directrices de examen se aplican a todas las variedades de *Helianthus annuus* L. (excluidas las variedades ornamentales).

2. Material necesario

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 semillas.

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

5.000 semillas para líneas endógamas
1 kg de semillas para híbridos y variedades de polinización libre

En el caso de híbridos, se deberán presentar otras 5.000 semillas de cada componente (por ejemplo, para un híbrido simple, líneas femeninas (línea androestéril y línea mantenedora) y la línea masculina). En el caso de líneas androestériles, se presentarán otras 5.000 semillas de la línea mantenedora.

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.

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

2.5 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. Método de examen

3.1 *Número de ciclos de cultivo*

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

3.1.2 Se podrá concluir el examen de una variedad cuando la autoridad competente pueda determinar con certeza su resultado.

3.2 *Lugar de ejecución de los ensayos*

Normalmente los ensayos deberán efectuarse en un sólo lugar. En el documento TGP/9 "Examen de la distinción" se ofrece orientación respecto a los ensayos realizados en más de un lugar.

3.3 *Condiciones para efectuar el examen*

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 para la ejecución del examen.

3.3.2 El estado óptimo de desarrollo para evaluar cada carácter se indica mediante una referencia en la tabla de caracteres. Los estados de desarrollo indicados por cada referencia se describen en el Capítulo 8.3.

3.4 *Diseño de los ensayos*

3.4.1 Cada ensayo deberá tener por finalidad la obtención de al menos 40 plantas, que se dividirán en al menos 2 repeticiones.

- 3.4.2 Los ensayos deberán concebirse de tal manera que se permita la extracción de plantas o partes de plantas para efectuar medidas y conteos, sin perjudicar las observaciones posteriores que deberán efectuarse hasta el final del ciclo de cultivo

3.5 *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

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, a continuación se citan una serie de aspectos que han de tenerse en cuenta en las directrices de examen.

Para evaluar la distinción de los híbridos, se puede utilizar las líneas parentales y la fórmula, con arreglo a las siguientes recomendaciones:

- i) descripción de las líneas parentales con arreglo a las Directrices de examen;
- ii) comprobación de la originalidad de las líneas parentales por comparación con la colección de referencia, sobre la base de los caracteres indicados en el capítulo 7, con el fin de seleccionar las líneas endógamas más próximas;
- iii) comprobación de la originalidad de la fórmula de los híbridos por comparación con la de los híbridos notoriamente conocidos, teniendo en cuenta las líneas endógamas más próximas;
- iv) evaluación de la distinción en el nivel del híbrido en las variedades con una fórmula similar.

En los documentos TGP/9 "Examen de la distinción" y TGP/8 "Diseño de ensayos y técnicas utilizadas en el examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad" se ofrecen más orientaciones.

4.1.2 Diferencias consistentes

Las diferencias observadas entre variedades pueden ser tan evidentes que no sea necesario más de un ciclo de cultivo. Asimismo, en algunas circunstancias, la influencia del medio ambiente no reviste la importancia suficiente como para requerir más de un único ciclo de cultivo con el fin de garantizar que las diferencias observadas entre variedades son suficientemente consistentes. Una manera de garantizar que una diferencia en un carácter, observada en un ensayo en cultivo, sea lo suficientemente consistente es examinar el carácter en al menos dos ciclos de cultivo independientes.

4.1.3 Diferencias claras

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.

4.1.4 Número de plantas o partes de plantas que se ha de examinar

Salvo indicación en contrario, a los efectos de la distinción, todas las observaciones de plantas individuales deberán efectuarse en 36 plantas o partes de cada una de las 36 plantas y cualquier otra observación se efectuará en todas las plantas del ensayo, sin tener en cuenta las plantas fuera de tipo.

4.1.5 Método de observación

El método recomendado para observar los caracteres a los fines del examen de la distinción se indica en la tabla de caracteres mediante la siguiente clave (véase el documento TGP/9 “Examen de la distinción”, sección 4 “Observación de los caracteres”):

MG: medición única de un grupo de varias 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 varias plantas o partes de plantas

VS: evaluación visual mediante la observación de varias plantas o partes de plantas individuales

Tipo de observación visual (V) o medición (M)

La observación “visual” (V) es una observación basada en la opinión del experto. A los fines del presente documento, por observación “visual” se entienden las observaciones sensoriales de los expertos y, por lo tanto, también incluye el olfato, el gusto y el tacto. La observación visual comprende además las observaciones en las que el experto utiliza referencias (por ejemplo, diagramas, variedades ejemplo, comparación por pares) o gráficos no lineales (por ejemplo, cartas de colores). La medición (M) es una observación objetiva que se realiza frente a una escala lineal calibrada, por ejemplo, utilizando una regla, una báscula, un colorímetro, fechas, recuentos, etc.

Tipo de registro(s): un grupo de plantas (G) o plantas individuales (S)

A los fines de la distinción, las observaciones pueden registrarse mediante una observación global de un grupo de plantas o partes de plantas (G) o mediante observaciones de varias plantas o partes de plantas individuales (S). En la mayoría de los casos, la observación del tipo “G” proporciona un único registro por variedad y no es posible ni necesario aplicar métodos estadísticos en un análisis planta por planta para la evaluación de la distinción.

Para los casos en que en la tabla de caracteres se indica más de un método de observación de los caracteres (p. ej. VG/MG), en la Sección 4.2 del documento TGP/9 se ofrece orientación sobre la elección de un método apropiado.

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, a continuación se citan una serie de aspectos que han de tenerse en cuenta en las directrices de examen.

4.2.2 Las presentes directrices de examen han sido desarrolladas para el examen de variedades propagadas mediante semillas. En el caso de variedades con otros tipos de reproducción o multiplicación, deberán seguirse las recomendaciones que figuran en la Introducción General y en la sección 4.5 “Examen de la homogeneidad” del documento TGP/13 “Orientaciones para nuevos tipos y especies”.

4.2.3 La evaluación de la homogeneidad en las variedades de polinización libre se realizará de conformidad con las recomendaciones que figuran en la Introducción General.

4.2.4 La evaluación de la homogeneidad en las variedades híbridas depende del tipo de híbrido y se realizará de conformidad con las recomendaciones que figuran en la Introducción General.

- 4.2.5 Cuando en la evaluación se emplean las líneas parentales, la homogeneidad de un híbrido debe evaluarse mediante el examen de la homogeneidad de sus líneas parentales, además del examen del híbrido en sí.
- 4.2.6 Para la evaluación de la homogeneidad de las líneas endógamas, deberá aplicarse una población estándar del 2% y una probabilidad de aceptación del 95%, como mínimo. En el caso de una muestra de 36 plantas, se permitirán 2 plantas fuera de tipo. Además, se deberán aplicar la misma población estándar y la misma probabilidad de aceptación en lo que respecta a plantas provenientes de cruzamientos naturales y a plantas autofecundadas fértiles, dentro de una línea androestéril. Para la evaluación de la homogeneidad de híbridos simples, deberá aplicarse una población estándar del 5% y una probabilidad de aceptación del 95%, como mínimo. En el caso de una muestra de 36 plantas, se permitirán 4 plantas fuera de tipo. Por lo que atañe a los híbridos de tres vías y a las variedades de polinización libre, la variabilidad dentro de la variedad no debería superar la variabilidad de variedades comparables ya conocidas.

4.3 *Estabilidad*

- 4.3.1 En la práctica no es frecuente que se conduzcan exámenes de la estabilidad que brinden resultados tan fiables como los obtenidos en el examen de la distinción y la homogeneidad. No obstante, la experiencia ha demostrado que en muchos tipos de variedades, cuando una variedad haya demostrado ser homogénea, también podrá considerarse estable.
- 4.3.2 Cuando corresponda, o en caso de duda, la estabilidad podrá evaluarse adicionalmente, examinando un nuevo lote de semillas, para asegurarse de que presenta los mismos caracteres que el material suministrado inicialmente.
- 4.3.3 Cuando corresponda, o en caso de duda, la estabilidad de una variedad híbrida podrá, además de evaluarse mediante un examen de la propia variedad híbrida, asimismo evaluarse mediante un examen de la homogeneidad y la estabilidad de sus líneas parentales.

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

- 5.1 Los caracteres de agrupamiento contribuyen a seleccionar 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 en 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 Se ha acordado la utilidad de los siguientes caracteres de agrupamiento:
- a) Hoja: intensidad del color verde (carácter 2)
 - b) Hoja: abullonado (carácter 3)
 - c) Época de inicio de la floración (carácter 11)
 - d) Flor ligulada: color (carácter 17)
 - e) Flósculo: producción de polen (carácter 22)
 - f) Sólo variedades endógamas: Planta: altura natural (carácter 27)
 - g) Sólo híbridos y variedades de polinización libre: Planta: altura natural (carácter 28)
 - h) Planta: ramificación (carácter 29)
 - i) Semilla: color (carácter 39)
 - j) Semilla: rayas en el borde (carácter 40)
 - k) Semilla: rayas entre los bordes (carácter 41)
- 5.4 En la Introducción General y en el documento TGP/9 "Examen de la distinción" 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*

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

6.2.2 Todos los niveles pertinentes de expresión se presentan en el carácter.

6.2.3 Explicaciones más exhaustivas relativas a la presentación de los niveles de expresión y de las notas figuran en el documento TGP/7 "Elaboración de las directrices de examen."

6.3 *Tipos de expresión*

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

6.4 *Variedades ejemplo*

En caso necesario, se proporcionan variedades ejemplo con el fin de aclarar los niveles de expresión de un carácter.

6.5 Leyenda

English				français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1	2	3	4	5	6	7			
Name of characteristics in English				Nom du caractère en français		Name des Merkmals auf Deutsch		Nombre del carácter en español	
states of expression				types d'expression		Ausprägungsstufen		tipos de expresión	

- 1 Número de carácter
- 2 (*) Carácter con asterisco – véase el Capítulo 6.1.2
- 3 Tipo de expresión
 - QL Carácter cualitativo – véase el Capítulo 6.3
 - QN Carácter cuantitativo – véase el Capítulo 6.3
 - PQ Carácter pseudocualitativo – véase el Capítulo 6.3
- 4 Método de observación (y tipo de parcela, si aplicable)
 - MG, MS, VG, VS – véase el Capítulo 4.1.5
- 5 (+) Véanse las explicaciones de la tabla de caracteres en el Capítulo 8.2
- 6 (a) Véanse las explicaciones de la tabla de caracteres en el Capítulo 8.1
- 7 Clave del estado de desarrollo Véanse las explicaciones de la tabla de caracteres en el Capítulo 8.3

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

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1.	QN	VG		10			
	Seedling: anthocyanin coloration of hypocotyl		Plantule : pigmentation anthocyanique de l'hypocotyle	Keimpflanze: Anthocyanfärbung des Hypokotyls	Plántula: pigmentación antociánica del hipocótilo		
	absent or very weak		absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	T0954LM	1
	weak		faible	gering	débil	OB724	2
	medium		moyenne	mittel	media	TRC3285	3
	strong		forte	stark	fuerte	F7AW1MOA	4
	very strong		très forte	sehr stark	muy fuerte	Kisvárdai	5
2. (*)	QN	VG	(a)	51-55			
	Leaf: intensity of green color		Feuille : intensité de la couleur verte	Blatt: Intensität der Grünfärbung	Hoja: intensidad del color verde		
	very light		très claire	sehr hell	muy clara	F5DN3MA, T0243HG	1
	light		claire	hell	clara		2
	medium		moyenne	mittel	media	H11050R	3
	dark		foncée	dunkel	oscura		4
	very dark		très foncée	sehr dunkel	muy oscura	13013	5
3. (*)	QN	VG	(a)	51-55			
	Leaf: blistering		Feuille : gaufrure	Blatt: Blasigkeit	Hoja: abullonado		
	absent or very weak		absente ou très faible	fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	F5DN3MA	1
	very weak to weak		très faible à faible	sehr gering bis gering	muy débil a débil		2
	weak		faible	gering	débil	F7AX2JA, IR79DMR	3
	weak to medium		faible à moyenne	gering bis mittel	débil a medio		4
	medium		moyenne	mittel	medio	HA89, IB1088DMR	5
	medium to strong		moyenne à forte	mittel bis stark	medio a fuerte		6
	strong		forte	stark	fuerte	TRC2342	7
	strong to very strong		forte à très forte	stark bis sehr stark	fuerte a muy fuerte		8
	very strong		très forte	sehr stark	muy fuerte		9

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
4. (*)	QN	VG	(+)	(a)	51-55			
	Leaf: serration		Feuille : denture		Blatt: Randeinschnitte	Hoja: serrado		
	isolated or very fine		isolée ou très fine		vereinzelt oder sehr fein	aislado o muy fino	99D40R	1
	very fine to fine		très fine à fine		sehr fein bis fein	muy fino a fino		2
	fine		fine		fein	fino	IR79DMR	3
	fine to medium		fine à moyenne		fein bis mittel	fino a medio		4
	medium		moyenne		mittel	medio	HA89, TRC2342	5
	medium to coarse		moyenne à grossière		mittel bis grob	medio a grosero		6
	coarse		grossière		grob	grosero	PB1458DMR	7
	coarse to very coarse		grossière à très grossière		grob bis sehr grob	grosero a muy grosero		8
	very coarse		très grossière		sehr grob	muy grosero		9
5.	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: profile in cross-section		Feuille : profil en section transversale		Blatt: Profil im Querschnitt	Hoja: perfil en sección transversal		
	strongly concave		fortement concave		stark konkav	fuertemente cóncavo	RT9513	1
	weakly concave		faiblement concave		schwach konkav	débilmente cóncavo		2
	flat		plate		gerade	plano	PH5002R	3
	weakly convex		faiblement convexe		schwach konvex	débilmente convexo		4
	strongly convex		fortement convexe		stark konvex	fuertemente convexo		5
6.	PQ	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: shape		Feuille : forme		Blatt: Form	Hoja: forma		
	elliptic		elliptique		elliptisch	elíptica	FR810RM1	1
	very narrow triangular		triangulaire très étroite		sehr schmal dreieckig	triangular muy estrecha	FR81013	2
	narrow triangular		triangulaire étroite		schmal dreieckig	triangular estrecha	RT0976	3
	medium triangular		triangulaire moyenne		mittel dreieckig	triangular media	RT9513	4
	broad triangular		triangulaire large		breit dreieckig	triangular ancha	BT0835	5
	triangular to rounded		triangulaire à arrondie		dreieckig bis abgerundet	triangular a redondeada		6
	rounded		arrondie		abgerundet	redondeada		7

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
7. (*)	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: lobes		Feuille : lobes		Blatt: Lappen	Hoja: lóbulos		
	absent or very small		absents ou très petits		fehlend oder sehr klein	ausentes o muy pequeños	37025	1
	very small to small		très petits à petits		sehr klein bis klein	muy pequeños a pequeños		2
	small		petits		klein	pequeños	T0954LM	3
	small to medium		petits à moyens		klein bis mittel	pequeños a medias		4
	medium		moyens		mittel	medios		5
	medium to large		moyens à grands		mittel bis groß	medios a grandes		6
	large		grands		groß	grandes	F6AH6MO, HA89	7
	large to very large		grands à très grands		groß bis sehr groß	grandes a muy grandes		8
	very large		très grands		sehr groß	muy grandes	RHA299	9
8.	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: parenchyma at base of lateral veins		Feuille : parenchyme à la base des nervures latérales		Blatt: Parenchym an der Basis der untersten Seitenerven	Hoja: parénquima en la base de los nervios laterales		
	none or very weak		absent ou très faible		fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	T0954LM	1
	weak		faible		gering	débil	F7AW1MOA	2
	strong		fort		stark	fuerte	13013	3
9. (*)	QN	VG	(+)	(a)	53-55			
	Leaf: angle of lowest lateral veins		Feuille : angle des nervures latérales les plus basses		Blatt: Winkel der untersten Seitenadern	Hoja: ángulo de los nervios laterales inferiores		
	acute		aigu		spitz	agudo	T0860LM	1
	right angle or nearly right angle		droit ou presque droit		rechtwinklig oder fast rechtwinklig	ángulo recto o casi ángulo recto	F7AW1MOA	2
	obtuse		obtus		stumpf	obtuso	TFC3767B	3
10. (*)	QN	MS/VG		(a)	55-57			
	Leaf: size		Feuille : taille		Blatt: Größe	Hoja: tamaño		
	very small		très petite		sehr klein	muy pequeño		1
	very small to small		très petite à petite		sehr klein bis klein	muy pequeño a pequeño		2
	small		petite		klein	pequeño	PH5002R	3
	small to medium		petite à moyenne		klein bis mittel	pequeño a medio		4
	medium		moyenne		mittel	medio	LC1093, OB724	5
	medium to large		moyenne à grande		mittel bis groß	medio a grande		6
	large		grande		groß	grande	IA1169DMR	7
	large to very large		grande à très grande		groß bis sehr groß	grande a muy grande		8
	very large		très grande		sehr groß	muy grande		9

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
11. (*)	QN	MG/MS	(+)		61			
	Time of beginning of flowering		Époque du début de la floraison		Zeitpunkt des Blühbeginns	Época de inicio de la floración		
	very early		très précoce		sehr früh	muy temprana	PHA283	1
	very early to early		très précoce à précoce		sehr früh bis früh	muy temprana a temprana		2
	early		précoce		früh	temprana	T0860LM	3
	early to medium		précoce à moyenne		früh bis mittel	temprana a media		4
	medium		moyenne		mittel	media	H11050R, RHA274	5
	medium to late		moyenne à tardive		mittel bis spät	media a tardía		6
	late		tardive		spät	tardía	RT7710	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	Kisvárdai, LGR27	9
12.	QN	VG	(+)		63-65			
	Ray floret: attitude of base in relation to head		Fleur ligulée : port de la base par rapport au capitule		Zungenblüte: Haltung der Basis im Verhältnis zum Kopf	Flor ligulada: porte de la base en relación con el capítulo		
	erect		dressé		aufgerichtet	erecto	T0833HG	1
	semi-erect		demi-dressé		halbaufgerichtet	semierecto		2
	horizontal		horizontal		waagerecht	horizontal	T0954LM	3
13.	PQ	VG	(+)		63-65			
	Ray floret: profile		Fleur ligulée : profil		Zungenblüte: Profil	Flor ligulada: perfil		
	flat		plat		eben	plano	HA89, IR79DMR	1
	rolled		enroulé		gerollt	enrollado	PH5002R	2
	twisted		torsadé		gedreht	torcido	F5DN3MA	3
	strongly recurved		fortement recourbé		stark gebogen	fuertemente recurvado		4
14.	QN	VG			63-65			
	Flower: density of ray florets		Fleur : densité des fleurs ligulées		Blüte: Dichte der Zungenblüten	Flor: densidad de las flores liguladas		
	very sparse		très lâche		sehr locker	muy laxa	T0954LM	1
	sparse		lâche		locker	laxa		2
	medium		moyenne		mittel	media	99D40R, HA89	3
	dense		dense		dicht	densa		4
	very dense		très dense		sehr dicht	muy densa	OB724	5

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
15.	QN	MS/VG			63-65			
	Ray floret: length		Fleur ligulée : longueur		Zungenblüte: Länge	Flor ligulada: longitud		
	very short		très courte		sehr kurz bis kurz	muy corta	BT0835	1
	short		courte		kurz	corta		2
	medium		moyenne		mittel	media	SF9074MA	3
	long		longue		lang	larga		4
	very long		très longue		sehr lang bis sehr lang	muy larga	T0954LM	5
16.	QN	MS/VG	(+)		63-65			
	Ray floret: width in relation to length		Fleur ligulée : largeur par rapport à la longueur		Zungenblüte: Breite im Verhältnis zur Länge	Flor ligulada: anchura en relación con la longitud		
	very narrow		très étroite		sehr schmal	muy estrecha	T0954LM	1
	narrow		étroite		schmal	estrecha	HA850, OB724	2
	broad		large		breit	ancha		3
	very broad		très large		sehr breit	muy ancha		4
17. (*)	PQ	VG	(+)		63-65			
	Ray floret: color		Fleur ligulée : couleur		Zungenblüte: Farbe	Flor ligulada: color		
	yellowish white		blanc jaunâtre		gelblichweiß	blanco amarillento	RHA381	1
	light yellow		jaune clair		hellgelb	amarillo claro	F7AW1MOA	2
	medium yellow		jaune moyen		mittelgelb	amarillo medio	RT7710	3
	orange yellow		jaune orange		orange gelb	amarillo anaranjado	U0881BG	4
	orange		orange		orange	naranja	OB724, P211R	5
	purple		pourpre		purpurn	púrpura		6
	reddish brown		brun rougeâtre		rötlichbraun	marrón rojizo		7
18.	QL	VG	(+)		63-65			
	Disc floret: anthocyanin coloration of pappus		Fleuron : pigmentation anthocyannique du pappus		Röhrenblüte: Anthocyanfärbung des Pappus	Flósculo: pigmentación antociánica del papus		
	absent		absente		fehlend	ausente	F7EW4IMO	1
	present		présente		vorhanden	presente	OKD4447R, TRC2342	9
19.	PQ	VG			63-65			
	Disc floret: color		Fleuron : couleur		Röhrenblüte: Farbe	Flósculo: color		
	yellow		jaune		gelb	amarillo	STR226, TRC2342	1
	orange		orange		orange	naranja	F7AW1MOA, HA89	2
	purple		pourpre		purpurn	púrpura		3

	English		français		deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
20.	QL	VG	(+)		63-65			
	Disc floret: anthocyanin coloration of anthers		Fleuron : pigmentation anthocyanique des anthères		Röhrenblüte: Anthocyanfärbung der Antheren	Flósculo: pigmentación antociánica de las anteras		
	absent		absente		fehlend	ausente	R4NO4MJ	1
	present		présente		vorhanden	presente	R5XY3MJS	9
21.	QN	VG	(+)		63-65			
	Disc floret: anthocyanin coloration of stigma		Fleuron : pigmentation anthocyanique du stigmate		Röhrenblüte: Anthocyanfärbung der Narbe	Flósculo: pigmentación antociánica del estigma		
	absent or very weak		absente ou très faible		fehlend oder sehr gering	ausente o muy débil	SF9074MA	1
	weak		faible		gering	débil	RT7710	2
	medium		moyenne		mittel	media	R6ST2MI, TRC2342	3
	strong		forte		stark	fuerte	F7AW1MOA	4
	very strong		très forte		sehr stark	muy fuerte	Kisvárdai	5
22. (*)	QL	VG			63-65			
	Disc floret: production of pollen		Fleuron: production de pollen		Scheibenblüte: Pollenproduktion	Flósculo: producción de polen		
	absent		absente		fehlend	ausente	F7AW1MOA, HA89	1
	present		présente		vorhanden	presente	IR79DMR, RHA274	9
23.	PQ	VG	(+)		63-65			
	Bract: shape		Bractée : forme		Hüllblatt: Form	Bráctea: forma		
	narrow acute		aiguë étroite		schmal spitz	aguda estrecha	T0954LM	1
	broad acute		aiguë large		breit spitz	aguda ancha	IR79DMR	2
	rounded		arrondie		abgerundet	redondeada	IB1088DMR	3
24.	QN	MS/VG	(+)		63-65			
	Bract: length of tip		Bractée : longueur de l'extrémité		Hüllblatt: Länge der Spitze	Bráctea: longitud de la punta		
	very short		très courte		sehr kurz	muy corta	IB1088DMR	1
	short		courte		kurz	corta		2
	medium		moyenne		mittel	media	HA89, T0954LM	3
	long		longue		lang	larga		4
	very long		très longue		sehr lang	muy larga	U0881BG	5

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
25.	QN	VG		63-65			
	Bract: intensity of green color of outer side		Bractée : intensité de la couleur verte de la face externe	Hüllblatt: Intensität der Grünfärbung der Außenseite	Bráctea: intensidad del color verde de la cara externa		
	light		claire	hell	clara	T0243HG	1
	medium		moyenne	mittel	media	T0954LM	2
	dark		foncée	dunkel	oscura	RT8711	3
26.	QN	VG		69-73			
	Bract: attitude in relation to head		Bractée : port par rapport au capitule	Hüllblatt: Haltung im Verhältnis zum Korb	Bráctea: porte en relación con n el capítulo		
	not adpressed or very slightly adpressed		non apprimé ou très faiblement apprimé	nicht anliegend oder sehr leicht anliegend	no adpreso o muy ligeramente adpreso	HA89, RT0976	1
	slightly adpressed		légèrement apprimé	leicht anliegend	ligeramente adpreso	F7AW1MOA	2
	strongly adpressed		fortement apprimé	stark anliegend	fuertemente adpreso	RT9513	3
27. (*)	QN	MS		69-73			
	<u>Only inbred lines:</u> Plant: natural height		<u>Seulement pour les lignées :</u> Plante : hauteur naturelle	<u>Nur Inzuchtlinien:</u> Pflanze: natürliche Höhe	<u>Sólo variedades endógamas:</u> Planta: altura natural		
	very short		très basse	sehr niedrig	muy baja	FR810RM1	1
	very short to short		très basse à basse	sehr niedrig bis niedrig	muy baja a baja		2
	short		basse	niedrig	baja	OB724	3
	short to medium		basse à moyenne	niedrig bis mittel	baja a media		4
	medium		moyenne	mittel	media	U0881BG	5
	medium to tall		moyenne à haute	mittel bis hoch	media a alta		6
	tall		haute	hoch	alta	R6ST2MI	7
	tall to very tall		haute à très haute	hoch bis sehr hoch	alta a muy alta		8
	very tall		très haute	sehr hoch	muy alta	31G03	9

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
28. (*)	QN	MS		69-73			
	<u>Only hybrids and open-pollinated varieties:</u> Plant: natural height		<u>Seulement pour les hybrides et les variétés à fécondation libre :</u> Plante : hauteur naturelle	<u>Nur Hybriden und freiabblühende Sorten:</u> Pflanze: natürliche Höhe	<u>Sólo híbridos y variedades de polinización libre:</u> Planta: altura natural		
	very short		très basse	sehr niedrig	muy baja	Antonil	1
	very short to short		très basse à basse	sehr niedrig bis niedrig	muy baja a baja		2
	short		basse	niedrig	baja	GK Milia	3
	short to medium		basse à moyenne	niedrig bis mittel	baja a media		4
	medium		moyenne	mittel	media	Sumiko	5
	medium to tall		moyenne à haute	mittel bis hoch	media a alta		6
	tall		haute	hoch	alta	Marley	7
	tall to very tall		haute à très haute	hoch bis sehr hoch	alta a muy alta		8
	very tall		très haute	sehr hoch	muy alta	Kisvárdai	9
29. (*)	QL	VG		69-89			
	Plant: branching		Plante : ramification	Pflanze: Verzweigung	Planta: ramificación		
	absent		absente	fehlend	ausente	HA89, OB724	1
	present		présente	vorhanden	presente	RHA274, T0954LM	9
30. (*)	PQ	VG	(+)	69-89			
	<u>Only varieties with Plant: branching:</u> present: Plant: position of branching		<u>Seulement les variétés avec Plante : ramification :</u> présente : Plante : position de la ramification	<u>Nur Sorten mit Pflanze: Verzweigung: vorhanden:</u> Pflanze: Position der Verzweigung	<u>Solo variedades con Planta: ramificación: presente:</u> Planta: posición de la ramificación		
	only basal		uniquement basale	nur basal	sólo basal		1
	predominantly basal		prédominance basale	überwiegend basal	predominantemente basal		2
	throughout		partout	überall	total	H11050R	3
	predominantly apical		prédominance apicale	überwiegend apikal	predominantemente apical	RHA274, T0954LM	4
	only apical		uniquement apicale	nur apikal	sólo apical	TRC2342	5
31.	QN	VG		69-89			
	<u>Only varieties with Plant: branching:</u> present: Plant: position of highest lateral head to central head		<u>Seulement les variétés avec Plante : ramification :</u> présente : Plante : position du capitule latéral le plus haut par rapport au capitule central	<u>Nur Sorten mit Pflanze: Verzweigung: vorhanden:</u> Pflanze: Position des höchsten Seitenkorbes zum Hauptkorb	<u>Solo variedades con Planta: ramificación: presente:</u> Planta: posición natural del capítulo lateral más alto, en relación con el capítulo central		
	below		au-dessous	unterhalb	debajo	PH5004R	1
	same level		au même niveau	gleiche Höhe	al mismo nivel	T0954LM	2
	above		au-dessus	oberhalb	encima	99D40R	3

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
32. (*)	QN	VG	(+)	80-89			
	Stem: attitude		Tige : port	Stängel: Haltung	Tallo: porte		
	straight		droit	gerade	recto	U0881BG	1
	slightly curved		légèrement arqué	leicht gebogen	ligeramente arqueado		2
	strongly curved		fortement arqué	stark gebogen	fuertemente arqueado	F7EW2MIA	3
33. (*)	QN	VG	(+)	80-89			
	Head: attitude		Capitule : port	Kopf: Haltung	Capítulo: porte		
	horizontal		horizontal	waagerecht	horizontal	RT8711	1
	inclined		incliné	geneigt	inclinado		2
	vertical		vertical	vertikal	vertical	RT0976	3
	half-turned down		demi-renversé	halbüberhängend	semiinvertido	U0881BG	4
	turned down		renversé	überhängend	invertido	F5DN3MA	5
	over turned		retourné	zurückgebogen	retorcido		6
34. (*)	QN	MS/VG	(+)	80-89			
	Head: diameter		Capitule : diamètre	Korb: Durchmesser	Capítulo: diámetro		
	very small		très petit	sehr klein	muy pequeño		1
	very small to small		très petit à petit	sehr klein bis klein	muy pequeño a pequeño		2
	small		petit	klein	pequeño	RT0976	3
	small to medium		petit à moyen	klein bis mittel	pequeño a medio		4
	medium		moyen	mittel	medio	BT0835, HA89	5
	medium to large		moyen à grand	mittel bis groß	medio a grande		6
	large		grand	groß	grande	F5DN3MA	7
	large to very large		grand à très grand	groß bis sehr groß	grande a muy grande		8
	very large		très grand	sehr groß	muy grande		9
35. (*)	PQ	VG	(+)	85-87			
	Head: shape of seed side		Capitule : forme de la face portant les semences	Korb: Form der Kornseite	Capítulo: forma de la parte de la semilla		
	strongly concave		fortement concave	stark konkav	fuertemente cóncava		1
	weakly concave		faiblement concave	schwach konkav	débilmente cóncava	R5PG6MJ	2
	flat		plate	gerade	plana	RT8711	3
	weakly convex		faiblement convexe	schwach konvex	débilmente convexe	HA89, R6ST2MI	4
	strongly convex		fortement convexe	stark konvex	fuertemente convexe	T0916LG	5
	deformed		difforme	verformt	deformada	TRC3398R	6

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
36.	QN	MS/VG		99			
	Seed: size	Graine : taille	Korn: Größe	Semilla: tamaño			
	very small	très petite	sehr klein	muy pequeño	PHA283		1
	very small to small	très petite à petite	sehr klein bis klein	muy pequeño a pequeño			2
	small	petite	klein	pequeño	TRC2342		3
	small to medium	petite à moyenne	klein bis mittel	pequeño a medio			4
	medium	moyenne	mittel	medio	HA89, OB724		5
	medium to large	moyenne à grande	mittel bis groß	medio a grande			6
	large	grande	groß	grande	FT2603, Kisvárdai		7
	large to very large	grande à très grande	groß bis sehr groß	grande a muy grande			8
	very large	très grande	sehr groß	muy grande			9
37. (*)	PQ	VG	(+)	99			
	Seed: shape	Graine : forme	Korn: Form	Semilla: forma			
	elongated	allongée	langezogen	alargada	BT0835		1
	narrow ovoid	ovoïde étroite	schmal eiförmig	ovoide estrecha	H11050R		2
	broad ovoid	ovoïde large	breit eiförmig	ovoide ancha	F7AW1MOA, HA89		3
	rounded	arrondie	abgerundet	redondeada			4
38.	QN	MS/VG		99			
	Seed: thickness relative to width	Graine : épaisseur par rapport à la largeur	Korn: Dicke im Verhältnis zur Breite	Semilla: grosor con relación a la anchura			
	very thin	très mince	sehr dünn	muy delgado	RHA801		1
	thin	mince	dünn	delgado			2
	medium	moyenne	mittel	medio	F7AW1MOA, FR83322		3
	thick	épaisse	dick	grueso	85C11R, F7AX2MA		4
	very thick	très épaisse	sehr dick	muy grueso			5
39. (*)	PQ	VG	(+)	99			
	Seed: color	Graine : couleur	Korn: Farbe	Semilla: color			
	white	blanc	weiß	blanco	Labud		1
	purple	pourpre	purpurn	púrpura			2
	light brown	brun clair	hellbraun	marrón claro	IR79DMR		3
	medium brown	brun moyen	mittelbraun	marrón medio	H11050R		4
	dark brown	brun foncé	dunkelbraun	marrón oscuro	B0644LM		5
	light grey	gris clair	hellgrau	gris claro	RW666IMI		6
	medium grey	gris moyen	mittelgrau	gris medio	RT9513		7
	dark grey	gris foncé	dunkelgrau	gris oscuro			8
	black	noir	schwarz	negro	HA89, T0954LM		9

	English		français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
40. (*)	QN	VG	(+)	99			
	Seed: stripes on margin		Graine : stries sur le bord	Korn: Streifen am Rand	Semilla: rayas en el borde		
	none or very weak		aucunes ou très faibles	keine oder sehr schwach	ausentes o muy débiles	T0954LM	1
	weak		faibles	schwach	débiles	OB724	2
	strong		fortes	stark	fuertes	HA89, U0881BG	3
41. (*)	QN	VG	(+)	99			
	Seed: stripes between margins		Graine : stries entre les bords	Korn: Streifen zwischen den Rändern	Semilla: rayas entre los bordes		
	none or very weak		aucunes ou très faibles	keine oder sehr schwach	ausentes o muy débiles	T0954LM	1
	weak		faibles	schwach	débiles	LGR27	2
	strong		fortes	stark	fuertes	HA89, U0881BG	3
42. (*)	PQ	VG		99			
	Seed: color of stripes		Graine : couleur des stries	Korn: Farbe der Streifen	Semilla: color de las rayas		
	white		blanc	weiß	blanco	U0881BG	1
	brown		brun	braun	marrón	F1164LM	2
	grey		gris	grau	gris	99D40R	3
	black		noir	schwarz	negro		4

8. Explicaciones de la tabla de caracteres

8.1 *Explicaciones relativas a varios caracteres*

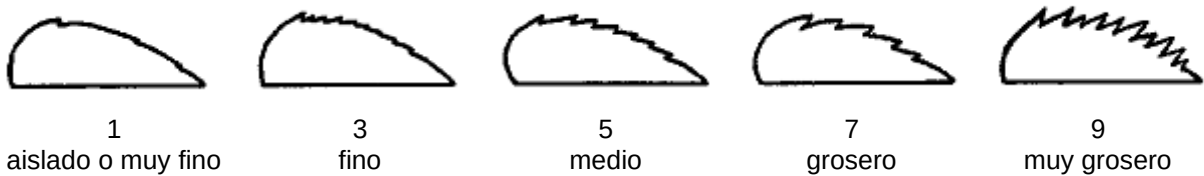
Salvo indicación en contrario, las observaciones deberán efectuarse en el tallo principal.

Los caracteres que contengan la siguiente clave en la tabla de caracteres deberán examinarse como se indica a continuación:

- (a) Las observaciones deberán efectuarse en hojas completamente desarrolladas del tercio superior de la planta.

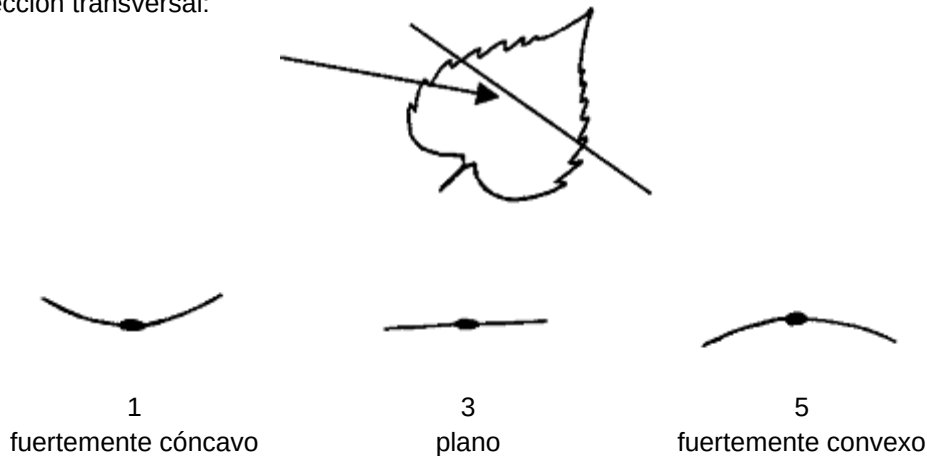
8.2 *Explicaciones relativas a caracteres individuales*

Ad. 4: Hoja: serrado



Ad. 5: Hoja: perfil en sección transversal

Sección transversal:



Ad. 6: Hoja: forma

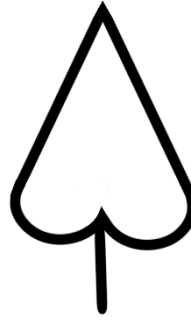
Las observaciones deben efectuarse en la parte distal de la hoja.



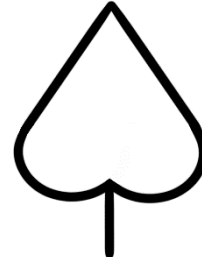
1
elíptica



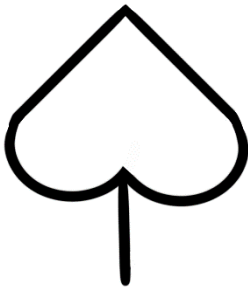
2
triangular muy estrecha



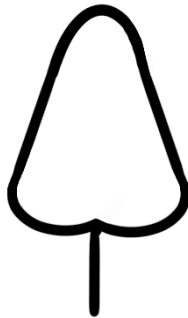
3
triangular estrecha



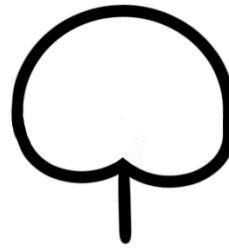
4
triangular media



5
triangular ancha



6
triangular a redondeada



7
redondeada

Ad. 7: Hoja: lóbulos



1
ausente o muy
pequeños



3
pequeños



5
medios

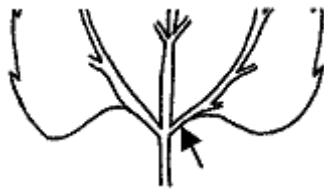


7
grandes

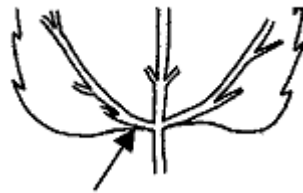


9
muy grandes

Ad. 8: Hoja: parénquima en la base de los nervios laterales



1
ausente o muy débil



2
débil



3
fuerte

Ad. 9: Hoja: ángulo de los nervios laterales inferiores



1
agudo



2
ángulo recto o casi ángulo recto



3
obtuso

Ad. 11: Época de inicio de la floración

La época de floración se alcanza cuando el 50% de las plantas tienen al menos una flor de rayo extendida.

Ad. 12: Flor ligulada: porte de la base en relación con el capítulo



1
erecto



3
horizontal

Ad. 13: Flor ligulada: perfil



1
plano



2
enrollado



3
torcido



4
fuertemente recurvado

Ad. 16: Flor ligulada: anchura en relación con la longitud



1
muy estrecha



2
estrecha



3
ancha



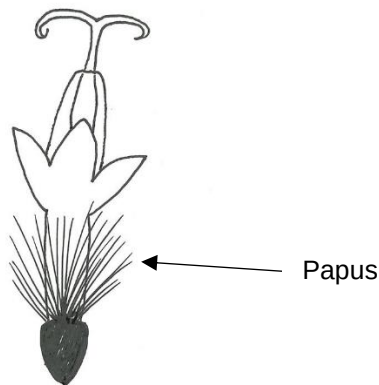
4
muy ancha

Ad. 17: Flor ligulada: color

El color de la flor ligulada es el que ocupa la mayor superficie. En los casos en que la superficie que ocupa los colores sean tan semejantes que no se pueda determinar con seguridad cuál es mayor, el color más oscuro debe observarse.

Ad. 18: Flósculo: pigmentación antociánica del papus

Las observaciones deberán efectuarse en el tercio interior del disco.



Ad. 20: Flósculo: pigmentación antociánica de las anteras

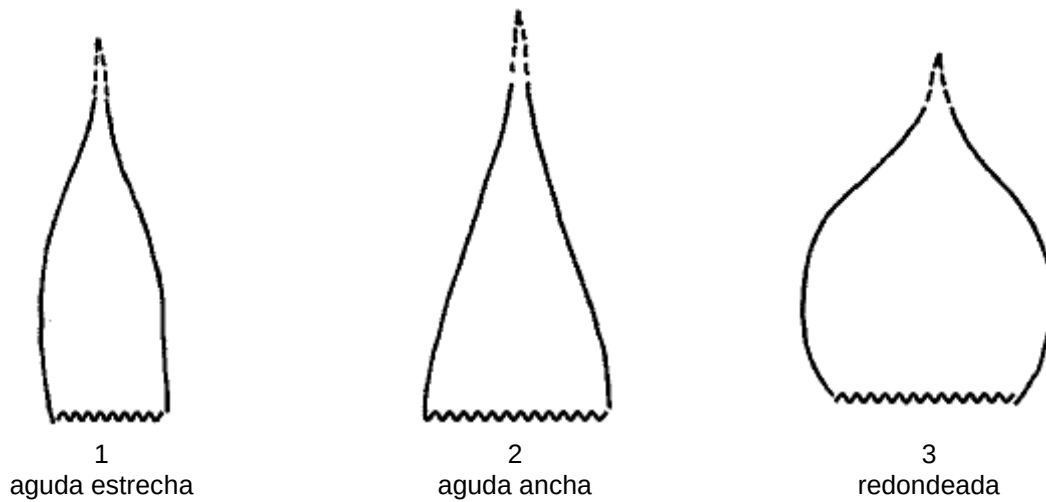
Las observaciones deberán efectuarse en el estigma justo después de la aparición del polen en la parte superior de las anteras.

Ad. 21: Flósculo: pigmentación antociánica del estigma

Véase la Ad. 20

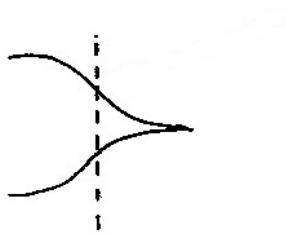
Ad. 23: Bráctea: forma

Se debe observar excluyendo la punta diferenciada.

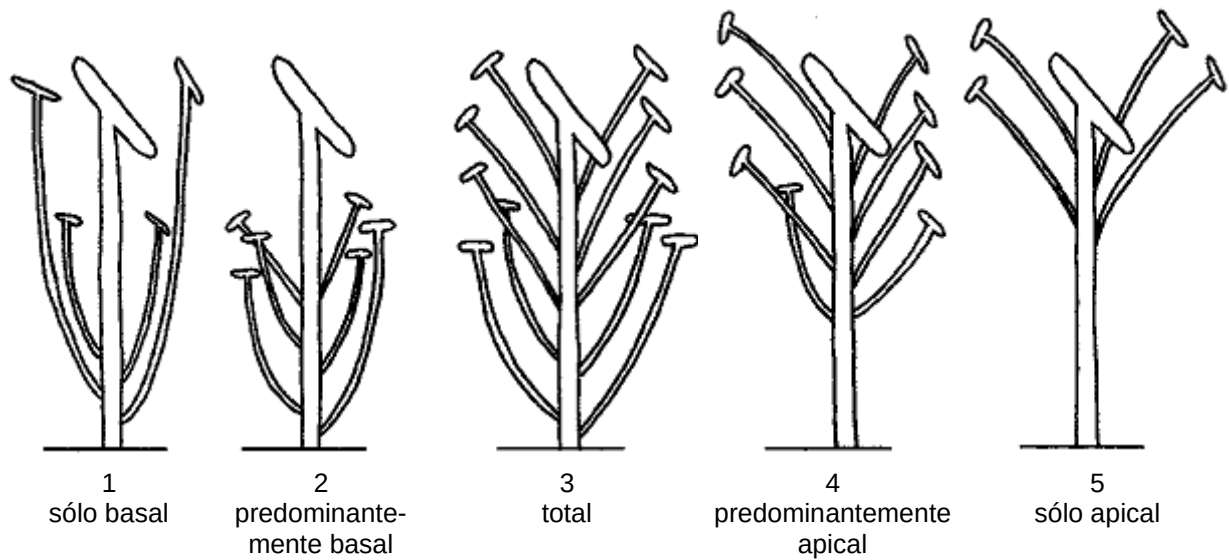


Ad. 24: Bráctea: longitud de la punta

La punta comienza donde cambia la dirección de la curva.



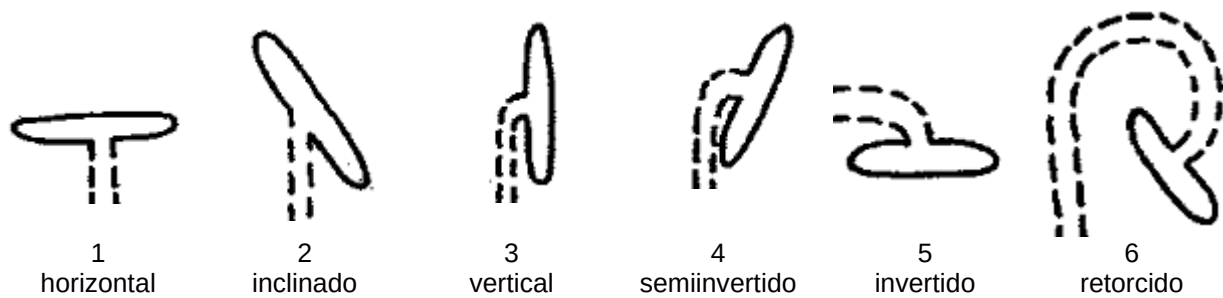
Ad. 30: Solo variedades con Planta: ramificación: presente: Planta: posición de la ramificación



Ad. 32: Tallo: porte

Las observaciones deberán efectuarse en el tercio superior del tallo, por debajo de la cabeza.

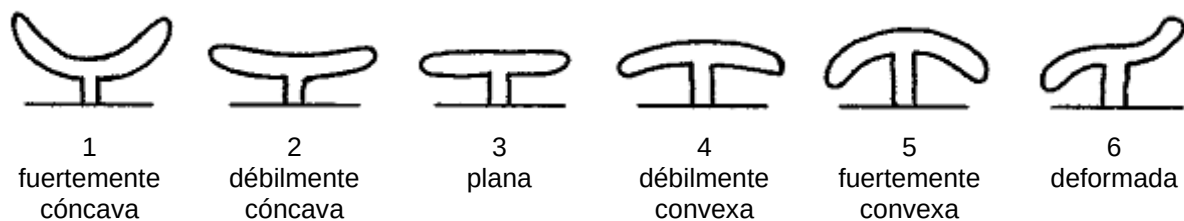
Ad. 33: Capítulo: porte



Ad. 34: Capítulo: diámetro

En el caso de las variedades ramificadas, las observaciones deberán efectuarse en capítulo central.

Ad. 35: Capítulo: forma de la parte de la semilla



Ad. 37: Semilla: forma



1
alargada



2
ovoide estrecha



3
ovoide ancha



4
redondeada

Ad. 39: Semilla: color

Debe observarse el color con la mayor superficie. En los casos en los que las áreas de los colores son demasiado similares para decidir con seguridad qué color tiene la mayor superficie, se debe observar el color más oscuro.

Ad. 40: Semilla: rayas en el borde



Ad. 41: Semilla: rayas entre los bordes



8.3 Los estados de desarrollo de *Helianthus annuus* L. adaptadas a la escala BBCH (Meier U., 1997) aplicable a cada una de las plantas

Código Descripción

Estadio principal 0: Germinación

- 0 Semilla seca (aquenio)
- 1 Comienzo de la imbibición de la semilla
- 3 Fin de la imbibición de la semilla
- 5 Salida de la radícula (raíz embrional) de la semilla
- 6 Radícula alargada; formando pelos radiculares
- 7 Hipocótilo, con los cotiledones fuera de la semilla
- 8 Hipocótilo, con los cotiledones creciendo hacia la superficie del suelo
- 9 Emergencia: Los cotiledones traspasan la superficie del suelo

Estadio principal 1: Desarrollo de las hojas (tallo principal)*

* El crecimiento longitudinal del tallo puede ocurrir antes del estadio 19 ; en tal caso continuar con el estadio 3.

- 10 Cotiledones, totalmente desplegados
- 12 1er par de hojas desplegadas
- 14 2o par de hojas desplegadas
- 15 5 hojas, desplegadas
- 16 6 hojas, desplegadas
- 17 7 hojas, desplegadas
- 18 8 hojas, desplegadas
- 19 9 o más hojas, desplegadas

Estadio principal 3: Crecimiento longitudinal del tallo principal

- 30 Comienzo del crecimiento longitudinal del tallo
- 31 1 entrenudo, alargado visiblemente
- 32 2 entrenudos, alargados visiblemente
- 3 Los estadios continúan hasta ...
- 39 9 o más entrenudos alargados visiblemente

Estadio principal 5: Aparición del órgano floral (tallo principal)

- 51 Inflorescencia (capítulo) recién visible entre las hojas más jóvenes
- 53 Inflorescencia (capítulo) se comienza a separar de las hojas más jóvenes; las brácteas se pueden distinguir de las hojas del follaje
- 55 Inflorescencia (capítulo) separada de las hojas más jóvenes del follaje
- 57 Inflorescencia (capítulo) claramente separada de las hojas del follaje
- 59 Flores de la corona visibles entre las brácteas; inflorescencia (capítulo) aún cerrada

Estadio principal 6: Floración (tallo principal)

- 61 Comienzo de la floración: las flores de la corona se alargan; las flores tubulosas del disco visibles en el tercio exterior de la inflorescencia (capítulo) Comienzo de la floración: las flores de la corona se alargan; las flores tubulosas del disco visibles en el tercio exterior de la inflorescencia (capítulo)
- 63 Las flores tubulosas del disco del tercio exterior de la inflorescencia (capítulo), en floración (estambres y estigmas, visibles)
- 65 Plena floración: las flores tubulosas del disco del tercio medio de la inflorescencia (capítulo), en floración (estambres y estigmas, visibles)
- 67 La floración decae: las flores tubulosas del disco del tercio interior de la inflorescencia (capítulo), en floración (estambres y estigmas, visibles)
- 69 Fin de la floración: la mayoría de las flores tubulosas del disco han florecido. El cuajado de frutos se puede observar en los tercios exteriores y medios del capítulo. Flores liguladas de la corona secas o caídas.

Estadio principal 7: Formación del fruto

- 71 Las semillas del borde del capítulo de color gris y tamaño final
- 73 Las semillas del tercio exterior del capítulo de color gris y tamaño final
- 75 Las semillas del tercio medio del capítulo de color gris y tamaño final
- 79 Las semillas del tercio interior del capítulo de color gris y tamaño final

Estadio principal 8: Maduración de frutos y semillas

- 80 Comienzo de la madurez: las semillas del borde del capítulo, negras y duras; El envés del capítulo aún verde
- 81 Semilla del tercio exterior del capítulo, negras y duras; envés del capítulo, aún verde
- 83 Madurez limón: el envés del capítulo, de color verde-amarillento; brácteas aún verdes; semillas con 50 % de materia seca
- 85 Madurez avanzada: semillas del tercio medio del capítulo negras y duras; el envés del capítulo, amarillo; brácteas, con filo marrón; semillas con 60 % de materia seca
- 87 Madurez fisiológica: el envés del capítulo, amarillo; brácteas de color mármol; semillas con 75-80 % de materia seca
- 89 Madurez total: las semillas del tercio interior del capítulo negras y duras; envés del capítulo, marrón; brácteas, marronas; semillas con 85 % de materia seca

Estadio principal 9: Senescencia

- 92 Sobremadurez: semillas con más de 90 % de materia seca
- 97 Planta, muerta y seca
- 99 Partes cosechadas

9. Bibliografía

ASFIS, GEVES, GNIS, 2000: Description des géniteurs et variétés de tournesol. (English, French, Spanish)
ASFIS, Paris, FR

Meier, U., 1997: Growth stages of mono- and dicotyledonous plants: BBCH-Monograph. Wien Federal
Biological Research Center for Agriculture and Forestry, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, DE.

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

10. CUESTINARIO TÉCNICO

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

	Fecha de la solicitud: (no debe ser rellenado por el solicitante)
--	--

CUESTIONARIO TÉCNICO
rellénese junto con la solicitud de derechos de obtentor

En el caso de variedades híbridas que sean objeto de una solicitud de derechos de obtentor, y cuando las líneas parentales deban presentarse como parte del examen de dicha variedad, este Cuestionario Técnico deberá rellenarse para cada una de las líneas parentales, además de rellenarse para la variedad híbrida.

1. Objeto del Cuestionario Técnico

1.1	Nombre botánico	<i>Helianthus annuus</i> L.
1.2	Nombre común	Girasol

2. Solicitante

Nombre	
Dirección	
Número de teléfono	
Número de fax	
Dirección de correo-e	
Obtentor (si no es el solicitante)	

3. Denominación propuesta y referencia del obtentor

Denominación propuesta (si procede)	
Referencia del obtentor	

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

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

4.1 Método de obtención

Variedad resultante de:

4.1.1 Cruzamiento

- a) cruzamiento controlado []
(sírbase mencionar las variedades parentales)

(.....) x (.....)
línea parental femenina línea parental masculina

- b) cruzamiento parcialmente desconocido []
(sírbase mencionar la variedad o variedades parentales conocidas)

(.....) x (.....)
línea parental femenina línea parental masculina

- c) cruzamiento desconocido []

4.1.2 Mutación []
(sírbase mencionar la variedad parental)

4.1.3 Descubrimiento y desarrollo []
(sírbase mencionar dónde y cuándo ha sido descubierta y cómo ha sido desarrollada la variedad)

4.1.4 Otros []
(sírbase dar detalles)

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

4.2 Método de reproducción de la variedad

4.2.1 Variedades propagadas mediante semillas

- | | |
|---------------------------------|-----|
| a) línea endocriada | [] |
| i) línea androestéril | [] |
| ii) línea masculina fértil | [] |
| b) híbrido | [] |
| i) híbrido androestéril | [] |
| ii) híbrido masculino fértil | [] |
| iii) híbrido de tres vías | [] |
| c) polinización cruzada | [] |
| d) otras (sírvese dar detalles) | [] |

4.2.2 Otras []
(sírvese dar detalles)

En el caso de las variedades híbridas, el método de producción se presentará en una hoja aparte, proporcionando detalles de todas las líneas parentales necesarias para reproducir el híbrido. Por ejemplo:

Híbrido simple

(.....)	x	(.....)
línea parental femenina		línea parental masculina

Híbrido de tres vías

(.....)	x	(.....)
línea parental femenina		línea parental masculina
(.....)	x	(.....)
híbrido simple utilizado como parental femenino		línea parental masculina

y en particular debería identificarse:

- cualquier línea parental androestéril
- el sistema de mantenimiento de las líneas parentales androestériles.

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

5. Caracteres de la variedad que se deben indicar (el número entre paréntesis indica el carácter correspondiente en las directrices de examen; especifíquese la nota apropiada)

Caracteres	Ejemplos	Note
5.1 Hoja: intensidad del color verde (2)		
muy clara	F5DN3MA, T0243HG	1 []
clara		2 []
media	H11050R	3 []
oscura		4 []
muy oscura	13013	5 []
5.2 Hoja: abullonado (3)		
ausente o muy débil	F5DN3MA	1 []
muy débil a débil		2 []
débil	F7AX2JA, IR79DMR	3 []
débil a medio		4 []
medio	HA89, IB1088DMR	5 []
medio a fuerte		6 []
fuerte	TRC2342	7 []
fuerte a muy fuerte		8 []
muy fuerte		9 []
5.3 Época de inicio de la floración (11)		
muy temprana	PHA283	1 []
muy temprana a temprana		2 []
temprana	T0860LM	3 []
temprana a media		4 []
media	H11050R, RHA274	5 []
media a tardía		6 []
tardía	RT7710	7 []
tardía a muy tardía		8 []
muy tardía	Kisvárdai, LGR27	9 []

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

Caracteres	Ejemplos	Note
5.4 Flor ligulada: color (17)		
blanco amarillento	RHA381	1 []
amarillo claro	F7AW1MOA	2 []
amarillo medio	RT7710	3 []
amarillo anaranjado	U0881BG	4 []
naranja	OB724, P211R	5 []
púrpura		6 []
marrón rojizo		7 []
5.5 Flósculo: producción de polen (22)		
ausente	F7AW1MOA, HA89	1 []
presente	IR79DMR, RHA274	9 []
5.6 <u>Sólo variedades endógamas:</u> Planta: altura natural (27)		
muy baja	FR810RM1	1 []
muy baja a baja		2 []
baja	OB724	3 []
baja a media		4 []
media	U0881BG	5 []
media a alta		6 []
alta	R6ST2MI	7 []
alta a muy alta		8 []
muy alta	31G03	9 []
5.7 <u>Sólo híbridos y variedades de polinización libre:</u> Planta: altura natural (28)		
muy baja	Antonil	1 []
muy baja a baja		2 []
baja	GK Milia	3 []
baja a media		4 []
media	Sumiko	5 []
media a alta		6 []
alta	Marley	7 []
alta a muy alta		8 []
muy alta	Kisvárdai	9 []

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

Caracteres	Ejemplos	Note
5.8 Planta: ramificación (29)		
ausente	HA89, OB724	1 []
presente	RHA274, T0954LM	9 []
5.9 Semilla: color (39)		
blanco	Labud	1 []
púrpura		2 []
marrón claro	IR79DMR	3 []
marrón medio	H11050R	4 []
marrón oscuro	B0644LM	5 []
gris claro	RW666IMI	6 []
gris medio	RT9513	7 []
gris oscuro		8 []
negro	HA89, T0954LM	9 []
5.10 Semilla: rayas en el borde (40)		
ausentes o muy débiles	T0954LM	1 []
débiles	OB724	2 []
fuertes	HA89, U0881BG	3 []
5.11 Semilla: rayas entre los bordes (41)		
ausentes o muy débiles	T0954LM	1 []
débiles	LGR27	2 []
fuertes	HA89, U0881BG	3 []

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

6. Variedades similares y diferencias con respecto a esas variedades

Sírvase utilizar la tabla y el recuadro de comentarios siguientes para suministrar información acerca de la diferencia entre su variedad candidata y la variedad o variedades que, a su leal saber y entender, es o son más similares. Esta información puede ser útil para que las autoridades encargadas del examen realicen el examen de la distinción.

Denominación de la variedad o variedades similares a su variedad candidata	Caracteres respecto de los que su variedad candidata difiere de las variedades similares	Describa la expresión de los caracteres de las variedades similares	Describa la expresión de los caracteres de su variedad candidata
<i>Ejemplo</i>	<i>Época de inicio de la floración</i>	<i>temprana</i>	<i>tardía</i>
Comentarios:			

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

#7.	Información complementaria que pueda facilitar el examen de la variedad		
7.1	Además de la información suministrada en los Capítulos 5 y 6, ¿existen caracteres adicionales que puedan contribuir a distinguir la variedad?		
	Si	[]	No []
	(En caso afirmativo, sírvase especificar)		
7.2	¿Existen condiciones especiales de cultivo de la variedad o de realización del examen?		
	Si	[]	No []
	(En caso afirmativo, sírvase especificar)		
7.3	Otra información		
	1) Utilización		
	a)	aceite y torta	[]
	b)	pájaros	[]
	c)	consumo humano directo (tipo de cascarilla)	[]
	d)	consumo humano directo (confitería)	[]
	e)	otro uso (especifique)	[]
	2) Resistencia a plagas y enfermedades		
	a)	Mildíu vellosa (especifique las razas)	[]
	b)	Jopo del girasol (especifique las razas)	[]
	c)	Otras pestes o enfermedades (especifique)	[]
	3) Contenido de ácido oleico		
	a)	bajo	[]
	b)	medio	[]
	c)	alto	[]
	4) Tolerancia a los herbicidas		
	a)	sí (especifique)	[]
	b)	no	[]

CUESTINARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
---------------------	-------------------	-----------------------

8. Autorización para la diseminación a) ¿Se exige una autorización previa para poder diseminar la variedad en virtud de la legislación relativa a la protección del medio ambiente y la salud humana y animal? Si ☐ No ☐ b) Se ha obtenido dicha autorización? Si ☐ No ☐ Si la segunda respuesta es afirmativa, sírvase presentar una copia de la autorización.																			
9. Información sobre el material vegetal que deberá ser examinado o presentado para ser examinado. 9.1 La expresión de un carácter o de varios caracteres de una variedad puede verse afectada por factores tales como las plagas y enfermedades, los tratamientos químicos (por ejemplo, retardadores del crecimiento, pesticidas), efectos del cultivo de tejidos, distintos portainjertos y patrones tomados en distintos estados de desarrollo de un árbol, etcétera. 9.2 El material vegetal deberá estar exento de todo tratamiento que afecte la expresión de los caracteres de la variedad, salvo autorización en contra o solicitud expresa de las autoridades competentes. Si el material vegetal ha sido tratado, se deberá indicar en detalle el tratamiento aplicado. Por consiguiente, sírvase indicar a continuación si, a su leal saber y entender, el material vegetal que será examinado ha estado expuesto a: <table border="0"><tr><td>a)</td><td>Microorganismos (por ejemplo, virus, bacterias, fitoplasma)</td><td>Si ☐</td><td>No ☐</td></tr><tr><td>b)</td><td>Tratamiento químico (por ejemplo, retardadores del crecimiento, pesticidas)</td><td>Si ☐</td><td>No ☐</td></tr><tr><td>c)</td><td>Cultivo de tejido</td><td>Si ☐</td><td>No ☐</td></tr><tr><td>d)</td><td>Otros factores</td><td>Si ☐</td><td>No ☐</td></tr></table> Si ha contestado afirmativamente a alguna de las preguntas sírvase suministrar detalles. 				a)	Microorganismos (por ejemplo, virus, bacterias, fitoplasma)	Si ☐	No ☐	b)	Tratamiento químico (por ejemplo, retardadores del crecimiento, pesticidas)	Si ☐	No ☐	c)	Cultivo de tejido	Si ☐	No ☐	d)	Otros factores	Si ☐	No ☐
a)	Microorganismos (por ejemplo, virus, bacterias, fitoplasma)	Si ☐	No ☐																
b)	Tratamiento químico (por ejemplo, retardadores del crecimiento, pesticidas)	Si ☐	No ☐																
c)	Cultivo de tejido	Si ☐	No ☐																
d)	Otros factores	Si ☐	No ☐																
10. Por la presente declaro que, a mi leal saber y entender, la información proporcionada en este formulario es correcta: <table border="0"><tr><td>Nombre del solicitante</td><td colspan="3"> </td></tr><tr><td>Firma</td><td> </td><td>Fecha</td><td> </td></tr></table>				Nombre del solicitante				Firma		Fecha									
Nombre del solicitante																			
Firma		Fecha																	

[Sigue el Anexo]

ANEXO

Explicaciones útiles adicionales

	<u>ÍNDICE</u>	<u>PÁGINA</u>
Parte I.	Introducción	2
Parte II.	Caracteres obtenidos mediante electroforesis	3
Parte III.	Descripción del método a emplear	5

Parte I

Introducción

El Anexo siguiente contiene una lista de caracteres obtenidos mediante electroforesis y una descripción del método que debe emplearse. La UPOV ha decidido publicar esos caracteres en un anexo de las Directrices de Examen, creando con ello una categoría especial de caracteres, habida cuenta de que la mayoría de los Estados miembros de la UPOV opinan que es imposible establecer la distinción solamente sobre la base de la diferencia encontrada en un carácter mediante electroforesis. Por consiguiente, se deberán emplear esos caracteres solamente como complemento de otras diferencias comprobadas para caracteres morfológicos o fisiológicos. La UPOV confirma que se consideran esos caracteres útiles pero que, aisladamente, no pueden ser suficientes para establecer la distinción. No se los debe emplear como caracteres de rutina, sino a petición, o con el acuerdo del solicitante de la variedad objeto de la solicitud.

Parte II

Caracteres obtenidos mediante electroforesis

Nr.	Carácter	Niveles de expresión	Variedades ejemplo	Nota
42	Expresión alélica del locus Me1	Genotipo 2/2	IB1088DMR	1
		Genotipo 4/4	SF9074MA	2
		Genotipo 2/4	Sumiko	3
43	Expresión alélica del locus Pgd1	Genotipo 2/2	IB1088DMR	1
		Genotipo 4/4	SF9074MA	2
		Genotipo 2/4	Sumiko	3
44	Expresión alélica del locus Pgi2	Genotipo 2/2	IB1088DMR	1
		Genotipo 4/4	SF9074MA	2
		Genotipo 2/4	GK Petrus CLP	3
45	Expresión alélica del locus Shdh 1	Genotipo 2/2	IB1088DMR	1
		Genotipo 4/4		2
		Genotipo 2/4	Marley	3
46	Expresión alélica del locus Pgm4	Genotipo 2/2		1
		Genotipo 4/4	IB1088DMR	2
		Genotipo 2/4	GK Petrus CLP	3

Parte III

Descripción del método a emplear

Descripción del método para el análisis de isoenzimas en geles de almidón de *Helianthus annuus* L.

1. Número de semillas por ensayo:

- Para revisar la fórmula:
10 plántulas para cada una de las líneas endógamas
4 plántulas para los híbridos simples
10 plántulas para los híbridos 3 vías.
- Para los test de distinguibilidad, uniformidad y estabilidad:
Al menos 40 semillas para líneas endógamas, híbridos y variedades de polinización libre.

2. Aparatos y equipo

Se puede utilizar cualquier sistema de electroforesis que mantenga los geles a 4° C. Se recomienda un grosor del gel de 10 mm. La fuente de alimentación utilizada deberá ser capaz de proporcionar un voltaje constante.

3. Productos químicos

Todos los productos químicos deben ser de calidad “reactivo analítico” o mejores.

3.1 Productos químicos para la extracción de las enzimas

Tris (hidroximetil) aminometano (Tris)
Acido clorhídrico
β-Mercaptoetanol

3.2 Productos químicos para la electroforesis

Azul de bromofenol
Acido cítrico monohidrato
L-Histidina
Almidón hidrolizado, para electroforesis (Sigma S-45010 ó similar)

3.3 Reactivos para las tinciones de las enzimas

Etanol del 95%
Acido etilendiaminotetraacético, sal disódica-2-hidrato (EDTA Na₂)
D-Fructosa 6-fosfato, sal disódica
α-D-Glucosa 1-fosfato, sal disódica monohidrato
Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (Sigma G-5885)
Acido clorhídrico
Cloruro de magnesio seis hidrato (Mg Cl₂.6H₂O)
Acido DL-málico, sal monosódica
Dimetiltiazol difenil tetrazolio (MTT)
β-Nicotinamida-adenina-dinucleótico fosfato (NADP)
Cloruro de azul Nitrotetrazolio (NBT)
Acido 6-fosfogluconico, sal trisódica hidratada
Fenazina metilsulfato
Acido sikimico
Hidróxido sódico (NaOH)
Tris-(hidroximetil)-aminometano (Tris)

4. Soluciones

4.1 Solución de extracción

Tris HCl 0,1 M (pH 7.2) + 2-mercaptoetanol al 0,2% (v/v)

4.2 Tampones de electroforesis

4.2.1 Tampones para electroforesis en geles de almidón pH 6.5

4.2.1.1 Solución stock: L-histidina-citrato 0,364 M

50,44 g de L-histidina
8,34 g. de ácido cítrico monohidrato
enrasar a 1 l con agua desionizada

4.2.1.2 Tampón de migración: L-histidina-citrato 0,072 M, pH 6,5 (Dilución de la solución stock 1 en 5)

400 ml de solución stock (4.2.1.1)
enrasar a 2 l con agua desionizada

4.2.1.3 Tampón del gel: L-histidina-citrato 0,024 M, (Dilución de la solución stock 1 en 15)

80 ml de solución stock (4.2.1.1.)
enrasar a 1.200 ml con agua desionizada

4.2.2 Tampones para electroforesis en geles de almidón pH 5.7

4.2.2.1 Tampón de migración: L-histidina-citrato 0,067 M. pH 5.7

20,18 g de L-histidina
8,34 g. de ácido cítrico monohidrato
enrasar a 2 l con agua desionizada

4.2.2.2 Tampón gel: L-histidina-citrato 0,011 M (tampón de migración diluido 1 en 6)

100 ml de tampón de migración (4.2.2.1.)
enrasado a 1.200 ml con agua desionizada

4.2.2.3 Solución de azul de bromofenol

50 mg de azul de bromofenol disuelto en 100 ml. de agua desionizada.

4.3 Soluciones de tinción

4.3.1 Soluciones stock

4.3.1.1 Tris-HCl 1 M pH 7,5

121,1 g de Tris, enrasar a 1 l. con agua desionizada y ajustar a pH 7.5 con HCl al 50%.

4.3.1.2 Tris-HCl 1 M pH 8.5

121,1 g de Tris, enrasar a 1 l. con agua destilada y ajustar a pH 8.5 con HCl al 50%.

4.3.1.3 Solución de MTT

1 g de MTT, enrasar a 100 ml. con agua desionizada.

4.3.1.4 Solución de NBT

1 g de NBT, enrasar a 100 ml. con agua desionizada

4.3.1.5 Solución de PMS

200 mg de PMS, enrasar a 100 ml. con agua desionizada

4.3.1.6 Solución de $MgCl_2$

10 g de Cloruro de magnesio hexahidratado, enrasar a 100 ml. con agua desionizada.

4.3.1.7 Solución de malato sódico

2,5 g de ácido DL-málico, enrasar a 50 ml. con agua desionizada y ajustar a pH 8.0 con NaOH 1 M.

4.3.2 Soluciones de tñido

4.3.2.1 Solución de tñido de ME

100 ml de Tris-HCl 0,1 M, pH 7.5 (4.3.1.1. diluido 1 en 10)
4 ml de solución de malato sódico (4.3.1.7.)
1 ml de solución de NBT (4.3.1.4.)
1 ml de solución de PMS (4.3.1.5.)
1.8 ml de solución de $MgCl_2$ (4.3.1.6.)
17,5 mg de NADP

4.3.2.2 Solución de tñido de PGD+ PGI

100 ml de Tris-HCl 0,1 M, pH 7.5 (4.3.1.1. diluido 1 en 10)
100 mg de D-fructosa 6-fosfato, sal disódica
60 mg de ácido 6-fosfogluconico, sal trisódica
10 mg de NADP
1 ml. de (la) solución de MTT (4.3.1.3.)
1,5 ml de (la) solución de PMS (4.3.1.5.)
1 ml de (la) solución de $MgCl_2$ (4.3.1.6.)
40 unidades de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Sigma G-5885)

Para tñir PGI solamente, no añadir el ácido 6-fosfogluconico.

Para tñir PGD solamente, no incluir ni fructosa 6-fosfato, ni glucosa 6-fosfato deshidrogenasa.

4.3.2.3 Solución de tñido de ShDh

100 ml de Tris-HCl 0,2 M, pH 8.5 (4.3.1.2. diluido 1 en 5)
50 mg de ácido sikímico
1 ml de solución de MTT (4.3.1.3.)
1,25 ml de solución de PMS (4.3.1.5.)
12 mg de NADP

4.3.2.4 Solución de tñción de PGM

100 ml de Tris-HCl 0,1 M, pH 8.5 (4.3.1.2. diluido 1 en 10)
150 mg de α -D- glucosa 1-fosfato, sal disódica monohidrato
150 mg de EDTA, Na_2
10 mg de NADP
1,5 ml de solución de MTT (4.3.1.3.)
1 ml de solución de PMS (4.3.1.5.)
4 ml de solución de $MgCl_2$ (4.3.1.6.)
40 unidades de Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa

5. Procedimiento

5.1 Extracción de las enzimas

Se ponen a germinar las semillas en papel humedecido, durante 2 a 3 días, a 25°C en la oscuridad. Se separan las cubiertas de las semillas y se trituran los cotiledones, a 4°C en microtubos de 1,5 ml con 300 µl de tampón de extracción (4.1.)

Los extractos se pueden mantener congelados a -30°C ó a -80°C.

5.2 Preparación del gel

Los geles se preparan el día anterior a aquel en que se va a realizar la emigración. Para fabricar 2 geles de almidón al 12,5 % (con unas dimensiones de 18x18x1 cm.): se mezclarán 128 g de almidón con 1.020 ml. de tampón gel (4.2.1.3. ó 4.2.2.2.) en un kitasato y calentar hasta alcanzar los 78°C. La mezcla se desgasifica con una bomba de vacío durante 30 segundos. Se vierte el gel en el molde tal y como describa el manual del equipo utilizado. Se debe evitar que queden burbujas en el gel. Los geles se mantienen durante 45 minutos a temperatura ambiente, para que se enfríen y después 1 hora en un refrigerador. Pasado ese tiempo se cubren con una lámina de polietileno y se dejan toda la noche a temperatura ambiente, volviendo a enfriarlos a 4°C 1 hora antes de la migración.

5.3 Electroforesis

5.3.1 Se llena cada cubeta de electrodo con el volumen necesario de tampón de migración (4.2.1.2. ó 4.2.2.1.) enfriado previamente a 4°C. Se retira la lámina de polietileno y se hacen dos cortes transversales en el gel, a 3 y 4 cm del borde del molde (zona del cátodo).

Se quita esta lámina de gel y se colocan los extractos como sigue:

- Se descongelan los extractos (5.1.) y se absorben en mechas de papel de filtro (Whatman nº 3, de 1,5 mm. X 20 mm.)
- Se insertan estas mechas así embebidas en el gel, apretándolas bien contra el primer corte.
- Se coloca una mecha embebida en solución de azul de bromofenol (4.2.2.3.) en cada uno de los extremos del gel (como marcador de la migración).
- Se vuelve a colocar en su sitio la lámina de gel y se cubre éste con una lámina de polietileno.

Los dos geles, con los extractos en la zona catódica, se colocan en dos cubetas de tampón electrodo, en un lugar refrigerado a 4°C.

La electroforesis tiene lugar a 4°C, hacia el ánodo. A los 15' de migración al primer voltaje, se quitan las mechas de papel y se aumenta el voltaje. Durante cada fase se debe mantener el voltaje constante.

Las condiciones electroforéticas serán las siguientes:

Sistemas de tampón	Voltaje constante	Distancia recorrida por el azul de bromofenol	Duración de la migración
Histidina-citrato pH 5.7	260 V durante 15 minutos. Después 290 V	13 cm	5 h
Histidina-citrato pH 6.5	240 V durante 15 minutos. Después 280 V	11 cm	5 h

Las isoenzimas ME, PGD y PGI, se estudian en los geles realizados a pH 5.7, y las enzimas PGM y ShDh en los geles de pH 6.5.

5.4 Tenido enzimático

Después de apagar la corriente eléctrica, el gel se corta horizontalmente en capas de 1 mm. de grosor con un alambre de acero o un hilo de pescar. La capa superior no se utiliza. Cada una de las capas restantes se tiñen con la siguiente solución de tinción, dejándolas incubando en oscuridad a 37°C:

- Para ME: Solución 4.3.2.1. Tiempo de incubación 15 h.
- Para PGD y PGI: Solución 4.3.2.2. Tiempo de incubación 1 h.
- Para ShDH: Solución 4.3.2.3. Tiempo de incubación 1 h
- Para PGM: Solución 4.3.2.4. Tiempo de incubación ½ h.

Después del teñido las capas se lavan con agua desionizada y se fijan en una solución de etanol al 40%. Si se quieren conservar las capas durante largo tiempo, se puede emplear uno de los procedimientos siguientes: colocar la loncha en una solución al 5% de glicerol y secarla después de un rato entre dos láminas de celofan mojadas en la misma solución de glicerol, o conservar la capa en bolsas de polietileno cerradas.

6. Reconocimiento de alelos que codifican isoenzimas

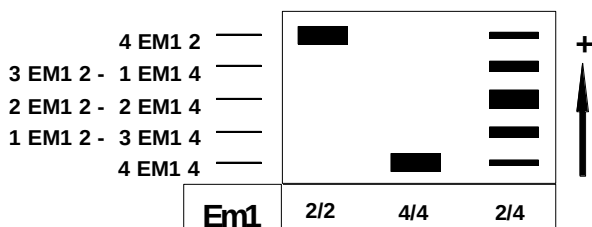
6.1 Reconocimiento de alelos que codifican ME

6.1.1 Interpretación genética de los zimogramas

Enzima	Estructura cuaternaria	Locus	Alelos
Enzima málico (ME)	Tetramérica	Me1	2 4

6.1.2 Esquematización de los zimogramas

Bandas



6.2 Reconocimiento de alelos que codifican PGD

6.2.1 Interpretación genética de los zimogramas

Enzima	Estructura cuaternaria	Locus	Alelos
6-Fosfogluconato deshidrogenasa (PGD)	Dimérica	Pgd1	2 4

6.2.2 Esquematización de los zimogramas

Bandas



Se pueden observar dos zonas de migración; sólo las bandas de más lenta migración son polimórficas.

6.3 Reconocimiento de alelos que codifican PGI

6.3.1 Interpretación genética de los zimogramas

Enzima	Estructura cuaternaria	Locus	Alelos
Fosfoglucoisomerasa (PGI)	Dimérica	Pgi2	2 4

6.3.2 Esquematización de los zimogramas

Bandas



Se pueden observar dos zonas de migración, sólo se consideran las bandas de migración más lenta.

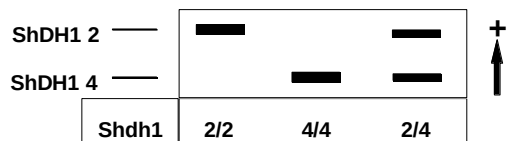
6.4 Reconocimiento de alelos que codifican ShDH

6.4.1 Interpretación genética de los zimogramas

Enzima	Estructura cuaternaria	Locus	Alelos
Sikimato deshidrogenasa	Monomérica	Shdh1	2 4

6.4.2 Esquematización de los zimogramas

Bandas



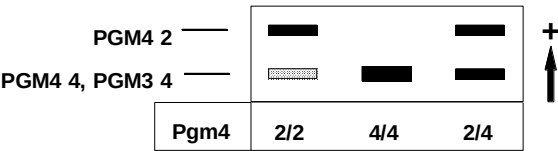
6.5 Reconocimiento de los alelos que codifican PGM

6.5.1 Interpretación genética de los zimogramas

Enzima	Estructura cuaternaria	Locus	Alelos
Fosfoglucomutasa	Monomérica	Pgm4	2 4

6.5.2 Esquematización de los zimogramas

Bandas



Pueden observarse varias zonas de migración, sólo la zona más rápida es polimórfica.

Existe otro gen que no ha sido considerado. Este ha sido designado como Pgm3, codificando un enzima que coemigra con PGM4 4.

Por eso los genotipos Pgm4 2/2 y Pgm4 2/4, presentan un zimograma de dos bandas. Estos dos genotipos difieren únicamente en la intensidad relativa de sus bandas.

[Fin del documento]