

MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE ALIMENTARI E FORESTALI

DECRETO 13 gennaio 2017

Criteri e procedure tecniche per l'iscrizione al registro nazionale di varietà di soia. (17A01645)

(GU n.50 del 1-3-2017)

IL DIRETTORE GENERALE
dello sviluppo rurale

Vista la legge 25 novembre 1971, n. 1096 e successive modifiche e integrazioni, che disciplina l'attività sementiera ed in particolare gli articoli 19 e 24 che prevedono l'istituzione obbligatoria, per ciascuna specie di coltura, dei registri di varietà aventi lo scopo di permettere l'identificazione delle varietà stesse;

Visto il decreto del Presidente della Repubblica 24 novembre 1972, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana n. 44 del 17 febbraio 1973, relativo all'istituzione dei «Registri obbligatori delle varietà»;

Vista la legge 22 dicembre 1981, n. 744, relativa alle norme in materia di versamento dei compensi dovuti dai costitutori di varietà vegetali;

Visto il decreto ministeriale 14 gennaio 2004, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 27 del 3 febbraio 2004, relativo ai caratteri e condizioni minime da osservarsi ai fini della iscrizione delle varietà nel registro nazionale, in attuazione delle direttive 2003/90/CE e 2003/91/CE della Commissione europea del 6 ottobre 2003;

Visto il decreto ministeriale 26 maggio 2015, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 133 dell'11 giugno 2015, relativo alle modalità operative inerenti la procedura informatica per l'iscrizione di varietà vegetali nei registri nazionali di specie agrarie ed ortive e per la richiesta di autorizzazione alla commercializzazione di sementi di varietà in corso di iscrizione;

Visto il decreto ministeriale 17 marzo 2016, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 117 del 20 maggio 2016, relativo ai caratteri e condizioni da osservarsi ai fini della iscrizione delle varietà nel registro nazionale, in attuazione della direttiva 2015/1168/UE della Commissione, del 15 luglio 2015 che modifica le sopraccitate delle direttive 2003/90/CE e 2003/91/CE;

Visto il decreto legislativo 30 luglio 1999, n. 300, recante «Riforma dell'organizzazione del Governo, a norma dell'art. 11 della legge 15 marzo 1997, n. 59»;

Visto il decreto legislativo 30 marzo 2001, n. 165, relativo alle «Norme generali sull'ordinamento del lavoro alle dipendenze delle amministrazioni pubbliche», in particolare l'art. 4, commi 1 e 2 e l'art. 16, comma 1;

Visto il decreto della Presidenza del Consiglio dei ministri del 27 febbraio 2013, n. 105, concernente il Regolamento di organizzazione del Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali;

Visto il decreto del Ministro delle politiche agricole alimentari e forestali del 13 febbraio 2014, registrato alla Corte dei conti, recante individuazione degli Uffici dirigenziali di livello non generale;

Ritenuto di procedere alla definizione delle procedure tecniche per

l'iscrizione al registro nazionale delle varietà di soia;

Decreta:

Art. 1

Sono approvati i nuovi criteri e procedure tecniche per l'iscrizione al registro nazionale di varietà di soia e, pertanto, la procedura di iscrizione ai registri nazionali, di cui all'art. 19 della legge 25 novembre 1971, n. 1096, delle varietà di soia e' soggetta ai criteri di cui all'allegato che fa parte integrante del presente decreto.

Art. 2

Le modalità per la presentazione delle domande di iscrizione al registro nazionale delle varietà di soia di cui al decreto ministeriale 26 maggio 2015 sono modificate secondo quanto previsto nell'allegato del presente decreto.

Art. 3

Le tariffe di cui alla legge 22 dicembre 1981, n. 744, stabilite con decreto ministeriale 26 maggio 2015, relativamente alle varietà di soia, sono sostituite da quelle previste nell'allegato al presente decreto.

Il presente decreto sarà inviato all'organo di controllo ed entrerà in vigore il giorno successivo a quello della sua pubblicazione nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana.

Roma, 13 gennaio 2017

Il direttore generale: Gatto

Registrato alla Corte dei conti il 10 febbraio 2017
Ufficio controllo atti MISE e MIPAAF, reg.ne prev. n. 120

*Criteria e procedure tecniche per
l'iscrizione al Registro Nazionale di
varietà di*

SOIA

Glycine max (L.) Merrill



CRITERI E PROCEDURE TECNICHE PER L'ISCRIZIONE AL REGISTRO NAZIONALE DI VARIETÀ DI **SOIA**

PREMESSA

Il lavoro di definizione dei criteri e delle procedure tecniche per l'iscrizione di varietà di soia destinate alla produzione agricola, ai sensi della direttiva 2002/57/CE, e di varietà di soia destinate al consumo alimentare fresco compresa la tipologia "edamame" è stato predisposto in collaborazione tra: ministero delle politiche agricole alimentari e forestali, CREA-SCS, CREA-CIN ed ERSA-FVG.

1. PARTE GENERALE

1.1 Gestione delle prove

Il Centro di coordinamento, nominato dal MiPAAF, avvalendosi di un gruppo tecnico costituito dai rappresentanti delle Istituzioni che effettuano le prove, avrà il compito di:

- esaminare la documentazione tecnica fornita dal costituente,
- proporre le località e le varietà testimoni per la prova descrittiva e agronomica,
- predisporre l'elaborazione finale dei risultati delle prove.

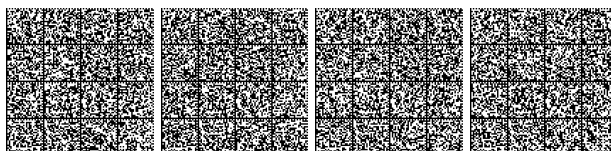
Le funzioni del Centro di coordinamento consistono in:

- ricevimento dei campioni di seme,
- reperimento dei campioni di seme di varietà di riferimento,
- preparazione degli schemi sperimentali, preparazione delle schede di raccolta dei dati,
- preparazione dei campioni di seme per tutti gli organismi coinvolti nella realizzazione dell'attività sperimentale,
- effettuazione di sopralluoghi alle prove di campo,
- elaborazione statistica dei risultati ottenuti,
- preparazione ed invio dei fascicoli al MiPAAF,
- preparazione ed invio dei fascicoli ai costitutori.

Il Centro di coordinamento potrà consultare rappresentanti dei costitutori e delle ditte sementiere.

1.2 Questionario tecnico

Per una corretta impostazione delle prove, il Centro di coordinamento si avvale del questionario tecnico (*Allegato n. 1*) che è compilato on-line dal costituente al momento della presentazione domanda di iscrizione al registro. Il questionario tecnico deve indicare per la varietà candidata: modalità di *breeding*, di mantenimento e di riproduzione, origine genetica e modalità di selezione, la descrizione morfologica con gli specifici caratteri varietali, le informazioni sulla destinazione



d'uso, oltre ad informazioni complementari, se disponibili, per l'individuazione dei caratteri distintivi dalle varietà note più simili.

1.3 Modalità e tempi per la presentazione della domanda

La domanda per l'iscrizione della nuova varietà, in base a quanto previsto dal decreto ministeriale 26 maggio 2015 pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale n° 133 dell'11 giugno 2015, deve essere compilata on-line entro il:

15 gennaio

1.4 Materiale da inviare al Centro di coordinamento

Il richiedente deve inviare al Centro di coordinamento, entro il:

28 febbraio

- a) **per la nuova varietà destinata alla produzione agricola**, ai sensi della direttiva 2002/57/CE:
- al primo anno: un campione di 9 kg di seme
 - al secondo anno: un campione di 9 kg di seme;
- b) **per la nuova varietà destinata al consumo alimentare fresco**, compresa la tipologia "edamame":
- al primo anno: un campione di 2 kg di seme
 - al secondo anno: un campione di 2 kg di seme.

Ciascun campione inviato deve riportare il peso di 1.000 semi e la germinabilità.

Per la soia le caratteristiche di germinabilità, purezza specifica e sanità del seme devono permettere un'ideale realizzazione delle prove.

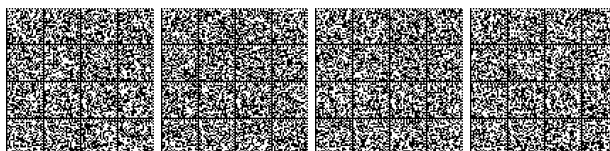
Le sementi non devono essere trattate con antiparassitari.

Eccezionalmente, nel caso di seme trattato, il costituente deve indicare: prodotto commerciale impiegato, principio attivo, dosaggio, modalità d'impiego e allegare la scheda di sicurezza del formulato.

Il materiale viene inviato al fine della valutazione della purezza della nuova varietà senza pregiudizio della sua possibile protezione.

1.5 Numero delle località interessate alla realizzazione delle prove

La prova descrittiva viene realizzata in una località/anno avente condizioni pedo-climatiche idonee allo sviluppo della specie.



La prova agronomica viene realizzata almeno in quattro località/anno, in diversi ambienti vocati. Nel caso di varietà a destinazione d'uso da consumo alimentare fresco compresa la tipologia "edamame", viene condotta la sola prova descrittiva.

1.6 Accertamenti speciali

Su richiesta esplicita del costituente possono essere effettuati accertamenti speciali o analisi aggiuntive purché ritenuti ripetibili e significativi dal Centro di coordinamento d'intesa con il MiPAAF.

Nell'ambito della procedura on-line per la presentazione della domanda, il richiedente può fornire adeguata documentazione tecnica contenente tutte le informazioni necessarie all'individuazione dei protocolli opportuni di rilevamento e validazione del carattere.

1.7 Durata delle prove

Le prove descrittive, agronomiche e gli eventuali accertamenti speciali richiesti dal costituente vengono effettuate, di norma, in due cicli indipendenti di semina.

2. DISPOSIZIONI COMUNI RELATIVE ALLE VARIETÀ DI SOIA DESTINATE ALLA PRODUZIONE AGRICOLA AI SENSI DELLA DIRETTIVA 2002/57/CE E ALLE VARIETÀ DI SOIA DESTINATE AL CONSUMO ALIMENTARE FRESCO COMPRESA LA TIPOLOGIA "EDAMAME"

2.1 PROVA DESCRITTIVA

Scopo della prova descrittiva è l'identificazione della nuova varietà e l'accertamento dei requisiti di distinguibilità, omogeneità e stabilità.

Detta prova è effettuata sulla nuova costituzione.

La prova comprende allevamento parcellare in campo per il rilievo dei caratteri morfo-fisiologici e una caratterizzazione molecolare mediante l'utilizzo di microsatelliti. La caratterizzazione molecolare è complementare a quella morfo-fisiologica accertata in campo (*Allegato 5*).

2.1.1 Condizioni della prova

La prova deve includere almeno 300 piante divise in almeno due repliche. I caratteri che prevedono la valutazione della distinguibilità e dell'omogeneità su piante singole devono essere effettuate su almeno 20 piante (o parte di esse).

2.1.2 Collezione di riferimento e scelta dei testimoni varietali

Il Centro di coordinamento deve disporre di una collezione di riferimento allo scopo di valutare la distinguibilità della varietà in prova rispetto a quelle note.



La collezione deve essere costituita da:

- materiale vegetale di propagazione;
- schede descrittive;
- documentazione fotografica della varietà negli stadi più significativi dello sviluppo;
- ogni altra utile informazione.

La collezione deve comprendere:

- varietà iscritte o protette a livello comunitario;
- varietà protette negli stati aderenti all'UPOV;
- altre varietà di comune conoscenza.

Nell'ambito della collezione di riferimento devono essere identificati i testimoni da utilizzare per l'accertamento della distinguibilità.

I testimoni varietali saranno periodicamente aggiornati dal Centro di coordinamento in funzione dei progressi del breeding e dell'evoluzione delle tipologie varietali.

2.1.3 Raggruppamento delle varietà

Tabella 1

<i>Specie</i>	Caratteri	
	<i>Numero UPOV-NAZIONALE</i>	<i>Descrizione</i>
<i>SOIA</i>	5	<i>Pianta: colorazione della peluria dello stelo principale</i>
	11	<i>Fiore: colore</i>
	17	<i>Seme: colore dell'ilo</i>
	20	<i>Pianta: epoca di maturazione</i>

2.1.4 Valutazione della distinguibilità

Una nuova varietà è considerata distinta se si differenzia chiaramente per uno o più caratteri morfologici da tutte le altre varietà di cui è nota l'esistenza al momento della domanda di iscrizione.

I caratteri che devono essere rilevati ai fini della valutazione della distinguibilità della varietà candidata sono quelli riportati nella scheda descrittiva (*Allegato 2*), fatti salvi eventuali caratteri speciali indicati dal richiedente ai fini della distinguibilità.



Sia nel caso di caratteri qualitativi sia nel caso di caratteri quantitativi, due varietà sono considerate distinte quando uno o più caratteri hanno differente stato di espressione.

2.1.5 Valutazione dell'omogeneità

L'omogeneità è valutata mediante l'osservazione e l'individuazione di piante fuori tipo.

Per valutare l'omogeneità di una varietà si utilizza la tabella sottostante (*Tabella 2*), nella quale è indicato il numero di fuori-tipo oltre il quale l'omogeneità non è giudicata conforme. La popolazione standard nel caso di varietà è del 0,5% ($\alpha \leq 0,05$).

Tabella 2

Numero di piante per parcella	Varietà
	Giudizio negativo se il totale dei fuori-tipo è superiore a: Pop. St. 0.5% prob $\geq 95\%$
11-71	1
72-164	2
165-274	3
275-395	4
396-523	5

2.1.6 Valutazione della stabilità

Una varietà è stabile se essa resta conforme alla definizione dei suoi caratteri essenziali a seguito di riproduzioni o moltiplicazioni successive ovvero alla fine di ogni ciclo qualora il suo costituente abbia definito un particolare ciclo di riproduzione o moltiplicazione.

Il requisito di stabilità è dato per acquisito laddove è accertato il requisito di omogeneità e distinguibilità.

2.1.7 Scheda descrittiva

Nell'*Allegato 2* viene riportata la scheda descrittiva dei caratteri da rilevare per le nuove varietà.

La scheda fa riferimento alle linee guida dell'UPOV TG/80/6 del 01-04-1998.

3. DISPOSIZIONI RELATIVE ALLE VARIETÀ DI SOIA DESTINATE ALLA PRODUZIONE AGRICOLA AI SENSI DELLA DIRETTIVA 2002/57/CE

3.1 PROVA AGRONOMICA

Scopo della prova agronomica è quello di valutare per ciascuna varietà le caratteristiche agronomiche, resistenza agli stress biotici e abiotici, le potenzialità produttive e l'adattabilità agli



areali di coltivazione, nonché, su indicazione del costituente, particolari attitudini della varietà.

Le prove agronomiche si riferiscono alle seguenti destinazioni d'uso:

- a) da granella (*Allegato 3.1*);
- b) da latte (*Allegato 3.2*);
- c) a basso contenuto di fattori antinutrizionali (*Allegato 3.3*)

3.1.1 Testimoni varietali: criteri di scelta

La varietà in iscrizione dovrà essere confrontata con varietà di riferimento scelte tra le varietà più diffuse e rappresentative negli ambienti di coltivazione italiani. Il confronto dovrà seguire il principio di specificità del testimone avvalendosi delle informazioni fornite dal costituente nel questionario tecnico. Tale specificità dovrà tenere conto della tipologia di utilizzazione, delle caratteristiche qualitative e merceologiche, della classe di precocità e di altri caratteri agronomici rilevanti ai fini dell'espressione della potenzialità produttiva e del tipo di utilizzazione, nonché di caratteristiche specifiche segnalate dal costituente e ritenute di significativo interesse.

I testimoni varietali saranno periodicamente aggiornati dal Centro di coordinamento, sentiti i rappresentanti dei costituenti, in funzione dei progressi della selezione e dell'evoluzione delle tipologie varietali.

3.1.2 Località: criteri di scelta

Le località di prova dovranno essere scelte nell'ambito degli areali pedoclimatici vocati.

3.1.3 Modalità di realizzazione della prova

Le modalità di realizzazione della prova sono riportate negli *Allegati n. 3.1, 3.2 e 3.3*.

In ogni località di prova dovrà essere adottata la tecnica di ordinaria coltivazione della specie in uso nell'area.

3.1.4 Valutazione dei risultati

I criteri per la valutazione del valore agronomico e di utilizzazione sono riportati negli *Allegati n. 3.1, 3.2 e 3.3*.

3.2 ISCRIZIONE CON UN ANNO SOTTO SORVEGLIANZA UFFICIALE

Al fine di abbreviare i tempi per iscrivere una varietà al registro, il costituente ha facoltà di chiedere l'iscrizione sottoponendo la varietà ad un anno di prove ufficiali ed effettuando direttamente un primo anno sotto sorveglianza ufficiale.

In questo caso e fin dal primo anno di prova, il costituente dovrà:

- compilare on-line la domanda di iscrizione entro le date e secondo le modalità previste al punto 1.3;
- indicare che intende avvalersi della possibilità fornita dal presente paragrafo;



- comunicare l'ubicazione delle prove descrittive e agronomiche e segnalare il laboratorio in cui verranno effettuate le eventuali analisi.

Il costituente, inoltre, dovrà comunicare al Centro di coordinamento il nominativo del referente delle prove.

Le prove condotte dal costituente dovranno essere eseguite in conformità ai protocolli d'esame previsti dal presente documento. In particolare dovranno essere rispettati i testimoni utilizzati nelle prove ufficiali, il numero e la distribuzione delle località. Il costituente dovrà, altresì, inviare entro le date stabilite nel punto 1.4 al Centro di coordinamento un campione di 1.000 semi germinabili per ciascuna varietà.

Il Centro di coordinamento provvederà ad ispezionare le prove in corso di realizzazione a cura del costituente.

Al secondo anno di prova (primo anno ufficiale) il costituente dovrà:

- Compilare e trasmettere on line la scheda descrittiva varietale ottenuta dalla prova realizzata nel corso dell'anno sotto sorveglianza ufficiale, secondo le modalità indicate al punto 2, la valutazione dell'omogeneità e i risultati di eventuali accertamenti speciali.
- Inviare al centro di coordinamento, in formato elettronico, i risultati della prova agronomica eseguita secondo i protocolli d'esame riportato negli *Allegati n. 3.1, 3.2 e 3.3*;

Per l'anno di prova ufficiale il costituente dovrà inviare al Centro di coordinamento, entro la data stabilita al punto 1.4, un campione di seme della varietà candidata nel quantitativo previsto dal paragrafo 1.4, punto a), per il primo anno di prove ufficiali.

Qualora risultino discrepanze tra i risultati dei due anni di prova, il MiPAAF, d'intesa con il costituente, disporrà l'effettuazione di un ulteriore anno di prova ufficiale.

4. DISPOSIZIONI RELATIVE ALLE VARIETÀ DESTINATE AL CONSUMO ALIMENTARE FRESCO COMPRESA LA TIPOLOGIA "EDAMAME"

4.1 ISCRIZIONE NELLA LISTA B

Il costituente ha facoltà di chiedere l'iscrizione della varietà nella lista "b" ai sensi dell'articolo 5 della legge 195/76. In questo caso i due cicli di prova indipendenti vengono realizzati uno in modo ufficiale, l'altro a cura del costituente o sotto la sua responsabilità. A tal fine, il costituente dovrà:

- compilare on-line la domanda di iscrizione entro le date e secondo le modalità previste al punto 1.3;
- indicare che intende avvalersi della possibilità fornita dal presente paragrafo;
- comunicare l'ubicazione delle prove descrittive e segnalare il laboratorio in cui verranno effettuate le eventuali analisi.



Il costituente, inoltre, dovrà comunicare al Centro di coordinamento il nominativo del referente delle prove.

Le prove condotte dal costituente dovranno essere eseguite in conformità ai protocolli d'esame previsti dal presente documento. Il costituente dovrà, altresì, inviare al Centro di coordinamento, entro le date stabilite nel punto 1.4, un campione di seme della varietà candidata nel quantitativo previsto dal paragrafo 1.4, punto b), per il primo anno di prove ufficiali. .

Il Centro di coordinamento provvederà ad ispezionare le prove in corso di realizzazione a cura del costituente.

Al termine della prova, il costituente dovrà compilare e trasmettere on line la scheda descrittiva varietale ottenuta dalla prova realizzata da lui stesso o sotto la sua responsabilità, secondo le modalità indicate al punto 2, la valutazione dell'omogeneità e i risultati di eventuali accertamenti speciali.

Qualora risultino discrepanze tra i risultati delle due prove, il MiPAAF, d'intesa con il costituente, disporrà l'effettuazione di un ulteriore anno di prova ufficiale.

5. RAPPORTI CON IL COSTITUTORE

Il costituente dovrà essere informato tempestivamente dal Centro di Coordinamento di problemi che dovessero insorgere nel corso delle prove.

Al termine del primo anno di prove ufficiali, i dati provvisori rilevati sulle nuove varietà verranno inviati al costituente interessato.

Al termine del secondo anno di prove ufficiali, i dati finali rilevati sulle nuove varietà verranno inviati al costituente interessato.

6. COSTI DELLE PROVE

I costi delle prove effettuate secondo le modalità previste nel presente protocollo sono riportati nell'*Allegato n. 6*.

Eventuali accertamenti speciali effettuati ai sensi del punto 1.6 saranno definiti in termini di costi dal Centro di coordinamento d'intesa con il MiPAAF.

Qualora il costituente si avvalga della possibilità di cui al precedente punto 3.2 il costo, relativamente all'anno di prova realizzato a sua cura, sarà limitato al solo costo del coordinamento.

Nel caso che il costituente si avvalga della possibilità di cui al paragrafo 4.1 l'ammontare dovuto è pari al costo di un ciclo di prove aumentato del costo dell'ispezione della prova realizzata a cura del costituente corrispondente al costo di coordinamento.



Allegato 1

QUESTIONARIO TECNICO

(Riferimento: UPOV TG/80/6 del 01/04/1998)

1.	SPECIE: SOIA <i>Glycine max</i> (L.)Merrill <input type="checkbox"/>		
2.	RICHIEDENTE – indicare se diverso dal costituente: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>		
	Nome: _____		
	Indirizzo: _____		
	N° tel: _____	N° fax: _____	e-mail: _____
3.	DENOMINAZIONE PROPOSTA O RIFERIMENTO DEL COSTITUTORE		

	La denominazione è: un codice (C) <input type="checkbox"/> o un nome di fantasia (F) <input type="checkbox"/>		
	La denominazione è: provvisoria <input type="checkbox"/> definitiva <input type="checkbox"/>		
4.	GENEALOGIA ED INFORMAZIONI SULL'ORIGINE, MODALITÀ DI MANTENIMENTO E RIPRODUZIONE DELLA VARIETÀ		
4.1	Modalità di breeding, mantenimento e riproduzione della varietà (indicare schema di breeding, e altre informazioni;)		

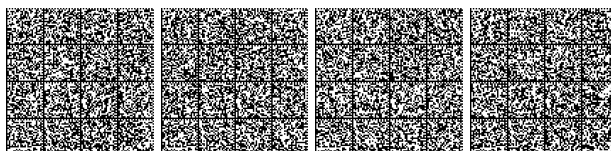
4.2	Altre informazioni sull'origine genetica e metodo di selezione		

4.3	Origine geografica della varietà: nel caso di varietà che hanno come origine mutazione/ritrovamento o altro, indicare la regione e il Paese in cui la varietà è stata scoperta e sviluppata		

5.	CARATTERISTICHE VARIETALI DA INDICARE (i numeri tra parentesi sono riferiti ai caratteri UPOV indicati nelle direttive d'esame; indicare con una croce un solo livello di espressione per ciascun carattere)		
	Carattere	Varietà di riferimento	
5.1	Pianta: colore della peluria dello stelo principale (terzo mediano)		
(5)	Grigio	1	<input type="checkbox"/> Apache, Alaric, Talon, Imari
	Fulvo	2	<input type="checkbox"/> Maple Glen, Chandor, Paoki, Agata
5.2	Fiore: colore		
(11)	Bianco	1	<input type="checkbox"/> Chandor, Cresir, Toreador
	Violetto	2	<input type="checkbox"/> Fransoy 242, Imari, Apache, Queen
5.3	Seme: colore dell'ilo		
(17)	Grigio	1	<input type="checkbox"/> Spot, Major, Apache
	Giallo	2	<input type="checkbox"/> Maple Arrow, Imari, Talon
	Bruno chiaro	3	<input type="checkbox"/> Kingsoy, Argenta, Baron, Opale
	Bruno scuro	4	<input type="checkbox"/> Fransoy 242, Aurelia, Léman
	Nero imperfetto	5	<input type="checkbox"/> Wells, Kador, Folio
	Nero	6	<input type="checkbox"/> Chandor, Queen, Paoki



5.4 (20)	Pianta: epoca di maturazione			
	Molto precoce	1	<input type="checkbox"/>	Trump, Soleo, Kola, Carla, Paradis
	Da molto precoce a precoce	2	<input type="checkbox"/>	Chandor, Apache, Labrador
	Precoce	3	<input type="checkbox"/>	Canton, Queen, Paoki, Aurelia
	Da precoce a media	4	<input type="checkbox"/>	Kador, Kinsoy, Alaric, Niva
	Media	5	<input type="checkbox"/>	Williams
	Da media a tardiva	6	<input type="checkbox"/>	
	Tardiva	7	<input type="checkbox"/>	
	Da tardiva a molto tardiva	8	<input type="checkbox"/>	
	Molto tardiva	9	<input type="checkbox"/>	
6.	VARIETÀ SIMILI E CARATTERI CHE DISTINGUONO LA VARIETÀ CANDIDATA DA ESSA/E (con riferimento all'elenco dei caratteri ed alla classificazione riportata nella scheda descrittiva)			
	Denominazione della/e varietà simile/i	Carattere in cui la/e varietà simile/i è/sono differente/i (1)	Classe di espressione della/e varietà simile/i	Classe di espressione della/e varietà candidata/e
(1) nel caso in cui lo stato di espressione sia lo stesso per entrambe le varietà, indicare l'entità della differenza.				
7.	INFORMAZIONI COMPLEMENTARI UTILI PER LA DETERMINAZIONE DELLA DISTINGUIBILITÀ DELLA VARIETÀ			
	7.1	Resistenza a parassiti e malattie		
7.2	Informazioni sulla destinazione d'uso			
	- a) da granella		<input type="checkbox"/>	
	- b) da latte		<input type="checkbox"/>	
	- c) basso contenuto in fattori antinutrizionali		<input type="checkbox"/>	
	- d) da consumo alimentare fresco compresa la tipologia "Edamame"		<input type="checkbox"/>	
	- e) altro (specificare)		<input type="checkbox"/>	
8	ACCERTAMENTI SPECIALI (indicare quanto previsto al punto 1.6)			
	-		<input type="checkbox"/>	
	-		<input type="checkbox"/>	
9.	LA VARIETÀ È DA CONSIDERARSI UN ORGANISMO GENETICAMENTE MODIFICATO COSÌ COME DEFINITO DALL'ARTICOLO 2 DELLA DIR. 2001/18/CE E SUCCESSIVE MODIFICHE?			
	SI <input type="checkbox"/>		NO <input type="checkbox"/>	
In caso affermativo specificare gli estremi della decisione comunitaria cui il relativo evento fa riferimento.				
10.	LA VARIETÀ È DESTINATA A ESSERE IMPIEGATA COME ALIMENTO RICADENTE NEL CAMPO DI APPLICAZIONE DEL REG. CE 1829/2003 E SUCCESSIVE MODIFICHE?			
	SI <input type="checkbox"/>		NO <input type="checkbox"/>	
In caso affermativo specificare gli estremi della decisione comunitaria cui il relativo evento fa riferimento.				



11.	AREALE DI COLTIVAZIONE SUGGERITO – è possibile indicare più di un ambiente				
	Specificare				
	<table border="1"><tr><td style="text-align: center;">Luogo e data</td><td style="text-align: center;">Firma e Timbro</td></tr><tr><td style="background-color: #cccccc;"></td><td style="background-color: #cccccc;"></td></tr></table>	Luogo e data	Firma e Timbro		
Luogo e data	Firma e Timbro				



Allegato 2

SCHEDA DESCRITTIVA

Nome scientifico della specie:	Soia <i>Glycyne max</i> (L.) Merrill
Denominazione varietale:	
Costitutore:	
Responsabile conservazione in purezza:	
Rappresentante in Italia:	
Sigla rappresentativa della varietà all'iscrizione:	
Codice SIAN	
Anno d'iscrizione al registro nazionale italiano:	
Ente che ha effettuato la prova di iscrizione:	
Località di svolgimento della prova:	
Periodo della prova:	
Data e riferimento documento CPVO:	-
Data e riferimento documento UPOV:	UPOV TG/80/6 revision of TG/80/3 dell'01-04-1998

N° nazionale	CPVO	UPOV	Stadio vegetativo	Caratteri: descrizione e classificazione		Varietà di riferimento	
1	-	1 (*)	10	Ipocotile: colorazione antocianica			
				1	Assente	<input type="checkbox"/>	Chandor, Godor
				9	Presente	<input type="checkbox"/>	Alaric, apache, Imari
2	-	2	10	Ipocotile: intensità della colorazione antocianica			
				1	Molto debole	<input type="checkbox"/>	Azzurra
				3	Debole	<input type="checkbox"/>	Akashi, Candir
				5	Media	<input type="checkbox"/>	Canton, Kendo
				7	Forte	<input type="checkbox"/>	Aries, Visir
3	-	3 (+)		Pianta: tipo di sviluppo			
				1	Determinata	<input type="checkbox"/>	Gnome, Spot, fiskeby
				2	Semi-determinata	<input type="checkbox"/>	Alaric, Alba, Silva, Paradis
				3	Da semi determinata a indeterminata	<input type="checkbox"/>	Chandor, Kador
4	-	4 (+)	66	Pianta: portamento			
				1	Eretto	<input type="checkbox"/>	
				2	Da eretto a semieretto	<input type="checkbox"/>	Tirol, Queen, Essor, Labrador
				3	Semieretto	<input type="checkbox"/>	Chandor, Apache, Paiki
				4	Da semieretto a orizzontale	<input type="checkbox"/>	Alaric, Major, Sapporo
5	-	5 (*)	65-85	Pianta: colore della peluria sullo stelo principale (nel terzo mediano)			
				1	Grigio	<input type="checkbox"/>	Apache, Alaric, Talon, Imari
				2	Fulvo	<input type="checkbox"/>	Maple Glen, Chandor, Paiki, Agata
6	-	6 (*)	85	Pianta: altezza			
				3	Bassa	<input type="checkbox"/>	Carla, Paradis, Spot
				4	Da bassa a media	<input type="checkbox"/>	Trump, Essor
				5	Media	<input type="checkbox"/>	Alaric, Chandor



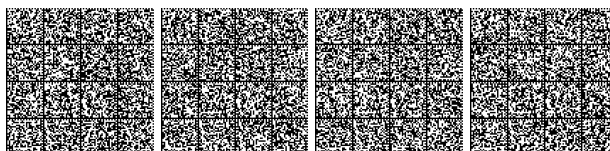
N° nazionale	CPVO	UPOV	Stadio vegetativo	Caratteri: descrizione e classificazione		Varietà di riferimento
				6	Da media ad alta	<input type="checkbox"/> Kador
				7	Alta	<input type="checkbox"/> Tirol, Torèador
7	-	7	65	Foglia: bollosità		
				1	Assente o molto debole	<input type="checkbox"/> Bayou, Arpege, Chandor
				3	Debole	<input type="checkbox"/> Kador, Quito
				5	Media	<input type="checkbox"/> Paoki, Imari
				7	Forte	<input type="checkbox"/> Matador
				9	Molto forte	<input type="checkbox"/>
8	-	8	65	Foglia: forma della fogliolina laterale		
	(+)	(*)		1	Lanceolata	<input type="checkbox"/> Toreador, Dumas, Tresor
				2	Triangolare	<input type="checkbox"/> Contessa
				3	Ovata appuntita	<input type="checkbox"/> Kador, Major, Apache, Talon
				4	Ovata arrotondata	<input type="checkbox"/> Paoki, Agata, Chandor
9	-	9	65	Foglia: dimensione della fogliolina laterale		
				3	Piccola	<input type="checkbox"/> Trump, Labrador, Baron, Arcade
				5	Media	<input type="checkbox"/> Alaric, Kushiro, Talon
				7	Grande	<input type="checkbox"/> Williams
10	-	10	65	Foglia: intensità della colorazione verde		
				3	Chiara	<input type="checkbox"/> Chandor, Arcade, Junior
				5	Media	<input type="checkbox"/> Alaric, apache, Imari
				7	Scura	<input type="checkbox"/> Spot, Cresir, Jedor, Ardir
11	-	11	66	Fiore: colore		
		(*)		1	Bianco	<input type="checkbox"/> Chandor, Cresir, toreador
				2	Violetto	<input type="checkbox"/> Fransoy 242, Imari, Apache, Queen
12	-	12	85	Baccello: intensità della colorazione marrone		
				3	Chiara	<input type="checkbox"/> Chandor, Contessa, Alba, Arcade
				5	Media	<input type="checkbox"/> Alaric, Apache, Fuji, Paoki
				7	Scura	<input type="checkbox"/> Toreador, Tirol, Royal
13	-	13	89	Seme: dimensione		
				3	Piccola	<input type="checkbox"/> Alba, Aurelia, Flusk GT 512
				5	Media	<input type="checkbox"/> Queen, Goldor
				7	Grande	<input type="checkbox"/> Cledor, Cervin, Mondor
14	-	14	89	Seme: forma		
				1	Sferica	<input type="checkbox"/> Paoki, Valkir, Niva
				2	Sferica appiattita	<input type="checkbox"/> Queen, Sapporo, Cledor
				3	Allungata	<input type="checkbox"/> Soleo, Talon, Excel, Recor
				4	Allungata appiattita	<input type="checkbox"/>
15	-	15	89	Seme: colore di fondo del tegumento (ilo escluso)		
		(*)		1	Giallo	<input type="checkbox"/> Queen, Paoki
				2	Verde giallastro	<input type="checkbox"/>
				3	Verde	<input type="checkbox"/>
				4	Marrone chiaro	<input type="checkbox"/>
				5	Marrone medio	<input type="checkbox"/>
				6	Marrone scuro	<input type="checkbox"/>
				7	Nero	<input type="checkbox"/>
16	-	16	89	Seme: colorazione dovuta all'attività perossidasi nel tegumento		
		(+)		1	Assente	<input type="checkbox"/> Bragg
				9	Presente	<input type="checkbox"/> Hood, Hood 75
17	-	17	89	Seme: colore dell'ilo		
		(*)		1	Grigio	<input type="checkbox"/> Spot, Major, Apache
				2	Giallo	<input type="checkbox"/> Maple Arrow, Imari, Talon



N° nazionale	CPVO	UPOV	Stadio vegetativo	Caratteri: descrizione e classificazione		Varietà di riferimento
				3	Bruno chiaro	<input type="checkbox"/> Kingsoy, Argenta, Baron, Opale
				4	Bruno scuro	<input type="checkbox"/> Fransoy 242, Aurelia, Leman
				5	Nero imperfetto	<input type="checkbox"/> Wells, Kador, Folio
				6	Nero	<input type="checkbox"/> Chador, Queen, Paoki
18	-	18	89	Seme: colore dell'inserzione dell'ilo		
				1	Uguale al tegumento	<input type="checkbox"/> Queen
				2	Diversa dal tegumento	<input type="checkbox"/> Gieso
19	-	19		Pianta: epoca di inizio fioritura (50% delle piante con almeno un fiore aperto)		
		(*)		1	Molto precoce	<input type="checkbox"/> Sito, Trump, Carla, Paradis
				2	Da molto precoce a precoce	<input type="checkbox"/> Labrador, Essor, Arcade
				3	Precoce	<input type="checkbox"/> Canton, Queen, Imari
				4	Da precoce a media	<input type="checkbox"/> Kador, Alaric, Niva
				5	Media	<input type="checkbox"/> Williams
				6	Da media a tardiva	<input type="checkbox"/>
				7	Tardiva	<input type="checkbox"/>
				8	Da tardiva a molto tardiva	<input type="checkbox"/>
				9	Molto tardiva	<input type="checkbox"/>
20	-	20	89	Pianta: epoca di maturazione		
		(*)		1	Molto precoce	<input type="checkbox"/> Trump, Soleo, Kola, carla, Paradis
				2	Da molto precoce a precoce	<input type="checkbox"/> Chandor, Apache, Labrador
				3	Precoce	<input type="checkbox"/> Canton, Queen, Paoki, Aurelia
				4	Da precoce a media	<input type="checkbox"/> Kador, Kingsoy, Alaric, Niva
				5	Media	<input type="checkbox"/> Williams
				6	Da media a tardiva	<input type="checkbox"/>
				7	Tardiva	<input type="checkbox"/>
				8	Da tardiva a molto tardiva	<input type="checkbox"/>
				9	Molto tardiva	<input type="checkbox"/>

Legenda:

- (+) vedere metodologia appropriata per effettuare il rilievo;
- (*) caratteri che devono essere sempre usati per la descrizione di tutte le varietà in ogni ciclo di prova, a meno che lo stato di espressione di un precedente carattere o le condizioni ambientali della zona di coltivazione lo rendano impossibile;
- 0-89 codice decimale per lo stadio di crescita.



Metodologia appropriata per effettuare il rilievo

Carattere 3 Pianta: tipo di sviluppo

Questo carattere deve essere valutato all'interno delle parcelle della prova descrittiva individuando in ciascuna parcella 30 piante avendo cura di eliminare qualsiasi effetto di bordo.

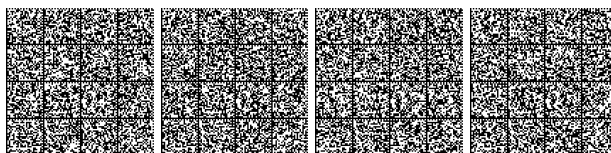
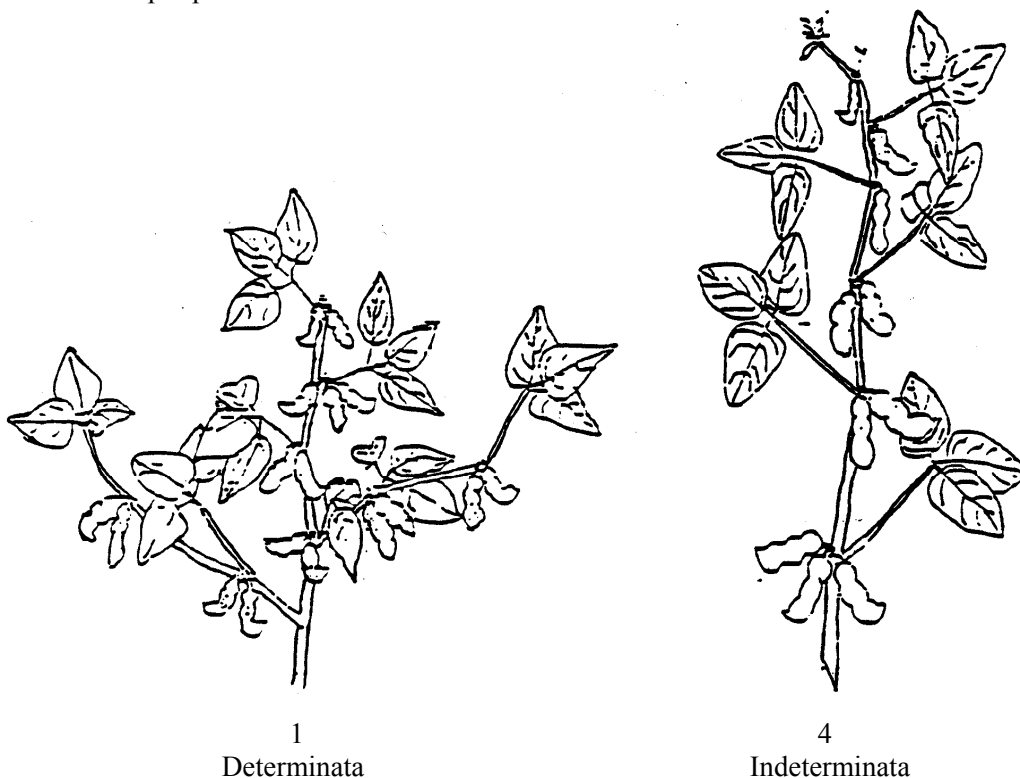
Le varietà candidate e di riferimento devono essere coltivate in gruppi secondo il loro grado di precocità alla maturazione (carattere 20).

Osservazioni:

All'inizio dell'epoca di fioritura (1 fiore aperto a un qualsiasi livello dello stelo principale), l'apice della pianta dello stelo principale deve essere identificato mediante un "marchio" (ad esempio mediante un cordoncino legato allo stelo).

Alla maturazione (semi liberi nel baccello), vengono contati il numero dei nodi tra il "marchio" e l'apice terminale dello stelo principale. Il numero medio di nodi della varietà candidata confrontato con il numero medio di nodi delle varietà di riferimento determina il grado di espressione di questo carattere.

Inoltre, il carattere "dimensioni della foglia terminale" potrebbe anche essere considerato per separare più chiaramente lo stato di espressione "determinato" (Nota 1) dagli altri stati. La dimensione della foglia terminale dello stelo principale di varietà determinate è più o meno uguale alle altre foglie inserite nei nodi più bassi. Negli altri tipi di varietà, la foglia terminale è chiaramente più piccola.



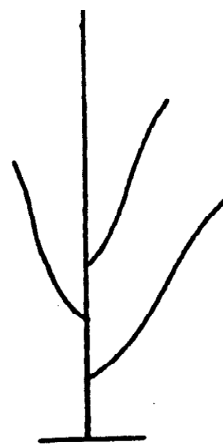
Caratteri 4 Pianta: portamento



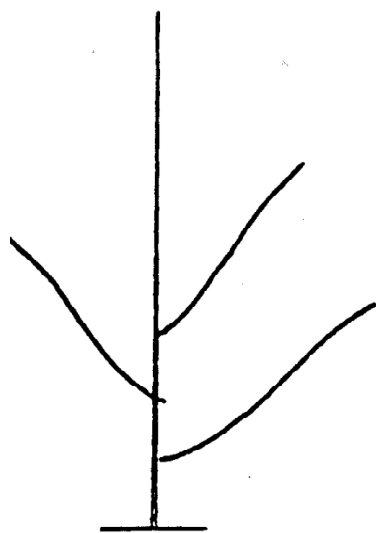
1
Eretto



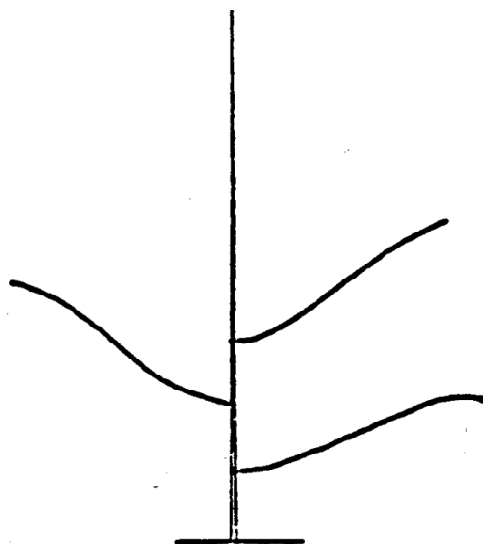
2
Da eretto a semi eretto



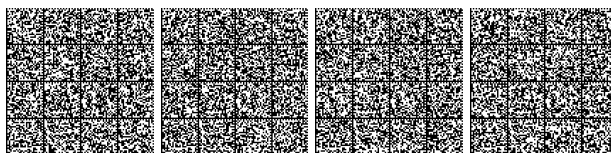
3
Semi eretto

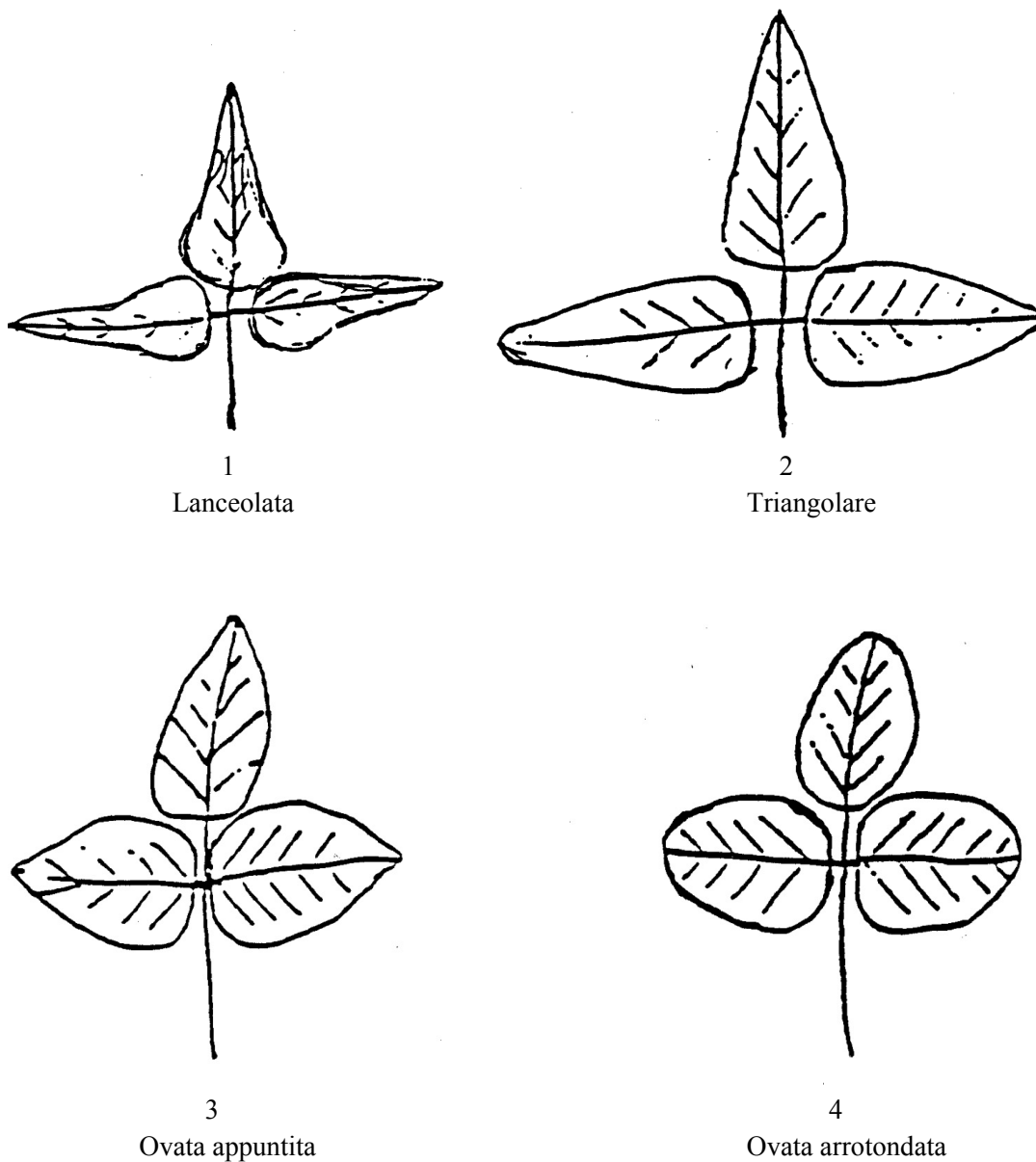


4
Da semi eretto a orizzontale

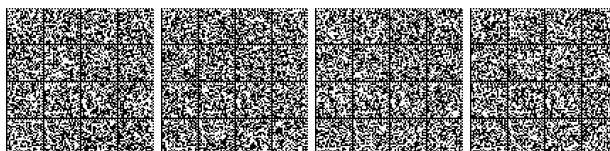


5
Orizzontale



Carattere 8 Foglia: forma della fogliolina laterale**Carattere 16 Seme: colorazione dovuta all'attività perossidasi nel tegumento del seme**

Per la valutazione di questo carattere devono essere valutati 20 semi per varietà. Il tegumento del seme deve essere rimosso con cura in modo che non rimanga nessun pezzo di cotiledone. Per facilitare questa operazione, il seme deve essere posto in acqua per 2 ore. Il tegumento del seme deve essere posto, successivamente, in una scatola Petri o in un tubo di saggio (una scatola o un tubo per ogni seme) al quale vengono aggiunti da 3 a 4 cm³ di soluzione di Guaiacolo allo 0,5%. La soluzione di Guaiacolo allo 0,5% può essere conservata in frigorifero per un periodo non superiore



ai 2 mesi. Se la soluzione viene lasciata a temperatura ambiente per più di un giorno, non può più essere utilizzata.

Trascorsi 10 minuti dall'aggiunta della soluzione di Guaiacolo, deve essere aggiunta una goccia di soluzione di H_2O_2 allo 0,1%.

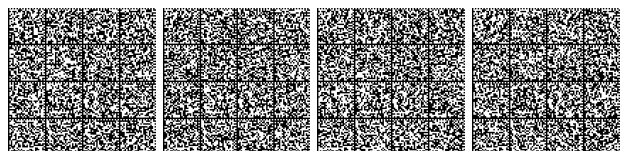
La soluzione vira a un colore rosso scuro/marrone per una reazione positiva o rimane incolore per una reazione negativa.

Al fine di verificare la soluzione Guaiacolo 0,5%, è consigliabile includere alcuni tegumenti di semi di una varietà di riferimento con una reazione positiva.

La valutazione di questa reazione deve essere effettuata non più di 60 secondi dopo l'aggiunta di H_2O_2 , con l'accortezza di non superare la tempistica indicata al fine di non incorrere in risultati non corretti

Le scatole Petri o i tubi di saggio devono essere leggermente agitati per migliorare la reazione.

Per una più agevole valutazione del risultato, le scatole Petri o i tubi di saggio devono essere collocati su una superficie bianca.



Chiave per lo stadio di sviluppo

Stadi di sviluppo fenologici e chiave di identificazione BBCH per la soia¹

Chiave		Descrizione generale
a 2 numeri	a 3 numeri	
Principali stadi di crescita 0: Germinazione		
00	000	Seme secco
01	001	Inizio dell'imbibizione del seme
02	002	-
03	003	Imbibizione del seme completa
04	004	-
05	005	Comparsa della radichetta dal seme
06	006	Allungamento della radichetta, comparsa dei peli radicali
07	007	Ipocotile con i cotiledoni che stanno rompendo il tegumento
08	008	L'ipocotile raggiunge la superficie del suolo, arco dell'ipocotile visibile
09	009	Emergenza: l'ipocotile e i cotiledoni emergono dalla superficie del suolo. (fase della fessurazione)
Principali stadi di crescita 1: sviluppo delle foglie (germoglio principale)		
10	100	Cotiledoni completamente schiusi
11	101	Primo paio di vere foglie distese (foglie unifogliate sul primo nodo)
12	102	Foglie trifogliate sul secondo nodo distese
13	103	Foglie trifogliate sul terzo nodo distese
1.	10.	Gli stadi continuano fino...
19	109	Foglie trifogliate sul nono nodo distese, nessun germoglio laterale visibile ²
-	110	Foglie trifogliate sul decimo nodo distese ²
-	111	Foglie trifogliate sul undicesimo nodo distese ²
-	112	Foglie trifogliate sul dodicesimo nodo distese ²
-	113	Foglie trifogliate sul tredicesimo nodo distese ²
-	11.	Gli stadi continuano fino...
-	119	Foglie trifogliate sul diciannovesimo nodo distese ²
Principali stadi di crescita 2: formazione dei germogli laterali		
20	200	-
21	201	Primo germoglio laterale visibile
22	202	Secondo germoglio laterale di primo ordine visibile
23	203	Terzo germoglio laterale di primo ordine visibile
2.	20.	Gli stadi continuano fino...
29	209	9 o più germogli laterale di primo ordine visibili (chiave a 2 numeri) Nono germoglio laterale di primo ordine visibile (chiave a 3 numeri)

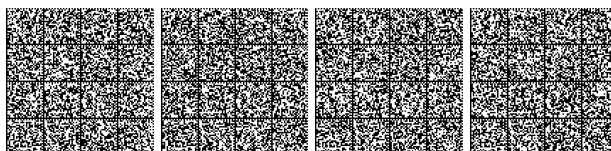


	210	Decimo germoglio laterale di primo ordine visibile
	221	Primo germoglio laterale di secondo ordine visibile
	22.	Gli stadi continuano fino...
	229	Nono germoglio laterale di secondo ordine visibile
	2N1	Primo germoglio laterale di n ordine visibile
	2N9	Nono germoglio laterale di n ordine visibile
Principali stadi di crescita 3: allungamento dello stelo³		

Principali stadi di crescita 4: Sviluppo di parti della pianta raccogliabili (stelo principale)		
40	400	-
41	401	-
42	402	-
43	403	-
44	404	-
45	405	-
46	406	-
47	407	-
48	408	-
49	409	Le parti vegetative raccogliabili hanno raggiunto la dimensione finale (Taglio delle piante allo scopo di produrre foraggio)
Principali stadi di crescita 5: emergenza dell'infiorescenza (stelo principale)		
50	500	-
51	501	Primo bottone florale visibile
52	502	-
53	503	-
54	504	-
55	505	Primo bottone florale ingrossato
56	506	-
57	507	-
58	508	-
59	509	Primo fiore con petali visibili, ma il bocciolo è ancora chiuso
Principali stadi di crescita 6: fioritura (stelo principale)		
60	600	Primo fiore aperto (sporadici all'interno della parcella)
61	601	Inizio della fioritura 10% circa di fiori aperti ⁴ Inizio fioritura ⁵
62	602	20% circa di fiori aperti ⁴
63	603	30% circa di fiori aperti ⁴
64	604	40% circa di fiori aperti ⁴
65	605	Piena fioritura 50% circa di fiori aperti ⁴ Periodo di maggior fioritura ⁵
66	606	60% circa di fiori aperti ⁴
67	607	Declino della fioritura ⁴
68	608	-



69	609	Fine fioritura: primi baccelli visibili (5 mm circa di lunghezza)
Principali stadi di crescita 7: sviluppo dei frutti e dei semi		
70	700	Il primo baccello raggiunge la lunghezza finale (15-20 mm)
71	701	Circa il 10% dei baccelli raggiunge la lunghezza finale (15-20 mm) ⁴ Inizio dello sviluppo del baccello ⁵
72	702	Circa il 20% dei baccelli raggiunge la lunghezza finale (15-20 mm) ⁴
73	703	Circa il 30% dei baccelli raggiunge la lunghezza finale (15-20 mm) ⁴ Inizio del riempimento del baccello ⁵
74	704	Circa il 40% dei baccelli raggiunge la lunghezza finale (15-20 mm) ⁴
75	705	Circa il 50% dei baccelli raggiunge la lunghezza finale (15-20 mm), continua il riempimento dei baccelli ⁴ Periodo di maggior sviluppo dei baccelli, continua il riempimento degli stessi ⁵
76	706	-
77	707	Circa il 70% dei baccelli raggiunge la lunghezza finale (15-20 mm), avanzato stadio di riempimento dei baccelli ⁴ Avanzato stadio di riempimento dei baccelli ⁵
78	708	-
79	709	Approssimativamente tutti i baccelli hanno raggiunto la lunghezza finale (15-20 mm). I semi riempiono, in quasi tutti i baccelli, la cavità interna. ^{4,5}
Principali stadi di crescita 8: maturazione dei frutti e dei semi		
80	800	Primo baccello maturo, con i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri.
81	801	Inizio della maturazione; circa il 10% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴ Inizio della maturazione dei baccelli e dei semi. ⁵
82	802	Circa il 20% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴
83	803	Circa il 30% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴
84	804	Circa il 40% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴
85	805	Maturazione avanzata; circa il 50% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴ Periodo di maggior maturazione dei baccelli e dei semi ⁵
86	806	Circa il 60% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴
87	807	Circa il 70% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴
88	808	Circa l'80% dei baccelli sono maturi, i semi hanno raggiunto il colore finale e sono secchi e duri. ⁴
89	809	Piena maturazione: approssimativamente tutti i baccelli sono maturi, i semi hanno il colore finale e sono secchi e duri (maturità di raccolta) ⁴ La maggioranza dei baccelli è matura, i semi hanno raggiunto il



		colore finale e sono secchi e duri ⁵
Principali stadi di crescita 9: senescenza		
90	900	-
91	901	Circa 10% delle foglie ingiallite o cadute
92	902	Circa 20% delle foglie ingiallite o cadute
93	903	Circa 30% delle foglie ingiallite o cadute
94	904	Circa 40% delle foglie ingiallite o cadute
95	905	Circa 50% delle foglie ingiallite o cadute
96	906	Circa 60% delle foglie ingiallite o cadute
97	907	La maggior parte della parte aerea della pianta è morta
98	908	-
99	909	Prodotto della raccolta (seme)

¹ Meier, Uwe (Editor), 1997: "Growth Stages of Mono- and Dicotyledonous Plants", BBCH Monograph, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin-Wien 1997.

² I germogli laterali potrebbero svilupparsi prima, in questo caso continuare con lo stadio di sviluppo 2

³ Nella soia questo stadio procede in parallelo con lo sviluppo delle foglie (stadio di sviluppo 1), perciò la codifica dello stadio di sviluppo 3 è stato omissa.

⁴ Questa definizione è riferita solo alle varietà determinate.

⁵ Questa definizione è riferita solo alle varietà indeterminate.

Bibliografia

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

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

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

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

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

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

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

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



Allegato n. 3.1

PROTOCOLLO PER LA REALIZZAZIONE DELLA PROVA AGRONOMICA DI VARIETÀ DA GRANELLA

Numero dei campi prova

4 località

Varietà testimoni

Le varietà testimoni devono essere:

- almeno 1 per ogni gruppo di maturità (0, 1 e 2) scelta fra le varietà maggiormente diffuse;
- riviste periodicamente.

Nel periodo di prova le varietà candidate devono essere confrontate con gli stessi testimoni.

Metodologia sperimentale

Per le prove agronomiche verrà utilizzato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con almeno tre repliche e parcelle di 20 m², seminate con seminatrici parcellari. Ciascuna parcella dovrà essere costituita da almeno 6 file. La dose di semina per ogni varietà verrà determinata sulla base della germinabilità e del peso dei 1.000 semi, in modo tale da garantire un investimento di semina di 35 semi germinabili per m². In ogni località di prova verrà adottata la migliore tecnica colturale in uso nell'areale. La raccolta effettuata allo stadio di maturazione (Codice 89/809 della chiave di identificazione BBCH relativa alla soia), sarà eseguita almeno sulle 4 file centrali per una superficie non inferiore ai 10 m². Su ciascuna parcella verranno rilevati:

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ data emergenza; ▪ investimento all'emergenza:(stima visiva scala 0-9); ▪ data inizio fioritura; ▪ data maturazione; ▪ altezza della pianta al momento della raccolta (cm); | <ul style="list-style-type: none"> ▪ allettamento al momento della raccolta (stima visiva scala 0-9); ▪ data di raccolta; ▪ produzione parcellare raccolta (kg); ▪ umidità alla raccolta (%); ▪ peso 1000 semi (g). |
|--|--|

Legenda:

Investimento: 0= 0% germinate 9=90%-100% germinate

Allettamento: 0= perfettamente verticale; 9= completamente prostrata

Analisi qualitative

Su un campione medio derivante dall'unione dei tre sub-campioni delle tre repliche per ciascuna località saranno determinati:

- resa in olio (*Allegato 4.1*)
- proteine (*Allegato 4.2*)

Valutazione dei risultati agronomici e limiti di ammissibilità

Dall'analisi dei dati ottenuti verrà espresso, per ogni varietà candidata, un valore agronomico e di utilizzazione.

I dati relativi alle prove agronomiche saranno sottoposti ad analisi statistica della varianza. La valutazione agronomica della varietà candidata è positiva quando la media del biennio della produzione di granella (t/ha) è statisticamente superiore o uguale alla media dei testimoni riferiti ad ogni classe di precocità meno la dms ($P \leq 0,05$). Per le varietà che sono ai limiti di ammissibilità per la produzione di granella il dato può essere controbilanciato con la produzione di proteine o di olio espressa in t/ha.



Allegato n. 3.2

**PROTOCOLLO PER LA REALIZZAZIONE DELLA PROVA AGRONOMICA DI
VARIETÀ DA LATTE****Numero dei campi prova**

4 località

Varietà testimoni

Le varietà testimoni devono essere:

- almeno 1 scelta fra le varietà maggiormente diffuse utilizzando dove possibile la medesima classe di precocità delle nuove varietà;
- riviste periodicamente.

Nel periodo di prova le varietà candidate devono essere confrontate con gli stessi testimoni.

Metodologia sperimentale

Per le prove agronomiche verrà utilizzato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con almeno tre repliche e parcelle di 20 m², seminate con seminatrici parcellari. Ciascuna parcella dovrà essere costituita da almeno 6 file. La dose di semina per ogni varietà verrà determinata sulla base della germinabilità e del peso dei 1.000 semi, in modo tale da garantire un investimento di semina di 35 semi germinabili per m². In ogni località di prova verrà adottata la migliore tecnica colturale in uso nell'areale. La raccolta effettuata allo stadio di maturazione (Codice 89/809 della chiave di identificazione BBCH relativa alla soia), sarà eseguita almeno sulle 4 file centrali per una superficie non inferiore ai 10 m². Su ciascuna parcella verranno rilevati:

- | | |
|---|--|
| ▪ data emergenza; | ▪ allettamento al momento della raccolta (stima visiva scala 0-9); |
| ▪ investimento all'emergenza: (stima visiva scala 0-9); | ▪ data di raccolta; |
| ▪ data inizio fioritura; | ▪ produzione parcellare raccolta (kg); |
| ▪ data maturazione; | ▪ umidità alla raccolta (%); |
| ▪ altezza della pianta al momento della raccolta (cm); | ▪ peso 1000 semi (g). |

Legenda:

Investimento: 0= 0% germinate 9=90%-100% germinate

Allettamento: 0= perfettamente verticale; 9= completamente prostrata

Analisi qualitative

Su un campione medio derivante dall'unione dei tre sub-campioni delle tre repliche per ciascuna località saranno determinati:

- resa in olio (*Allegato 4.1*)
- proteine (*Allegato 4.2*)

Su un ulteriore campione derivante dall'unione dei campioni medi delle 4 località saranno effettuate le seguenti valutazioni:

- colorazione del seme;
- colorazione dell'ilo;
- calibratura del seme;
- determinazione presenza semi verdi;
- determinazione semi con tegumento maculato;



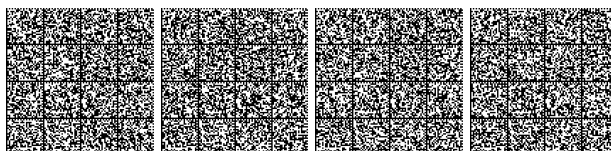
- valutazione organolettiche per la verifica dell'attitudine alla trasformazione in latte.

Valutazione dei risultati agronomici e limiti di ammissibilità

Dall'analisi dei dati ottenuti verrà espresso, per ogni varietà candidata, un valore agronomico e di utilizzazione.

Perché una varietà sia considerata da latte dovrebbe soddisfare un rapporto proteine olio di 2:1, seme di colorazione chiaro, ilo poco evidente, seme di calibro non eccessivamente piccolo, moderata presenza di semi verdi e di semi con tegumento con maculatura scura dovuta a fattori climatici. Dal punto di vista organolettico l'estratto dovrebbe essere di colore chiaro, di sapore gradevole e privo di retrogusti.

I dati relativi alle prove agronomiche saranno sottoposti ad analisi statistica della varianza. La valutazione agronomica della varietà candidata è positiva quando la media del biennio della produzione di granella (t/ha) è statisticamente superiore o uguale alla media dei testimoni specifici meno la dms ($P \leq 0,05$).



Allegato n. 3.3

**PROTOCOLLO PER LA REALIZZAZIONE DELLA PROVA AGRONOMICA DI
VARIETÀ A BASSO CONTENUTO DI FATTORI ANTINUTRIZIONALI****Numero dei campi prova**

4 località

Varietà testimoni

Le varietà testimoni devono essere:

- almeno 1 scelta fra le varietà maggiormente diffuse utilizzando dove possibile la medesima classe di precocità delle nuove varietà;
- riviste periodicamente.

Nel periodo di prova le varietà candidate devono essere confrontate con gli stessi testimoni.

Metodologia sperimentale

Per le prove agronomiche verrà utilizzato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con almeno tre repliche e parcelle di 20 m², seminate con seminatrici parcellari. Ciascuna parcella dovrà essere costituita da almeno 6 file. La dose di semina per ogni varietà verrà determinata sulla base della germinabilità e del peso dei 1.000 semi, in modo tale da garantire un investimento di semina di 35 semi germinabili per m². In ogni località di prova verrà adottata la migliore tecnica colturale in uso nell'areale. La raccolta effettuata allo stadio di maturazione (Codice 89/809 della chiave di identificazione BBCH relativa alla soia), sarà eseguita almeno sulle 4 file centrali per una superficie non inferiore ai 10 m². Su ciascuna parcella verranno rilevati:

- | | |
|--|---|
| ▪ data emergenza; | ▪ allettamento al momento della raccolta(stima visiva scala 0-9); |
| ▪ investimento all'emergenza:(stima visiva scala 0-9); | ▪ data di raccolta; |
| ▪ data inizio fioritura; | ▪ produzione parcellare raccolta (kg); |
| ▪ data maturazione; | ▪ umidità alla raccolta (%); |
| ▪ altezza della pianta al momento della raccolta (cm); | ▪ peso 1000 semi (g). |

Legenda:

Investimento:0= 0% germinate 9=90%-100% germinate

Allettamento: 0= perfettamente verticale; 9= completamente prostrata

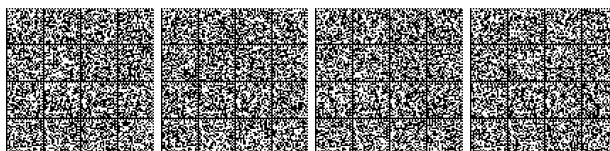
Analisi qualitative

Su un campione medio derivante dall'unione dei tre sub-campioni delle tre repliche per ciascuna località saranno determinati:

- resa in olio (*Allegato 4.1*)
- proteine (*Allegato 4.2*)

Su un ulteriore campione derivante dall'unione dei campioni medi delle 4 località saranno determinati:

- fattori antinutrizionali (*Allegato 4.3*)



Valutazione dei risultati agronomici e limiti di ammissibilità

Dall'analisi dei dati ottenuti verrà espresso, per ogni varietà candidata, un valore agronomico e di utilizzazione.

Perché una varietà sia considerata a basso contenuto di fattori antinutrizionali deve avere un contenuto di tali fattori paragonabile a varietà già conosciute di tale tipologia.

I dati relativi alle prove agronomiche saranno sottoposti ad analisi statistica della varianza. La valutazione agronomica della varietà candidata è positiva quando la media del biennio della produzione di granella (t/ha) è statisticamente superiore o uguale alla media dei testimoni specifici meno la dms ($P \leq 0,05$).



*Allegato 4.1***Determinazione quantitativa dell'olio**

La quantità di olio viene determinata attraverso la tecnica NMR (Nuclear Magnetic Resonance) con un analizzatore MQC della Oxford Instruments (Abingdon, Oxfordshire UK) secondo la normativa:

- “Semi oleaginosi. Determinazione del contenuto in olio. Metodo per spettrometria di risonanza magnetica nucleare a bassa risoluzione a onda continua (Metodo Rapido)” UNI EN ISO 551 aprile 1998

La taratura dello strumento e il controllo della risposta dei campioni vengono fatte con il metodo Soxhlet:

- “Metodi di analisi utilizzati per il controllo chimico degli alimenti” Istituto Superiore di Sanità. ISSN 1123-3117. Rapporti ISTISAN 96/34



*Allegato 4.2***Determinazione quantitativa delle proteine**

Il quantitativo di proteine viene determinato con il metodo Kjeltec, una modificazione rapida del metodo Kjeldhal.

Normativa di riferimento:

- “Semi e frutti oleaginosi e derivati. Sostanza proteiche vegetali. Determinazione dei protidi grezzi” UNI 22604 ottobre 1992



Determinazioni Inibitori di Tripsina nella soia

PREPARAZIONE ESTRATTI

Materiali:

TRIS (Hydroxymethyl-aminomethane) P.M. 121.14

Acido cloridrico 37% P.M 36.46

CaCl₂ (Calcio cloruro biidrato) P.M. 149.09

Farina di soia macinata a una granulometria di 0.75 mm.

Come varietà di riferimento verranno utilizzati due testimoni uno a basso contenuto di fattori antinutrizionali ed uno ad alto contenuto. Nel periodo di prova le varietà candidate devono essere confrontate con gli stessi testimoni.

Estrazione:

In un provettone viene messo 1 g di farina con 20 ml di tampone TRIS/HCl 0.2 M contenente 10 mM CaCl₂, mantenendo in ghiaccio, si estrae a velocità bassa con Ultra Turrax (IKA-Werke) per 10 minuti (attenzione alla schiuma).

Al termine si centrifuga a 17000 RPM per 30 minuti, se necessario il limpido si filtra su carta.

Diluire l'estratto 1:10 con tampone di estrazione prima dell'analisi.

SAGGIO INIBIZIONE TRIPSINA

Materiali:

Tripsina P.M. 23280 Da

L-BAPA o BANI (N-Benzoyl-L-Arginine-4-nitroanilide hydrochloride) P.M. 434.89

Soluzioni:

- Tampone Tris-HCl 50mM, pH 7.8, termostatare a 25°C.

- Tripsina 0.2 mg/ml in HCl 10⁻³, tenere in ghiaccio. Leggere assorbanza a 280 nm per verificare l'effettiva concentrazione mg/ml della tripsina ($\epsilon 1\text{cm}^{1\%} = 15.6$)

- Soluzione L-BAPA 1 mg/ml in H₂O, (es. sciogliere a caldo 50 mg prima in 40 ml di H₂O poi portare al volume di 50 ml, a temperatura ambiente, con H₂O); la soluzione finale va tenuta a 25°C.

Condizioni spettrofotometriche:

$\lambda = 405\text{ nm}$ Cuvetta 1 cm Vol. 3,5 ml Temperatura 25°C

Test di attività Tripsina:

(controllo da ripetere ogni 3 saggi di inibitore); miscela di reazione in ordine di aggiunta reagenti:

1950 μl	TRIS HCl 50 M pH 7.8
50 μl	Tripsina 0.2 mg/ml in HCl 10 ⁻³
1000 μl	BAPA 1 mg/m

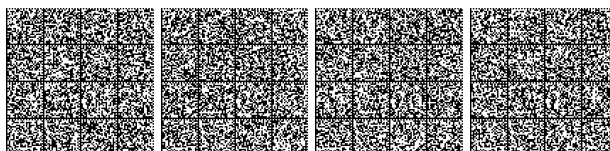
Lettura di $\Delta\text{Abs}/\text{min}$. Tempo di osservazione: 3 min.

La reazione deve essere lineare.

L'attività si ripete 3 volte.

Attività Inibitore:

Miscela di reazione in ordine di aggiunta reagenti:



1925 µl	TRIS HCl 50 M pH 7.8
50 µl	Tripsina 0.2 mg/ml in HCl 10 ⁻³
25 µl	Estratto diluito 1:10
1000 µl	BAPA 1 mg/m

Incubazione 3 minuti della miscela tampone, tripsina, estratto. Misura di attività dopo aggiunta del substrato (BAPA).

Lettura di $\Delta\text{Abs}/\text{min}$. Tempo di osservazione: 3 min. La reazione deve essere lineare.

L'attività si ripete 3 volte per ogni estratto.

Calcolo Attività Inibitore

Unità di tripsina:

1 unità U di tripsina è definita come la quantità di enzima che idrolizza 1 µmole di substrato BAPA al minuto, a pH 7.8, 25°C.

$$\epsilon^M_{410\text{nm}} \text{ p-nitroanilina (BAPA)} = 8.800$$

$$U_{\text{trps}} = \Delta\text{Abs}/\text{min} / \epsilon \times 1 = \mu\text{moli idrolizzate per } \mu\text{l}$$

$$U_{\text{trps tot}} = \mu\text{moli idrolizzate per } \mu\text{l} \times V_{\text{tot in cuvetta}} (3000\mu\text{l}) = \mu\text{moli idrolizzate totali}$$

$$U_{\text{I tot}} = U_{\text{trps tot}} - U_{\text{I trps tot}} (\text{attività inibitore}) = \text{Unità di tripsina inibite totali}$$

$$U_{\text{I/ml}} = U_{\text{I tot}} / 25 (\mu\text{l estratto}) \times 1000 = \text{Unità di tripsina inibita per ml}$$

$$U_{\text{I/g}} = U_{\text{I/ml}} \times 20 (\text{volume tampone}) \times 10 (\text{diluizione 1:10}) / \text{g farina} = \text{Unità di tripsina inibita per grammo di farina}$$

Attività specifica tripsina

$$\text{mg trps tot} = 0.2 (\text{mg/ml}) \times 0.050 \text{ ml (ml in cuvetta)} = \text{mg di tripsina totali nel saggio}$$

$$U/\text{mg} = U_{\text{trps tot}} / \text{mg trps tot} = \text{Unità di tripsina per mg}$$

$$U_{\text{I/mg}} = U_{\text{I/g}} / U/\text{mg} = \text{mg di tripsina inibita per g di farina}$$

Riferimenti bibliografici

A. Stefan, L. Ugolini, E. Martelli, S. Palmieri, A. Hochkoepler, "Expression and purification of the recombinant mustard trypsin inhibitor 2 (MTI2) in *Escherichiacoli*" Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, Vol. 108, N. 4, 282-285



PROTOCOLLO PER LA REALIZZAZIONE DELLA CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE CON MARCATORI MICROSATELLITI DI NUOVE VARIETÀ DI SOIA

Premessa

La descrizione del profilo molecolare è uno dei metodi d'elezione per la caratterizzazione varietale in molte specie, tra cui la soia. I loci genomici scelti per questo tipo di analisi sono i cosiddetti microsattelliti o SSR (*Simple Sequence Repeats*).

Essi sono costituiti da brevi sequenze ripetute di 2-5 nucleotidi (es: ATATATATAT; CGTCGTCGTCGT) sparse nel genoma. Le sequenze adiacenti ai microsattelliti sono generalmente conservate all'interno degli individui della stessa specie, ciò permette la selezione di primer specifici per l'amplificazione del frammento di interesse mediante PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Gli alleli, a carattere codominante, sono identificati dalla lunghezza del frammento espressa in paia di basi. L'amplificazione di questi frammenti mediante l'uso della PCR e la loro separazione mediante elettroforesi darà origine ad un profilo tipico per ciascun individuo/varietà, utile per la sua identificazione.

Gli SSR permettono:

- la catalogazione delle diverse accessioni;
- la creazione di un database con i dati ottenuti, da affiancare ai dati morfologici raccolti nella scheda descrittiva;
- l'automazione della procedura di analisi con risparmio di tempo e contenuti costi di esecuzione.

Per quanto riguarda la soia sono disponibili in letteratura numerosi casi di studio e un ampio database pubblico (<http://www.soybase.org/tools.php>) a cui attingere per l'individuazione del gruppo di SSR da utilizzare nella procedura di iscrizione al Registro.

Scopo

Scopo della prova è la descrizione del profilo molecolare ottenuto dalla combinazione di un numero adeguato di microsattelliti ben distribuiti nel genoma e con un elevato livello di polimorfismo. L'analisi si eseguirà in entrambi gli anni di prova, al termine dei quali il profilo molecolare sarà incluso nella scheda descrittiva delle nuove varietà a complemento della caratterizzazione morfofisiologica.

Materiali

Marcatori SSR (Simple Sequence Repeats)

Sono stati scelti 20 marcatori SSR considerando diversi fattori:

- elevato grado di polimorfismo (numero di alleli rilevabili per ogni locus SSR);
- buona distribuzione nel genoma, un marcatore per ciascun cromosoma;
- presenza di alleli rilevabili senza ambiguità;
- condizioni di amplificazione tali da consentire l'allestimento di saggi PCR multiplex allo scopo di ottimizzare tempi di lavoro e costi.

I marcatori utilizzati e le loro caratteristiche sono elencati nella tabella seguente (tab.1):



Tabella 1: marcatori e loro caratteristiche

Marcatore SSR	Cromosoma	Linkage group	Repeats
Satt129	01	D1a	(AAT)25
Satt216	02	D1b+W	(ATT)20
Satt152	03	N	(ATA)21
AW277661	04	C1	(TAT)23
Satt545	05	A1	(TTA)24
Satt277	06	C2	(TTA)13
Satt680	07	M	(ATT)48
Satt177	08	A2	3bp
Satt349	09	K	(AAT)10
Satt345	10	O	(ATT)27
Satt197	11	B1	(ATT)20
Satt353	12	H	(TTA)17
Satt114	13	F	(AAT)17
Satt577	14	B2	(ATT)12
Satt691	15	E	(ATT)17
Satt249	16	J	(AAT)20
Satt186	17	D2	(ATT)19
Satt115	18	G	(TAT)18
Satt229	19	L	(AAT)22
Satt614	20	I	(TTA)38

Campione di analisi

Per la caratterizzazione varietale l'analisi dovrà essere condotta su 16 individui singoli, in caso di disomogeneità anche per un solo locus SSR saranno analizzati altri 8 individui. Nel caso di un campione costituito da ventiquattro individui, il numero massimo di fuoritipo ammessi sarà pari a due. Al secondo anno di prova l'analisi verrà ripetuta sul nuovo campione di seme inviato, ciò consentirà di confermare la stabilità genetica del materiale.

Metodi*Estrazione degli acidi nucleici*

Gli acidi nucleici potranno essere estratti sia da seme che da plantule di circa 10 giorni secondo il protocollo proposto da Doyle e Doyle (1990) che prevede l'utilizzo di cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), un detergente ionico in grado di formare complessi insolubili con gli acidi nucleici in determinate concentrazioni saline della soluzione di estrazione. In alternativa potranno essere utilizzati kit di estrazione commerciali.

Reazione di Amplificazione e sistemi di rilevazione

Data la grande varietà di protocolli disponibili per la reazione di amplificazione e dei sistemi di rilevazione (elettroforesi su gel, elettroforesi capillare) si ritiene inopportuno stabilire una procedura analitica rigida, perciò per l'allestimento delle analisi sarà possibile utilizzare protocolli diversi, fermo restando l'impiego del pannello di microsattelliti selezionati e delle varietà testimone indicate. Nel caso in cui la varietà venga iscritta eseguendo un unico anno di prova ufficiale il costitutore dovrà comunicare il suo profilo molecolare e il protocollo analitico eseguito.

Di seguito sono elencate le sequenze dei primer per l'amplificazione di ciascun *locus* SSR (*Tabella 2*).

Tabella 2: sequenze dei primer forward e reverse per ciascun marcatore selezionato.

Marcatore SSR	Sequenza primer 5'-3'	
	Forward	Reverse
Satt129	GACCTTATTTTCAGTACAAGTCG	GGTGGAGGAGGTATCAGTTA
Satt216	TACCTTAATCACCGGACAA	AGGGAACAAACACATTTAATCATCA
Satt152	CGCTATTCTATCACAAACAC	GGGTTGTCAGTGTGTTTGTTC
AW277661	GGTGCAATTTTCTTGTTTCAG	AGTAAGACCCCGAAAGAAAG
Satt545	AGGAATCTTCATCAGGACAA	GGAAACACAAAGGAGTTGAA
Satt277	GCGGGTACTATTACTGCTG	ACTACCACGCTTCAGTTGAT
Satt680	GGGATATCGTGAGCATAGTT	CCGATTTTGGTTTCTCA
Satt177	CGTTTCATTCCCATGCCAATA	CCCGCATCTTTTTCAACCAC
Satt349	AACGACCAACAACAGCTAAT	TGCTTAACAAGTGTCTCGAA
Satt345	CTATGGCATAATTGGCTCTT	GATTTGTGGTAATCGGCTAA
Satt197	CAACCTACCACTGCTTTTTTC	GGATAAAAGATACCCCCAAC
Satt353	CATACACGCATTGCCTTTCCTGAA	GCGAATGGGAATGCCTTCTTATTCTA
Satt114	GGGTTATCCTCCCAATA	ATATGGGATGATAAGGTGAAA
Satt577	GCAAGTCTTGAGTCTTTTGTG	AGTCACATCTTCACAGCACA
Satt691	AAGATAAAAAGTAGATTGAAAGAA	ACACTCCACACCACACTACA
Satt249	GGCAACATGTAAACATGACA	CCAGTGTTGAGGGATTTAGA
Satt186	CTGCAGCTTTCACAAATCGT	AGTTTAGGTTTGACCGGAAT
Satt115	GGTTCGTTTTTTATTGATG	ACGACGAAATTGATGATAA
Satt229	CACACCTGCTAAGGGAATAA	CAACTACACTAGCATTGCATCT
Satt614	TGGTGTATGTTGCTTTTGG	CAGTGTGCTTTTGACATGAT

Riconoscimento degli alleli codificati dai marcatori SSR

I frammenti sono stati amplificati grazie all'utilizzo di primer forward, modificati aggiungendo in 3' una sequenza comune (M13 tail) di 18 paia di basi (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3').

I prodotti di amplificazione sono stati visualizzati mediante elettroforesi capillare (3500 Genetic Analyzer) e misurati impiegando il marcatore di peso molecolare 600LIZ®. Gli alleli ottenuti e alcune varietà considerate di riferimento sono elencati nella tabella seguente (*Tabella 3*).

Le misure riportate in *Tabella 3* sono state decurtate di 18 paia di basi (bp) valore corrispondente alla sequenza M13 tail impiegata per l'amplificazione dei 20 *loci* SSR e corrispondono alle misure attese derivate dall'amplificazione con primer non modificati, riportati in tabella 1.



Tabella 3: elenco degli alleli e delle varietà utilizzabili come riferimento per la loro identificazione.

Cromosoma 1		Cromosoma 2		Cromosoma 3		Cromosoma 4		Cromosoma 5	
Satt 129		Satt 216		Satt 152		AW277661		Satt 545	
Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento
183	Tea	135	Tea	215	Brillante	209	Eiko	190	Eiko
201	Eiko	186	Taira	221	Eiko	212	Ascasubi	202	Tea
				224	Tea	227	Aires	205	Aires
				242	Taira				
Cromosoma 6		Cromosoma 7		Cromosoma 8		Cromosoma 9		Cromosoma 10	
Satt 277		Satt 680		Satt 177		Satt349		Satt 345	
Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento
169	Tea	349	Tea	106	Eiko	195	Eiko	122	Tea
232	Eiko	376	Eiko	115	Tea	207	Ascasubi	152	Eiko
235	Hiroko	397	Aires			213	Tea	170	Taira
238	Ascasubi	400	Hilario						
Cromosoma 11		Cromosoma 12		Cromosoma 13		Cromosoma 14		Cromosoma 15	
Satt197		Satt353		Satt114		Satt577		Satt691	
Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento
184	Demetra	153	Tea	75	Energy	175	Tea	177	PR91M10
199	Tea	168	PR91M10	90	Brillante	181	Demetra	180	Tea
		171	Energy	102	Demetra	184	Eiko	204	Eiko
				114	Eiko			207	Celina PZO
Cromosoma 16		Cromosoma 17		Cromosoma 18		Cromosoma 19		Cromosoma 20	
Satt249		Satt186		Satt115		Satt229		Satt614	
Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento	Alleli (bp)	Varietà di riferimento
240	PR91M10	184	Tea	132	Taira	295	Tea	277	PR91M10
243	Brillante	187	Eiko	150	Tea	298	PR91M10	299	Taira
273	Tea			153	Eiko			308	Tea
279	Eiko								

L'impiego congiunto di marcatori di peso molecolare e di varietà a profilo noto consentirà la valutazione della qualità delle amplificazioni ottenute in ciascuna analisi e la ripetibilità delle misure dei frammenti per ogni marcatore nei due anni di prova.

Elaborazione dati



I dati ottenuti per le nuove varietà verranno registrate in un file Excel e successivamente rielaborate grazie all'utilizzo di software specifici per la valutazione delle distanze genetiche (Felsenstein, J. 2005. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle. Peakall, R and Smouse P.E. Mol. Ecol. Notes. (2006) 6: 288-295). I profili molecolari delle varietà saranno conservati in un database del laboratorio CREA-SCS di Tavazzano (LO) e consentiranno di completare la descrizione della varietà in aggiunta ai dati morfofisiologici.

Bibliografia

Casarini *et al.* (2008). First comparative test on DNA based methods: final report of the Variety C Working Committee Working Group. ISTA Seed Testing International n°135 April 2008.

<http://www.soybase.org/tools.php>

Doyle and Doyle (1990). Focus 12:13-15.

Hwang, T.Y., Sayama, T., Takahashi, M., et al. 2009,
Highdensity integrated linkage map based on SSR markers in soybean, DNA Res., 16, 213–25.

Choi, I.Y., Hyten, D.L., Matukumalli, L.K., et al. 2007,
A soybean transcript map: gene distribution, haplotype and single-nucleotide polymorphism analysis, Genetics, 176, 685–96.

Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A. and Cregan, P.B. 1992,
Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean, Genetics, 132, 1131–9.

Akkaya, M.S., Shoemaker, R.C., Specht, J.E., Bhagwat, A.A. and Cregan, P.B. 1995,
Integration of simple sequence repeat DNA markers into a soybean linkage map, Crop Sci., 35, 1439–45.

Maughan, P.J., Saghi Maroof, M.A. and Buss, G.R. 1995,
Microsatellite and amplified sequence length polymorphisms in cultivated and wild soybean, Genome, 38, 715–23.

Diwan, N. and Cregan, P.B. 1997,
Automated sizing of fluorescent labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean, Theor. Appl. Genet., 95, 723–33.

Cregan, P.B., Bhagwat, A.A., Akkaya, M.S. and Rongwen, J. 1994,
Microsatellite fingerprinting and mapping of soybean, Methods Mol. Cell Biol., 5, 49–61.

Song, Q.J., Marek, L.F., Shoemaker, R.C., et al. 2004,
A new integrated genetic linkage map of the soybean, Theor. Appl. Genet., 109, 122–8.

Cregan, P.B., Jarvik, T., Bush, A.L., et al. 1999,
An integrated genetic linkage map of the soybean genome, Crop Sci., 39, 1464–90.

Wang, L., Guan, R., Zhangxiong, L., Chang, R. and Qiu, L. 2006,
Genetic diversity of Chinese cultivated soybean revealed by SSR markers, Crop Sci., 46, 1032–8.

Felsenstein, J. 1989. PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5: 164-166.



Allegato. 6

COSTI DELLE PROVE PER L'ISCRIZIONE DI NUOVE VARIETÀ DI SOIA (PER ANNO E PER VARIETÀ)											
TIPOLOGIA	Spese generali di coordinamento		Prova descrittiva		Prova agronomica						TOTALI
	per varietà	A	per varietà		per parcella	per località		per varietà		TOTALI	
			B	C		D	E	F	G		
			analisi molecolare		Olio	Proteine	Analisi attitudine latte	Fattori anti-nutrizionali			
da granella: I o II anno	350,00 €	900,00 €	403,00 €	80,00 €	20,00 €	80,00 €	-	-	-	3013,00 € A+B+C+12D+4E+4F	
da latte: I o II anno	350,00 €	900,00 €	403,00 €	80,00 €	20,00 €	80,00 €	150,00 €	-	-	3163,00 € A+B+C+12D+4E+4F+G	
Basso contenuto fattori antinutrizionali: I o II anno	350,00 €	900,00 €	403,00 €	80,00 €	20,00 €	80,00 €	-	170,00 €	-	3183,00 € A+B+C+12D+4E+4F+H	
Consumo fresco compresa la tipologia "Edamame" ^{1**} : I o II anno	350,00 €	900,00 €	403,00 €	-	-	-	-	-	-	1653,00 € A+B+C	

* In caso di iscrizione nella lista "b", secondo quanto riportato al punto 4, l'importo integrativo dovuto per l'ispezione della prova del costituente è pari a 350,00 €.

