

Identifizierung von Weizensorten

Bericht über eine internationale Gemeinschaftsuntersuchung

Von H. J. van Lonkhuysen*) und J. C. Autran**)

1. Einführung

Beim Anbau neuer Weizensorten strebt man in Westeuropa besonders nach Ertragserhöhung je ha und nach Verbesserung der Erntesicherheit (Winterhärte, Krankheitsresistenz und dgl.); außerdem werden in zunehmendem Maße die Wünsche der Industrie berücksichtigt.

Von den Anbaubetrieben werden zwecks Untersuchung regelmäßig neue Sorten bei der zuständigen Behörde angemeldet. Nur wenn festgestellt wird, daß eine Sorte deutlich bessere landwirtschaftliche und verarbeitungstechnische Eigenschaften als vorhandene Sorten aufweist, erfolgt eine Aufnahme in die nationale Sortenliste und darf der Vertrieb des betreffenden Saatgutes an die Landwirtschaft erfolgen.

Trotz dieser Vorsorge können in der Praxis unerwartete Probleme auftreten. So hatten nach 1973 nahezu alle EG-Länder mit dem Problem der sogenannten „Klebeweizen“ zu kämpfen: Bestimmte Sorten ergeben beim Kneten des Mehls klebrige Teige, was bei der maschinellen Verarbeitung Probleme verursacht.

Zufälligerweise findet man diese Eigenschaft gerade bei den Sorten, die hohe Erträge liefern, so daß viel davon angebaut wird. Das Problem der Klebeweizen trat zuerst in der Bundesrepublik Deutschland auf. Diese ungewünschte Eigenschaft besaßen u. a. die Sorten Kranich, Benno und Feldkrone. In Frankreich zergliederten die Sorten Maris Huntsman und Clement denselben Nachteil. In den Niederlanden waren es die Sorten Clement und Anouska. Enthaltene Partien Weizen einer dieser Sorten, wird sie in der Regel von den Mühlen abgelehnt.

Aus diesem Grund ist es für die Mühlen wichtig, die in einer Partie Weizen vorkommenden Sorten schnell und mit Sicherheit identifizieren zu können. Dies wäre möglich an Hand äußerer (morphologischer) Kennzeichen des Weizenkorns. Diese Methode ist nicht sehr zuverlässig, da die Morphologie des Weizens von vielen Faktoren abhängig ist, wie Anbauort, angewandte Düngung und Gewächsschutzmittel.

Während einer vom „Groupement des Associations Meunières des Pays de la CEE“ im Oktober 1975 veranstalteten Sachverständigenversammlung wurde das Problem der vom Standpunkt der Mahlindustrie her unerwünschten Weizensorten besprochen. Man erachtete es als unerlässlich, daß eine allgemeine für alle EG-Länder akzeptable Methode zur Identifizierung der in einer Partie Weizen vorkommenden Sorten eingeführt werden müsse.

Im Februar 1976 wurde diesbezüglich ein *erstes Symposium in Paris* gehalten. Es war Müllerei-Sachverständigen aus Frankreich, der Bundesrepublik Deutschland, aus Großbritannien, Irland und den Niederlanden und Spezialisten von Getreide-Forschungsanstalten einiger EG-Staaten besucht wurde. Als Entwurf-Stärke-Methode wählte man die von Autran und Bourdel¹⁾ entwickelte Methode zur Identifizierung von Weizensorten durch Stärke-Elektrophorese. Diese Methode wurde wegen der langjährigen in Frankreich gesammelten Erfahrungen gewählt sowie wegen der Tatsache, daß das Identifizierungsschema auch weiteren Weizensorten aus anderen Ländern wie Frankreich²⁾ angepaßt werden kann. Die Sachverständigen vereinbarten, daß diese Methode an Hand einer international durchgeführten Gemeinschaftsuntersuchung auf Anwendbarkeit geprüft werden müsse.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung, an der sich zehn Laboratorien beteiligten, wurden während des *zweiten Symposiums*, das im September 1977 in Detmold stattfand, besprochen. Von acht Laboratorien waren die Ergebnisse nahezu identisch; die abweichenden Ergebnisse der beiden anderen Laboratorien wurden auf ungenügende Erfahrungen zurückgeführt. Der von den Teilnehmern gegebene Kommentar wurde dazu verwendet, die Methode zu verbessern. Man beschloß, eine zweite Untersuchung durchzuführen, um weiteren Laboratorien Gelegenheit zu geben, Erfahrungen zu sammeln. Ebenfalls wurde abgesprochen, daß die Versuchsmuster auch dazu verwendet werden, die in den verschiedenen Laboratorien gebräuchlichen Methoden mit der Entwurfs-Standard-Methode zu vergleichen.

Die zweite Gemeinschaftsuntersuchung fand im Sommer 1978 statt: 14 Laboratorien von Mühlen und von Getreide-Forschungsanstalten aus fünf EG-Staaten nahmen an der Untersuchung teil:

Bundesrepublik Deutschland:

1. Bundesforschungsanstalt für Getreide- und Kartoffelverarbeitung, Detmold
2. Technische Universität, München

Großbritannien:

1. The Lord Rank Research Centre, High Wycombe
2. Flour Milling and Baking Research Association, Chorleywood

Niederlande:

1. Meneba Meel B. V., Rotterdam
2. Koopmans Koninklijke Meelfabriek B. V., Leeuwarden

*) Instituut voor Graan, Meel en Brood TNO, Wageningen (Niederlande)

**) Laboratoire de Technologie des Céréales, Montpellier Cedex (Frankreich)

3. Wessanen Meel B. V., Wormerveer

4. Instituut voor Graan, Meel en Brood TNO, Wageningen

Frankreich:

1. Grands Moulins de Pantin, Paris
2. Institut Technique des Céréales et des Fourrages, Paris
3. Ecole Nationale Supérieure de Meunerie et des Industries Céréalières, Paris
4. Laboratoires ARIA, Paris
5. Laboratoires INRA, Montpellier

Belgien:

1. Laboratoire Central, Ministère des Affaires Economiques, Brüssel

Zwei Weizensorten dienten als Versuchsmuster und zwar Heima (Frankreich) und Diplomat (Bundesrepublik Deutschland). Die Sorte Capitole wurde als Bezugsmuster gewählt.

Die Ergebnisse wurden während des *dritten Symposiums* besprochen, das im Dezember 1978 in Wageningen (Niederlande) gehalten wurde. Diesem Symposium wohnten 21 Teilnehmer bei und zwar 12 Teilnehmer aus der Mühle und 9 Teilnehmer von Getreide-Forschungsanstalten. Alle teilnehmenden Laboratorien hatten Photos der erhaltenen Elektropherogramme eingeschickt. Die meisten Elektropherogramme waren von guter Qualität, mit scharf abgezeichneten Banden und einer guten Auflösung.

Von den 14 Laboratorien kamen 13 bezüglich der Elektrophorese-Muster zu übereinstimmendem Ergebnis. Die einzige Ausnahme war auf Mangel an Erfahrung zurückzuführen. Das Vermessen des Elektrophorese-Musters, d. h. Ermittlung der relativen Mobilitäten und Intensitäten der Banden, wurde eingehend besprochen. Man beschloß, die geprüfte Methode als Standard-Methode zur Identifizierung von Weizensorten zu akzeptieren. Die Sorten Diplomat und Capitole wurden als Bezugsmuster gewählt in der Absicht, daß wenigstens eine der beiden Sorten bei sämtlichen Identifizierungsprüfungen berücksichtigt wird.

2. Prinzip der Elektrophorese

Aus dem zu untersuchenden Getreidekorn wird eine bestimmte Eiweißgruppe – Gliadine – extrahiert. Eiweiße sind aus Aminosäuren aufgebaut, die jeweils eine eigene Struktur besitzen. Die Reihenfolge, in der sie im Eiweiß vorhanden sind und ihre Anzahl bestimmen die Form und elektrische Ladung des Eiweißes. Da Aminosäuren sowohl basische als auch saure Gruppen enthalten können, ist die Nettoladung eines Eiweißmolekuls vom pH-Wert der Lösung abhängig. Deshalb wird die Elektrophorese in einer Pufferlösung durchgeführt, in diesem Fall mit einem pH-Wert von 3,2. Diese Pufferlösung befindet sich in den Poren eines Stärkegels, das als Trägermaterial dient.

Unter Einfluß eines elektrischen Feldes lagern die in der Pufferlösung befindlichen Eiweißmoleküle an zu wandern. Die Transportgeschwindigkeit ist von der elektrischen Ladung der Moleküle sowie von deren Struktur und Abmessungen abhängig. Indem man nun die Elektrophorese stattfinden läßt, erhält man eine Trennung nach Ladung und Größe.

Da die Muster in Streifen in das Gel eingeführt worden sind, besteht das Elektropherogramm eines jeden Musters aus einer Reihe parallel laufender Banden. Diese Banden werden sichtbar gemacht, indem man das Gel in einer Nigrosinlösung anfarbt. Dieser Farbstoff bildet zusammen mit den Eiweißen einen blau gefärbten Komplex. Es hat sich gezeigt, daß die Stelle und die Anzahl der Banden in einem Elektropherogramm von Gliadinen kennzeichnend ist für die Weizensorte.

3. Beschreibung der Standard-Methode

Es wird ein Stärkegel zubereitet, indem man Stärke in eine Pufferlösung (Aluminiumlaktat, Milchsäure, Uream, pH 3,2) suspendiert. Anschließend wird die Suspension einige Minuten bis auf 85° C erwärmt. Das gebildete Stärkegel wird auf eine flache Glasplatte ausgegossen, die in einer Elektrophorese-Küvette liegt.

Nach Abkühlung des Gels erfolgt das Einführen der Muster. Diese Muster sind durch Quetschung der einzelnen Getreidekörner mit einem Hammer vorbereitet. Jedes einzelne Korn wird in ein kleines Probenglas gebracht, in dem sich die Extrahierlösung (2-Chloroethanol, 25% in Wasser) befindet. Nach einer Weile wird ein Filterpapierstreifen (9 x 5 mm) mit einem Eiweißextrakt befeuchtet und anschließend in eine Spalte im Stärkegel eingeführt. Nachdem alle Muster auf diese Weise eingeführt worden sind, wird über das Gel ein elektrisches Feld mit einer Spannung von etwa 9 Volt/cm angelegt.

Nach 4½ Stunden wird die Elektrophorese gestoppt. Danach werden die Eiweißbanden sichtbar gemacht, indem man die Glasplatte samt dem Gel über Nacht in einer Nigrosinlösung liegen läßt.

4. Vergleich der Standard-Methode mit anderen Techniken

Fünf Laboratorien hatten die Muster außerdem mit Hilfe einer anderen Methode der Elektrophorese untersucht. Drei davon hatten die Schnellmethode vom „Institut voor Graan, Meel en Brood TNO“ in Wageningen (Niederlande) angewendet. Bei dieser Methode wird eine wassergekühlte Elektrophorese-Kuvette benutzt. Hierdurch ist es möglich, eine höhere Spannung anzulegen, nämlich 13 Volt/cm. Nach 2½ Stunden wird die Elektrophorese beendet; das Farben dauert dann noch 15 Minuten. Die Ergebnisse stimmen sehr gut mit denen der Standard-Methode überein.

Das Laboratorium der INRA in Montpellier benutzte eine kürzlich entwickelte Polyakrylamidgel-Technik*). In einer gekühlten Spezial-Kuvette finden sowohl die Polymerisation als auch die Elektrophorese statt. Polymerisation mit Wasserstoffperoxid-Ferrosulphat-Ascorbinsäure hat den Vorteil, daß sie sehr schnell verläuft. Die Muster werden in Spalten im Gel eingeführt. Die Elektrophorese dauert sechs Stunden bei etwa 13 Volt/cm, die Platten werden während einer Nacht in

Coomassie-Brilliantblau gefärbt. Polyakrylamidgelen lassen sich etwas einfacher reproduzieren als Starkegele. Das Auflösungsvermögen ist augenscheinlich auch besser, besonders im Gebiet der α -, β - und γ -Gliadine.

5. Literatur

1. Aulran, J. C. et A. Bourdet: Identification des variétés de blé: établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain - Ann. Amélior. Plantes 25 (1975) 3, p. 277-301
2. Aulran, J. C.: Identification des principales variétés communautaires de blé tendre par électrophorese des gliadines du grain - Bull. Anc. Elèves ENSIC (1975) 270, p. 316-324
3. Van Lonkhuyzen, H. J., und J. P. Marseille: Schnellmethode zur Identifizierung von Weizenorten durch die Starkegel-Elektrophorese - Getreide, Mehl und Brot 32 (1976), S. 146-149
4. Bushuk, W., and R. R. Zillmann: Wheat cultivar identification by gliadin electropherograms - Can. J. Plant Sci. 58 (1978), p. 505-515

Technik

Verfahren · Kontrollen · Produktion

Französische Windmühlen

Die Koker- oder „cavier“-Mühlen des Anjou

Die ehemalige Provinz Anjou ist seit der Revolution mehr oder weniger in das Département Maine et Loire einbezogen. Sie liegt an der Loire zwischen Nantes (Hauptstadt von Nieder-Britannien) und Tours (Hauptstadt von Touraine).

Hier standen früher viele Windmühlen, über 1000 sind nachgewiesen und noch heute findet man die Reste von ungefähr 500. Diese Vielzahl läßt sich leicht erklären. Es gibt sehr wenige nutzbare Flüsse, und die Landwirtschaft besteht aus vielen kleinen Bauernhöfen, obwohl die Erde fruchtbar ist. Die Dörfer haben kein Zentrum wie anderswo, die Höfe liegen überall verstreut, und die Windmühlen dienen meist zwei oder drei Familien.

Hier entwickelte sich eine Art Windmühle, die für Frankreich – und sogar für ganz Europa – ein Unikum darstellt. Sie ist rein technisch mit den Kokermühlen von Holland, Deutschland und Schweden verwandt. In dieser Gruppe gibt es zwei unterscheidbare Teile: ein kastenartiges drehbares Häuschen, in dem sich nur die Weile, das Kamrad und das Stockgetriebe befinden. Die senkrechte Achse ist sehr lang und treibt direkt ohne weitere Getriebe die Mühlsteine, die sich in dem unteren, gemauerten Teil der Mühle befinden.

Im großen und ganzen sind alle Kokermühlen so, warum sind die des Anjou nun eigenartig? Zuerst dienen alle als *Mehl-Mühlen*, sie wurden überhaupt nicht für Entwässerungszwecke gebaut. Zweitens bestehen sie aus drei und nicht nur zwei zu unterscheidenden Teilen: a) dem Kasten („Hucherolle“), b) dem konischen Socket aus Stein („massereau“ oder „cone“), in dem sich der eigentliche Koker befindet und der keinem anderen Zweck dient als dem Durchgang der senkrechten Achse und deren Unterstützung durch eine Art Ständer, wie in einer Bockmühle und c) der „masse“ oder „cave“ („cave“ bedeutet Keller).

Dieser Teil ist der bedeutendste. In den meisten Fällen besteht er aus einem künstlichen Hügel, der rund oder viereckig sein kann. Obwohl im Innern aus Stein gebaut, sieht man von außen nur einen mit Erde bedeckten Hügel und Stützmauern aus Stein. Der Mahtraum befindet sich immer im Mittelpunkt dieses dritten Teils. Der konische Koker sieht nicht auf dem Erdhügel sondern wird bis zum Boden verlängert und bildet die runden Umfassungsmauern des zentral liegenden Mahtraumes. Von diesem runden Zentralraum aus erstrecken sich ein oder mehrere Gewölbe wie in einer Mine oder in der Untergrundbahn. Diese dienen Nebenzwecken der Mühle, wie z. B. dem Aufbewahren von Mehlsäcken oder Weinfässern (die meisten Müller waren auch Weinbauern), hier stand ein Backofen oder wohnten der Müller und der Geselle. Im Unterteil der Mühle zu Turquant (Moulin de la Herpinierie) gibt es nicht weniger als 17 verschiedene Arbeitsflächen, teils unterirdisch.

Die drei Teile einer „cavier“-Mühle waren alle direkt zugänglich: Im Unterteil hatte mindestens eines der Gewölbe eine Tür in der Unterstützungsmauer. Eine Wendeltreppe (in wenigen Fällen im Innern vom Mahtraum zum Unterteil des Kokers) führte auf den flachen Erdhügel. Hier befand sich die steile Außentreppe, die zwei Zwecken diente: dem Drehen des Kastens und als dessen Zugang. Sie ist ungefähr 7,50 m lang und hat etwa 25 Stufen.

Eine gewöhnliche „cavier“-Mühle besitzt ein Paar Steine, die einen Durchmesser von fast 2 m haben. Die auf Seite 679 der MÜHLE + MISCHFUTTERTECHNIK vom 19. Oktober 1972 abgebildete Mühle (Moulin du Fresne zu Savennières) kann als typisch betrachtet werden. Obwohl mein lieber Mühlenfreund Dr. Gleisberg sie als „klein“ betrachtet, hat sie dennoch eine gewisse Höhe: Vom Boden bis zum Gipfel des Kastens sind es 12 m. Der Koker oder „massereau“ ist 4,40 m hoch mit einem Durchmesser oben von 1,80 m und 2,80 m unten, wo die Mauer 70 cm dick ist. Der Kasten ist fast kubisch: 2,85 m × 2,60 m × 2,50 m, das Dach ist 1,80 m hoch.

Wie sieht es mit der Mühlenerhaltung in dieser Gegend? Seit einigen Jahren gibt es dort einen Verein, der sich mit der Restaurierung der Windmühlen beschäftigt. Amis des Moulins d'Anjou (A.M.A.), 17 rue de la Madeleine, F-49000 Angers. Von den dortigen Behörden hat er für fünf Jahre gewisse Summen erhalten, um damit einen „Rettenungsplan“ auszuarbeiten.

Abb. 1 zeigt die von A.M.A. im Jahr 1980 wiederhergestellte Mühle von Saint-Saturnin-sur-Loire. In diesem Dorf gibt es drei weitere Mühlen desselben Typs. Die Flügel drehen sich erstmals wieder seit ungefähr vierzig Jahren. Andere Windmühlen wurden bereits 1980 oder werden 1981 restauriert: Concourson sur Layon (cavier), Brissac (cavier), Savennières (cavier), Turquant (cavier), St. Remy-la-

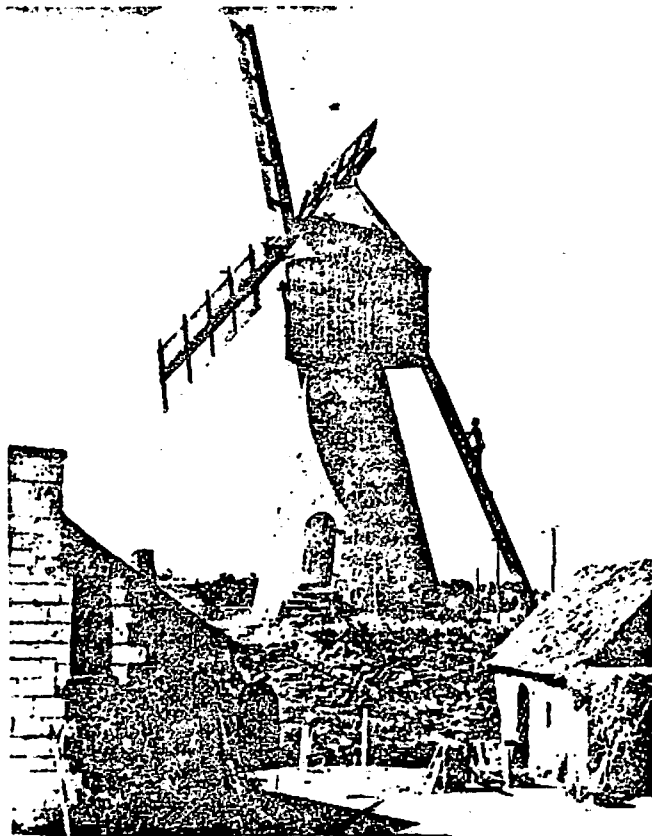


Abb. 1. „Cavier“-Mühle in Saint-Saturnin-sur-Loire. Seit dem 14. September 1980 können sich die Flügel wieder drehen. Foto: A.M.A., Angers

Title : Identification of wheat varieties: ECC collaborative tests.

Drafted by : H.J. van Lonkhuisen and J.C. Autran.

1. Introduction

Recent developments in cereal cultivation have made it necessary for the milling industry to be able to determine a cereal variety before processing. New varieties are registered in the Catalogue of Varieties of Cereal Species on the basis of agriculturally attractive properties, such as resistance to disease and high yield. During processing, however, certain problems arise. For example, since 1973 nearly all EC countries have encountered the problem of wheat varieties which give doughs, which become sticky during mixing and subsequent handling and which are consequently difficult to process in the bakery. These varieties have undergone rapid expansion owing to their high yield level.

The problem was first encountered in W. Germany, where the Kranich, Benno and Feldkrone varieties, to mention just a few, were found to have these undesirable properties. In France the same problem was found with Maris Huntsman and Clement, in the UK with Maris Huntsman and in the Netherlands with Clement and Anouska. Wheat lots containing these varieties are usually refused by the flour milling industry.

For these reasons it is important to be able to quickly determine which variety is present in a batch of wheat. In many cases a batch is made up of a mixture of different varieties, and then it must be possible to determine the composition.

Diagrams have been drawn up to determine the variety of the different cereal species on the basis of morphological characteristics of grain. For wheat varieties such diagrams are less reliable, because in the case of wheat the morphology of the grain depends, among other things, on the place of growth, the fertilizers used and treatment with crop protectants.

During the meeting of the experts of the "Groupement des Associations Meunières des Pays de la CEE" in October 1975, the problem of the unwanted wheat varieties was discussed.

It is considered as an urgent necessity that a common method to identify wheat varieties should be agreed upon which could also be accepted at EC level. A symposium on the subject was held in Paris on February 24 and 25, 1976. It was attended by 26 persons, who either represented the milling

industries of France, W-Germany, the United Kingdom, Ireland and the Netherlands, or were specialists from the cereal laboratories of a number of EC countries.

Autran and Bourdet's identification method (1), which made use of electrophoresis, was adopted as a draft standard method. The reasons for this choice were the long experience with the method in France, and the applicability of the relative mobility system to wheat varieties from other European countries. Dr. Autran proved this by supplying a key to the identification of some 80 varieties (2).

It was agreed that the method should be subjected to an international interlaboratory test.

The results of this test, which was carried out by 10 institutes with two wheat varieties, were discussed during a second symposium held in Detmold on September 27 and 28, 1977. Eight of the participants obtained nearly identical results, and the deviating results of the other two could probably be attributed to insufficient experience. The comments made on the interlaboratory test were used to improve the method, and a second test was decided upon, giving more laboratories an opportunity to gain experience. The participants also agreed to use the test samples for comparisons of the draft method with methods of their own, if available.

2. The second interlaboratory test

The second test took place in summer of 1978. Fourteen laboratories of the milling industry and cereal institutes in 5 ECC-countries took part in the test. These were:

France

1. Grands Moulins de Pantin, Paris
2. Institut Technique des Céréales et des Fourrages, Paris
3. Ecole Nationale Supérieure de Meunerie et des Industries Céréalières, Paris
4. Laboratoires ARIA, Paris
5. Laboratoires INRA, Montpellier

Belgium

1. Laboratoire Central, Ministère des Affaires Economiques, Brussels.

Germany

1. Bundesforschungsanstalt für Getreide- und Kartoffelverarbeitung, Detmold
2. Technische Universität, München

Great Britain

1. The Lord Rank Research Centre, High Wycombe
2. Flour Milling and Baking Research Association, Chorleywood

The Netherlands

1. Meneba Meel B.V., Rotterdam
2. Koopmans Koninklijke Meelfabrieken B.V., Leeuwarden
3. Wessanen Meel B.V., Wormerveer
4. Instituut voor Graan, Meel en Brood TNO, Wageningen.

Two varieties were chosen to be tested: HEIMA (France) and DIPLOMAT (Germany). The CAPITOLE variety was chosen as a reference. All participants submitted photographs of their results. In most cases the patterns were of good quality, showing sharp bands and good resolution (fig. 1).

The results of the inetrlaboratory test were discussed at the third symposium on electrophoresis, which was held in Wageningen, december 1978. There were 21 participants, viz. 12 from the milling industry and 9 from cereal research institutes in France, the United Kingdom, W. Germany, Belgium and the Netherlands. They arrived at the following conclusions :

Ignoring traces, 13 out of 14 laboratories arrived at the same patterns. The exception was obviously due to lack of practical experience. The evaluation of the electrophoretic pattern, i.e. attaching values to the relative mobilities and intensities, remains a point of discussion.

Within this group the method used was agreed to be the standard method for starch-gel electrophoresis of the proteins of wheat grain. It was decided to adopt Diplomat and Capitole as reference varieties to be included in all identification tests. Photographs of electrophoresis patterns of these varieties were promised to be made available by Dr. Autran.

3. Principle

A specific group of proteins is dissolved from the cereal grain to be tested. These proteins, the gliadines, are all more or less of the same size and as far as their composition is concerned they greatly resemble one another.

Proteins are built up of amino acids, each with their own structure and electrical charge. The constituent amino determine the structure and electrical charge of a protein molecule. Because the amino acids contain both acidic and basic groups, the net charge of a protein molecule can be influenced by the pH of the solution. That is why proteins are always subjected to electrophoresis in a solution with a fixed pH, a so-called buffer solution. In our case we use a buffer consisting of a solution in water of aluminium lactate, lactic acid and urea; the pH of this mixture is 3.25. The buffer is contained in the pores of the support material, in this case a starch gel. It is as if the buffer has been absorbed in a sponge.

Under the influence of an electrical field the dissolved protein molecules start to migrate; this phenomenon is called electrophoresis. The speed at which the protein molecules migrate depends on the magnitude of their electrical charge, their structure and dimensions. By allowing electrophoresis to continue for several hours, a separation is obtained between the different protein molecules according to their dimensions and electrical charge.

4. Procedure of the standard method

The starch gel is prepared by heating starch suspended in the buffer solution to appr. 85°C. The starch gelatinizes giving a gel. This gel is poured into a flat glass plate lying in an electrophoresis tray.

Once the gel has cooled down and hardened, the samples are introduced. These samples are prepared by crushing a single cereal grain at a time with a small hammer. Each crushed grain is placed in a test tube containing extraction fluid (a solution of 25 % 2-chlorethanol in water). A little later a small rectangle of filter paper (9 x 5 mm) is moistened with the protein extract. The piece of filter paper is then inserted into a slit in the gel. After all the samples have been inserted in this way, the voltage is connected up. After 4, 5 hours electrophoresis is complete. The glass plate with the gel on it is stained in a solution of nigrosine for some time. This dye forms a grey blue complex with proteins. Because the samples have been inserted stripwise, the electrophoresis pattern of each sample consists of a series of parallel bands.

5. Results obtained with other methods

Five laboratories reported additional results, which had been obtained by different methods.

- Three of these had used the rapid method of the Institute of Cereals, Flour and Bread TNO, Wageningen (3). This method involves the use of several small trays into which the starch gel is poured, the bottom of which are cooled by water. Extraction takes 15 min., electrophoresis 2.5 hours at 13 volts/cm and colouring 15 min. The results obtained agreed very well with those from standard method.

- The laboratory of INRA, Montpellier, tried a polyacrylamide gel method (4). It involves the use of special cooling trays allowing gel polymerization and electrophoresis. Polymerization with hydrogen peroxide-ferrous sulphate-ascorbic acid is essentially instantaneous. Samples solutions are applicated into slots moulded during gel polymerization. Electrophoresis, without prerun, is continued for 6 hours at 74 mA (about 13-14 volts/cm) and patterns are stained overnight by Coomassie Blue.

It is easier to prepare reproducible highly uniform polyacrylamide gels than starch gels and owing to a usually higher resolving power, good resolution can be attained especially in the α -, β - and γ - gliadins.

6. References

1. Autran J.-C., Bourdet A., L'identification des varietés de blé: établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain. Ann. Amélior. Planted 25 (3) 277-301 (1975).
2. Autran J.-C., Identification des principales variétés communautaires de blé tendre par électrophorèse des gliadines du grain, Bull. Anc. Elèves ENSMIC 270, 316-324 (1975).
3. Van Lonkhuysen, H.J. and Marseille J.P., Schnellmethode zur Identifizierung von Weizensorten durch die Stärkegel-Elektrophorese, Getreide, Mehl und Brot 32, 146-149 (1978).
4. Bushuk, W. and Zillman R.R., Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. Can. J. Plant Sci. 58, 505-515 (1978).