

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства аграрної політики та
продовольства України
від 12.07.2024 № 2069

**Методика
визначення відповідності сортів кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.) критеріям
відмінності, однорідності та стабільності**

1. Методика визначає особливості проведення досліджень із встановлення відповідності сортів кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.) (за винятком декоративних сортів) критеріям відмінності, однорідності та стабільності (далі – Методика).

2. Методика поширюється на Український інститут експертизи сортів рослин (далі – Інститут).

3. Терміни вживаються у значеннях, наведених у Законі України «Про охорону прав на сорти рослин».

4. Інститут забезпечує проведення кваліфікаційної експертизи відповідності сортів кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.) критеріям відмінності, однорідності та стабільності (далі – Експертиза).

5. Для дослідження використовують насіння.

Компетентний орган визначає кількість, якість, дату й місце постачання насіння для дослідження.

Мінімальна кількість насіння на один пункт дослідження Інституту становить:

0,3 кг (750 шт. насінин) для інбредних ліній;

0,5 кг для гібридів і перехреснозапильних сортів.

При Експертизі гібридів додатково надають 750 шт. насінин (0,3 кг) кожного батьківського компоненту.

Для проведення Експертизи використовується насіння здорове на вигляд, не уражене хворобами, не пошкоджене шкідниками та яке відповідає вимогам, встановленим Компетентним органом.

Насіння для дослідження не обробляється.

6. Дослідження тривають два незалежні вегетаційні цикли, за необхідності Експертизу продовжують на третій.

Для проведення Експертизи гібридів разом з гібридом, заявленим для набуття прав, надаються батьківські компоненти: для простого гібрида – дві вихідні лінії, трилінійного гібрида – простий гібрид та три лінії, подвійного гібрида – два простих гібриди та чотири лінії, які є складовими простих гібридів. Якщо гібрид, який подається для набуття прав, містить у

своєму складі зареєстровану лінію (успішно пройшла Експертизу і має офіційний морфологічний опис) – польові дослідження зазначеної вище лінії тривають один незалежний цикл.

У випадку, якщо лінія як батьківський компонент, входить до складу декількох гібридів одного заявника, польові дослідження з визначення ознак, наведених у пункті 7 даної Методики, здійснюють один раз.

Якщо вихідна лінія, як батьківський компонент є стерильною, тривалість дослідження становить тільки один незалежний вегетаційний цикл. У випадку, коли вихідна лінія, яка підтримує стерильність, є фертильна, заявник повинен заявити про це, дана лінія має бути досліджена два незалежні вегетаційні цикли.

Експертизу проводять у двох пунктах дослідження Інституту (основному та додатковому).

Експертиза на додатковому пункті дослідження здійснюється за клопотанням заявника для врахування результатів досліджень на випадок форс-мажорних обставин на основному пункті дослідження.

Дослідження виконують за умов, що забезпечують задовільний ріст і розвиток рослин, та достатнє проявлення характерних ознак сорту.

Оптимальну стадію розвитку рослин для оцінки кожної ознаки вказано в другій колонці Таблиці ознак сортів кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.) (далі – Таблиця ознак) та примітці до неї (додаток до цієї Методики).

Планують такий розмір ділянок, щоб вилучення рослин або їхніх частин для вимірювань і підрахунків не шкодило б обстеженням, які тривають до кінця циклу вирощування. Кожне дослідження включає 40 рослин для інбредних ліній і простих гібридів; 60 рослин для інших типів гібридів і вільнозапилених сортів, розділених на два повторення.

Під час Експертизи можуть бути проведені додаткові дослідження для перевірки відповідних морфологічних ознак.

Опис морфологічних ідентифікаційних ознак сорту здійснюють методом візуальної оцінки та за допомогою вимірювань чи підрахунків залежно від типу проявлення ознак (якісні – QL, кількісні – QN, псевдоякісні – PQ). Тип проявлення ознаки зазначається в першій колонці Таблиці ознак (додаток до цієї Методики).

7. Ознаки, що використовують для оцінки відмінності, однорідності й стабільності та ступінь їх проявлення наведені в другій, третій колонках Таблиці ознак (додаток до цієї Методики). Кожному ступеню проявлення ознаки присвоєно коди (1–9), необхідні для електронного опрацювання даних. Сукупність цих кодів складає кодову формулу сорту і використовується для формування групи подібних сортів.

8. Сорт відповідає умові відмінності, якщо за проявленням ознак він чітко відрізняється від будь-якого іншого сорту, загальновідомого до дати, на яку заявка вважається поданою. Оцінку на відмінність проводять після отримання результатів морфологічного опису першого року. Якщо такий досліджуваний сорт може бути вирізненим з-поміж загальновідомих сортів методом порівняння їхніх описів, то він є відмітним.

Коли неможливо чітко вирізнити досліджуваний сорт серед загальновідомих за морфологічною кодовою формулою, його необхідно наступного року порівняти в польовому дослідженні.

Оцінка відмінності гібридів, попередня експертиза батьківських ліній за кодовою формулою може бути здійснена відповідно до наступних рекомендацій:

опис батьківських ліній відповідно до Методики;

перевірка оригінальності (відмінності) батьківських ліній у порівнянні з довідково-інформаційним фондом, за ознаками, наведених в другій колонці Таблиці ознак (додаток до цієї Методики) для перевірки найближчих інбредних ліній;

перевірка оригінальності (відмінності) формули гібрида в порівнянні з загальновідомими гібридами з урахуванням найближчих інбредних ліній;

оцінка відмінності на рівні гібриду з близькою формулою.

9. Сорт вважається однорідним, якщо з урахуванням особливостей його розмноження рослини сорту залишаються достатньо подібними за своїми основними ознаками, визначеними під час морфологічного опису.

Для оцінки однорідності інбредних ліній і простих гібридів приймається популяційний стандарт 3 % за рівня ймовірності 95 %. У вибірці зі 40 рослин допускаються три нетипові.

Крім того, той самий популяційний стандарт і рівень ймовірності приймається у випадку дослідження інбредних ліній перехреснозапилених рослин, материнських ліній простих гібридів (різниця висоти рослин, розміру качана, скоростиглості досліджується через поліморфізм ізоферментів).

Для оцінки однорідності інших типів гібридів і вільнозаплених сортів використовують відносні межі мінливості методом порівняння з достатньо вивченими сортами.

Нетипові рослини позначають стрічками, етикетками тощо. За відсотком нетиповості встановлюють однорідність сорту.

10. Сорт вважається стабільним, якщо його основні ознаки, відзначені в описі, залишаються незмінними після неодноразового розмноження чи, у разі особливого циклу розмноження, в кінці кожного такого циклу.

Коли сорт однорідний, він вважається стабільним.

У разі необхідності можуть бути проведені дослідження з експертизи на стабільність.

Стабільність батьківських ліній або перехреснозапильних сортів, за необхідності, може бути перевірена вирощуванням наступного покоління або випробуванням нового насіння, щоб переконатися, що воно демонструє ті самі ознаки та ступені їх проявлення, які отримано за попереднім наданим насінням.

Дослідження стабільності гібрида, за необхідності, проводять шляхом визначення однорідності й стабільності його батьківських компонентів.

11. Досліджувані сорти групують із подібними загальновідомими сортами на групи для полегшення оцінки відмінності. Для групування використовують ознаки, які не варіюють або дуже слабо варіюють у межах сорту. Ці ознаки можуть бути використані окремо або в комбінаціях з іншими.

Для групування рекомендовано такі ознаки:

волоть: час цвітіння (ознака 8 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

волоть: антоціанове забарвлення основи колоскової луски (ознака 9 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

волоть: антоціанове забарвлення колоскових лусок за винятком основи (ознака 10 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

волоть: антоціанове забарвлення пиляків (ознака 11 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

волоть: кількість первинних бічних гілочок (ознака 14 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

качан: час появи шовку (ознака 15 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

качан: антоціанове забарвлення шовку (ознака 16 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

лише для інбредних ліній та сортів з цукровим або розлусним типом зернівки. Рослина: за довжиною (ознака 24.1 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

лише для гібридів і сортів, які вільно запилюються, за винятком сортів з цукровим або розлусним типом зернівки. Рослина: за довжиною (ознака 24.2 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

качан: за довжиною (ознака 28 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

качан: діаметр (посередині) (ознака 29 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

качан: форма (ознака 30 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

качан: кількість зернових рядів (ознака 31 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

лише для сортів з цукровим або восковим типом зернівки. Качан: кількість забарвлень зерен (ознака 32 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики));

лише для сортів з цукровим типом зернівки. Зернівка: інтенсивність жовтого кольору (ознака 33 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики);

лише для сортів з цукровим типом зернівки. Зернівка: за шириною (ознака 35 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики);

качан: тип зернівки (ознака 36 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики);

тільки сорти з цукровим типом зернівки. Качан: зморшкуватість верхівок зернівок (ознака 37 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики);

качан: забарвлення верхівки зернівки (ознака 38 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики);

за винятком сортів з цукровим типом зернівки. Качан: забарвлення низу зернівки (ознака 39 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики);

качан: антоціанове забарвлення лусок стрижня (ознака 41 Таблиці ознак (додаток до цієї Методики).

Для чіткої реєстрації проявлення ознак поряд із досліджуваними сортами рекомендовано висівати сорти-еталони.

**Директор Департаменту
аграрного розвитку**

Ігор ВІШТАК

Додаток
до Методики визначення відповідності сортів
кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.) критеріям
відмінності, однорідності та стабільності

Таблиця ознак сортів кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.)

№ з/п	Ознака	Ступінь проявлення ознаки	Код прояву ознаки	Сорт-еталон
1	2	3	4	5
1. QN	Перший листок: антоціанове забарвлення підви VG, (S) 14	відсутнє або дуже слабке	1	0674, Jubilee (SC)
		слабке	3	MO17, Puma (SC)
		помірне	5	Gyöngymazsola (SC), F252
		сильне	7	F244
		дуже сильне	9	
2. (+) PQ	Перший листок: форма верхівки VG 14	загострена	1	
		від загостреної до округлої	2	0674
		округла	3	Empire (SC), F816
		від округлої до лопатоподібної	4	F259, Merkur (SC)
		лопатоподібна	5	EP1
3. QN	Листок: інтенсивність зеленого забарвлення VG 51–59	слабка	1	W 182E
		помірна	2	Empire (SC), F816
		сильна	3	GSS 3287 (SC), W401
4. (+) QN	Листок: хвилястість краю пластинки VG (a) 51–59	відсутня або дуже слабка	1	F2
		помірна	2	F252, Puma (SC)
		сильна	3	Empire (SC), F259
5. (+)	Листок: кут між листковою пластинкою і	дуже малий	1	
		малий	3	A188

1	2	3	4	5
QN	стеблом VG (a) 65–69	середній	5	F66, GH2547 (SC)
		великий	7	F186, Spirit (SC)
		дуже великий	9	
6. (+) QN	Листок: положення пластинки в просторі VG (a) 65–69	пряме або дуже ледь похиле	1	WD36
		ледь похиле	3	A654, Bonus (SC)
		помірно похиле	5	Jubilee (SC), W117
		сильно похиле	7	W79A
		поникле	9	
7. QN	Стебло: зигзагоподібність VG 65–69	відсутня або дуже слабка	1	F2
		слабка	2	F186
		сильна	3	F66
8. (*) (+) QN	Волоть: час цвітіння MG (b)	дуже ранній	1	
		від дуже раннього до раннього	2	KW1069, Spirit (SC)
		ранній	3	Champ (SC), F257
		від раннього до середнього	4	Centurion (SC), F259
		середній	5	F522, Zenith (SC)
		від середнього до пізнього	6	A632
		пізній	7	B73
		від пізнього до дуже пізнього	8	AM1513
		дуже пізній	9	
9. (*) (+) QN	Волоть: антоціанове зabarвлення основи колоскової луски VG, (S), (b) 65–69	відсутнє або дуже слабке	1	Royalty (SC), W117
		слабке	3	Boston (SC), F66
		помірне	5	F107
		сильне	7	EP1
		дуже сильне	9	

1	2	3	4	5
10. (+) QN	Волоть: антоціанове забарвлення колоскових лусок за винятком основи VG (S), (b) 65–69	відсутнє або дуже слабе	1	Empire (SC), F259
		слабе	3	F2, Royalty (SC)
		помірне	5	Centurion (SC), WD36
		сильне	7	W79A
		дуже сильне	9	
11. (+) QN	Волоть: антоціанове забарвлення пиляків VG, (S), (b)	відсутнє або дуже слабе	1	A654, Empire (SC)
		слабе	3	F2, Royalty (SC)
		помірне	5	Centurion (SC), W182E
		сильне	7	
		дуже сильне	9	
12. (*) (+) QN	Волоть: кут між головною віссю та бічними гілочками VG, (c) 65–69	дуже малий	1	
		малий	3	F492
		середній	5	EP1, Mv. Aranyos (SC)
		великий	7	Bonus (SC), F186
		дуже великий	9	
13. (*) (+) QN	Волоть: положення бічних гілочок у просторі VG, (S), (c) 69	пряме або дуже ледь похиле	1	El Toro (SC), F257
		ледь похиле	3	Empire (SC), F816
		помірно похиле	5	Bonus (SC), F182E
		сильно похиле	7	F66
		поникле	9	
14. (*) QN	Волоть: кількість первинних бічних гілочок MS/VG 65–75	відсутня або дуже мала	1	F7
		мала	3	Mv. Aranyos (SC), F252
		середня кількість	5	F244, Kokanee (SC)
		велика	7	A188, Zenith (SC)
		дуже велика	9	Suregold (SC)
15. (+) QN	Качан: час появи шовку MG	дуже ранній	1	Mv. Aranyos (SC)
		від дуже раннього до раннього	2	KW1069, Spirit (SC)
		ранній	3	Champ (SC), F257

1	2	3	4	5
		від раннього до середнього	4	F259, Royalty (SC)
		середній	5	Bonus (SC), F522
		від середнього до пізнього	6	A632
		пізній	7	B73
		від пізнього до дуже пізнього	8	AM1513
		дуже пізній	9	
16. (*) QN	Качан: антоціанове забарвлення шовку VG, (S) 65	відсутнє або дуже слабе	1	Bonus (SC), F7, F195
		слабе	3	El Toro (SC), F257
		помірне	5	Gyöngymazola (SC), F244
		сильне	7	W401
		дуже сильне	9	
17. (+) QN	Стебло: антоціанове забарвлення повітряних коренів VG, (S) 65–75	відсутнє або дуже слабе	1	F16, Jubilee (SC)
		слабе	3	Puma (SC), W117
		помірне	5	El Toro (SC), WD36
		сильне	7	EP1
		дуже сильне	9	
18. QN	Волоть: розташування колосків за щільністю VG, (b) 61–71	нещільне	3	F16
		середньої щільності	5	EP1, Royalty (SC)
		щільне	7	Empire (SC), F259
19. (+) QN	Листок: антоціанове забарвлення піхви VG, (S) 71–75	відсутнє або дуже слабе	1	Jubilee (SC), W401
		слабе	3	F107
		помірне	5	F257
		сильне	7	EP1
		дуже сильне	9	

1	2	3	4	5
20. (+) QN	Стебло: антоціанове забарвлення міжвузлів VG, (S) 71–75	відсутнє або дуже слабе	1	Jubilee (SC), F259
		слабе	3	F816
		помірне	5	W79A
		сильне	7	F257
		дуже сильне	9	
21. (+) QN	Волоть: головна вісь за довжиною (від нижньої бічної гілочки до верхівки) MS 71–75	дуже коротка	1	
		коротка	3	EP1
		середня	5	Bonus (SC), F244
		довга	7	Empire (SC), F492
		дуже довга	9	
22. (*) (+) QN	Волоть: головна вісь за довжиною (від верхньої бічної гілочки до верхівки) MS 71–75	дуже коротка	1	
		коротка	3	EP1
		середня	5	W182E
		довга	7	F492
		дуже довга	9	
23. QN	Волоть: бічна гілочка за довжиною MS, (с) 71–75	дуже коротка	1	
		коротка	3	EP1
		середня	5	A632
		довга	7	F492
		дуже довга	9	
24.1 (*) (+) QN	Лише для інбредних ліній та сортів з цукровим або розлусним типом зернівки. Рослина: за довжиною MS 75–85	дуже коротка	1	F7
		коротка	3	Spirit (SC), W117
		середня	5	F244, Puma (SC)
		довга	7	Royalty (SC), WD36
		дуже довга	9	Enterprise (SC)
24.2	Лише для гібридів і	дуже коротка	1	

1	2	3	4	5
(*) (+) QN	сортів, які вільно запилюються, за винятком сортів з цукровим або розлусним типом зернівки. Рослина: за довжиною MS 75–85	коротка	3	PR39D23
		середня	5	PR37Y12
		довга	7	DKC5166
		дуже довга	9	
25. (+) QN	Рослина: співвідношення висоти прикріплення верхнього качана до довжини рослини MG, 75–85	дуже мале	1	Gyöngymazsola (SC)
		мале	3	F816, Spirit (SC)
		середнє	5	F252, Royalty (SC)
		велике	7	F481
		дуже велике	9	
26. QN	Листок: пластинка за шириною MS, (a) 75–85	дуже вузька	1	
		вузька	3	Champ (SC), F16
		середня	5	Empire (SC), F244
		широка	7	Centurion (SC), F481
		дуже широка	9	
27. QN	Качан: ніжка за довжиною VG 75–85	дуже коротка	1	
		коротка	3	Centurion (SC), F259
		середня	5	A654, Jubilee (SC)
		довга	7	F107
		дуже довга	9	
28. (*) (+) QN	Качан: за довжиною MS, 92–93 для цукрової 75–79	дуже короткий	1	
		короткий	3	F2
		середній	5	A654, Spirit (SC)
		довгий	7	Empire (SC), M017
		дуже довгий	9	
29.	Качан: діаметр	дуже малий	1	

1	2	3	4	5
QN	(посередині) MS, 92–93 для цукрової 75–79	малий	3	F7
		середній	5	W117
		великий	7	Centurion (SC), F481
		дуже великий	9	Empire (SC)
30. (+) QN	Качан: форма VG, 92–93 для цукрової 75–79	конусна	1	F16, Wombat (SC)
		конусно-циліндрична	2	Centurion (SC), F816
		циліндрична	3	F66, GH2547 (SC)
31. QN	Качан: кількість зернових рядів MS, 92–93 для цукрової 75–93	дуже мала	1	
		мала	3	F257
		середня	5	Dessert 73 (SC), F16
		велика	7	B73, Bonus (SC)
		дуже велика	9	
32. QL	Лише для сортів з цукровим або восковим типом зернівки. Качан: кількість забарвлень зерен VG, (S), (e), 75–79	одне	1	Jubilee (SC)
		два	2	Eolrukchal-ilho, Serendipity (SC)
33. (*) QN	Лише для сортів з цукровим типом зернівки. Зернівка: інтенсивність жовтого кольору VG, (e) 75–79	слабка	3	Gyöngymazsola (SC)
		помірна	5	Royalty (SC)
		сильна	7	Kokanee (SC)
34. QN	Лише для сортів з цукровим типом зернівки. Зернівка: за довжиною VG, (d) 75–79	коротка	3	
		середня	5	Boston (SC)
		довга	7	GH5704 (SC)

1	2	3	4	5
35. (+) QN	Лише для сортів з цукровим типом зернівки. Зернівка: за шириною VG, (d) 75–79	вузька	3	Bonus (SC)
		середня	5	Jubilee (SC)
		широка	7	Mv. Aranyos (SC)
36. (*) (+) QL	Качан: тип зернівки VG, (S), (d), (e) 92	кременистий	1	F2
		кременистоподібний	2	F252
		проміжний	3	F107
		зубовидноподібний	4	A654
		зубовидний	5	W182E
		цукровий	6	Jubilee (SC)
		розлусний	7	Iowa Pop (PC)
		восковий	8	
		борошнистий	9	
37. (*) (+) QN	Тільки сорти з цукровим типом зернівки. Качан: зморшкуватість верхівки зернівок VG, (d), (e) 92	слабка	1	Zarja (SC)
		помірна	3	Merkur (SC)
		сильна	5	Dessert 73 (SC)
38. (*) PQ	Качан: забарвлення верхівки зернівки VG, (S), (d), (e) 92–93	біле	1	Pure white (SC), Snowbelle (SC), A188
		жовтувато-біле	2	
		жовте	3	F259
		жовто-оранжеве	4	Gyöngymazsola (SC), F2
		оранжеве	5	F257, GH 2547 (SC)
		червоно-оранжеве	6	Dynasty (SC)

1	2	3	4	5
		червоне	7	
		пурпурове	8	
		коричнювате	9	Zenith (SC)
		синьо-чорне	10	Miheukchal
39. (*) PQ	За винятком сортів з цукровим типом зернівки. Качан: забарвлення низу зернівки VG, (S), (d), (e) 92–93	біле	1	F481
		жовтувато-біле	2	A188
		жовте	3	
		жовто-оранжеве	4	F66
		оранжеве	5	EP1
		червоно-оранжеве	6	
		червоне	7	
		пурпурове	8	
		коричнювате	9	
		синьо-чорне	10	
40. (+) QN	Лише для сортів з розлусним типом зернівки. Зернівка: тип розлуснення VG 93	метелик	1	Robust 97461 (PC)
		проміжний	2	
		кулястий	3	Robust 90252 (PC)
41. (*) (+) QN	Качан: антоціанове забарвлення лусок стрижня VG, (S) 93	відсутнє або дуже слабе	1	F2, F257
		слабе	3	F252
		помірне	5	W117
		сильне	7	A632
		дуже сильне	9	

Примітка:

Умовні позначення

(*) – ознаки, позначені зірочкою, завжди залучаються до Методик визначення відповідності сортів критеріям відмінності, однорідності та стабільності усіма країнами-членами Міжнародного союзу з охорони нових сортів рослин, за винятком випадків, коли

проявлення попередньої ознаки або умови навколишнього природного середовища це унеможлиблюють;

(+) – вказує на те, що до цієї ознаки надано пояснення або ілюстрації після Таблиці ознак;

PC – попкорнові сорти;

SC – цукрові сорти;

(S) – для трилінійних та подвійних гібридів;

(a) – (e) – пояснення до Таблиці ознак.

Рекомендований метод спостереження за ознаками вказується в другій колонці Таблиці ознак:

MG: разове вимірювання групи рослин або частин рослин (наприклад, співвідношення висоти прикріплення верхнього качана до довжини рослини);

MS: вимірювання групи окремих, попередньо визначених рослин або частин рослин, на яких впродовж вегетації здійснюють усі вимірювання кількісних ознак (наприклад, рослина за довжиною);

VG: візуальна разова оцінка групи рослин.

Усі вимірювання та обстеження для інбредних ліній і простих гібридів варто здійснювати на такій кількості рослин:

MG: разове вимірювання 40 рослин або частин 40 рослин;

MS: вимірювання окремих, попередньо визначених 10 рослин або частин 10 рослин;

VG: візуальна разова оцінка 40 рослин.

Усі вимірювання та обстеження для інших типів гібридів варто здійснювати на такій кількості рослин:

MG: разове вимірювання 60 рослин або частин 60 рослин;

MS: вимірювання окремих, попередньо визначених 20 рослин або частин 20 рослин;

VG: візуальна разова оцінка 60 рослин.

Усі вимірювання та обстеження для вільнозапилених сортів варто здійснювати на такій кількості рослин:

MG: разове вимірювання 60 рослин або частин 60 рослин;

MS: вимірювання окремих, попередньо визначених 40 рослин або частин 40 рослин;

VG: візуальна разова оцінка 60 рослин.

Пояснення до Таблиці ознак:

1) Ознаки навпроти яких у другій колонці присутня одна з наступних позначок, обстежують таким чином:

(a) обстеження листка, розташованого над верхнім качаном;

- (b) обстеження середньої третини головної гілки волоті;
- (c) обстеження другої знизу гілки волоті;
- (d) обстеження середньої третини найвищого добре розвиненого качана;
- (e) на цю ознаку може мати вплив перехресне запилення. Зокрема, у випадку цукрової та розлусної кукурудзи перехресне запилення має бути попереджене.

2) Пояснення або ілюстрації до окремих ознак

До пункту 2 Таблиці ознак. Перший листок: форма верхівки



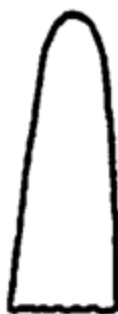
1

загострена



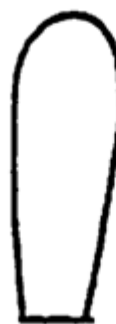
2

від загостреної до
округлої



3

округла



4

від округлої до
лопатоподібної



5

лопатоподібна

До пункту 4 Таблиці ознак. Листок: хвилястість краю пластинки



1

відсутня або дуже слабка



2

помірна



3

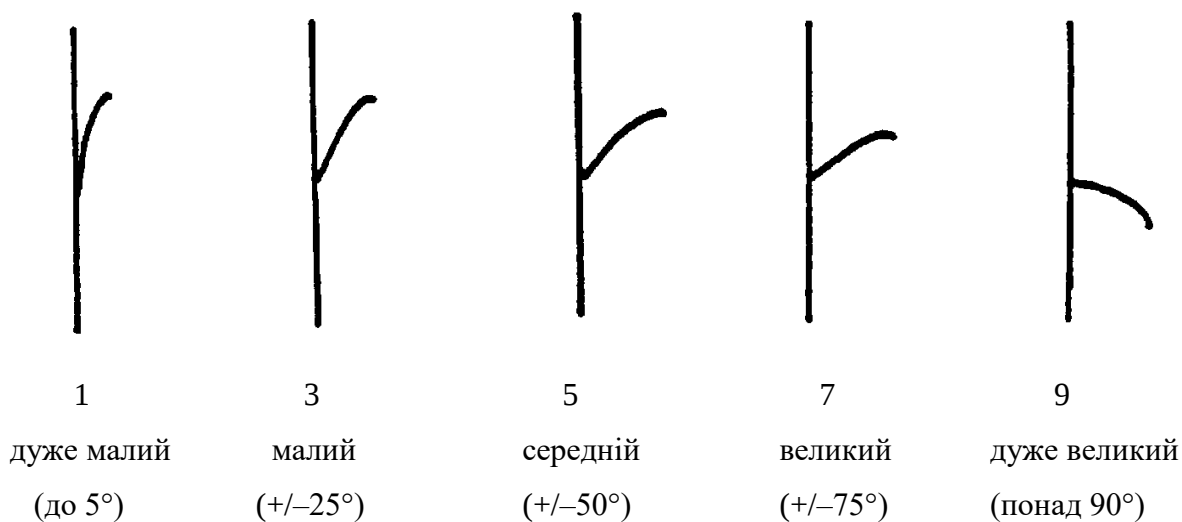
сильна

До пунктів 5 та 12 Таблиці ознак.

Листок: кут між пластинкою і стеблом

Волоть: кут між головною віссю та бічними гілочками

Обстеження проводять не пізніше 30 діб після початку цвітіння волотей.

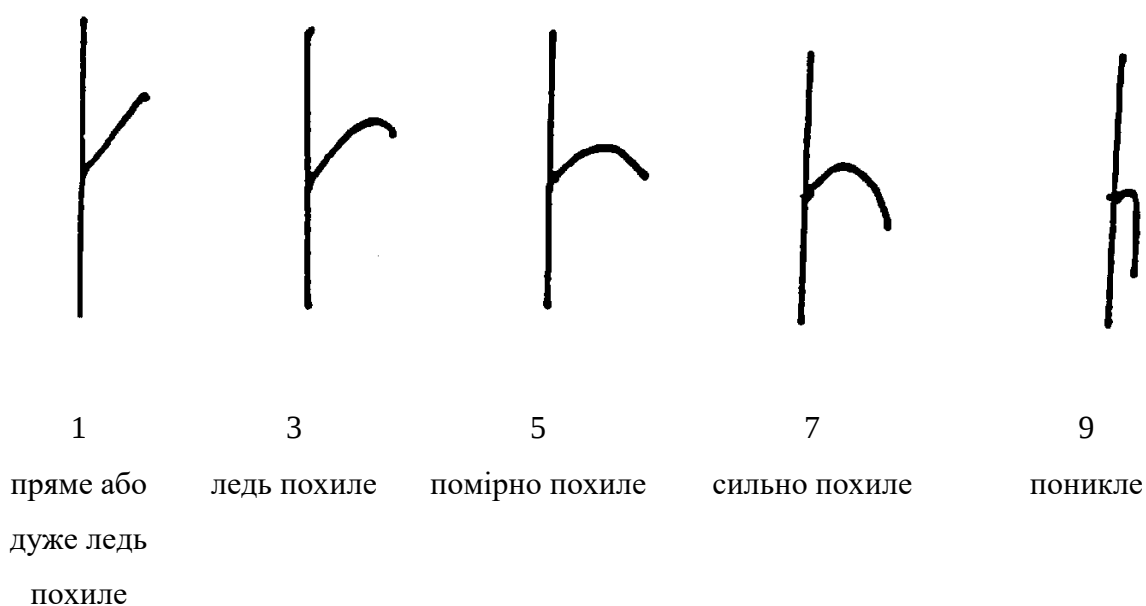


До пунктів 6 та 13 Таблиці ознак.

Листок: положення пластинки в просторі

Волоть: положення бічних гілок у просторі

Обстеження проводять не пізніше 30 діб після початку цвітіння волотей.



До пункту 8 Таблиці ознак. Волоть: час цвітіння

Час цвітіння визначається, коли 50 % рослин мають видимі пиляки в середній третині головної гілки.

До пунктів 9 та 10 Таблиці ознак.

Волоть: антоціанове забарвлення основи колоскової луски

Волоть: антоціанове забарвлення колоскових лусок за винятком основи



До пункту 11 Таблиці ознак. Волоть: антоціанове забарвлення пиляків

Обстежують свіжі пиляки на середній третині головної гілки.

До пункту 15 Таблиці ознак. Качан: час появи шовку

Час появи шовку визначається тоді, коли 50 % рослин викинули шовк.

До пункту 17 Таблиці ознак. Стебло: антоціанове забарвлення повітряних коренів

Обстеження здійснюється, якщо повітряні корені є добре розвиненими, свіжими і присутні у 50 % рослин.

До пункту 19 Таблиці ознак. Листок: антоціанове забарвлення піхви

Обстежують середню третину рослини.

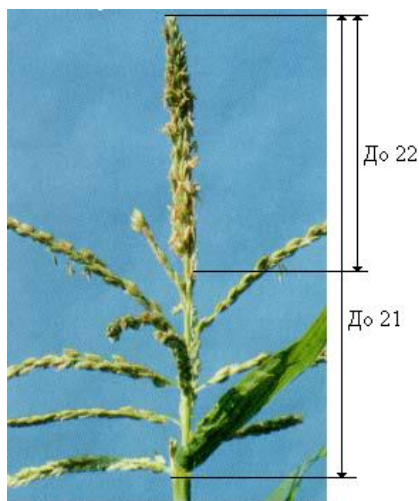
До пункту 20 Таблиці ознак. Стебло: антоціанове забарвлення міжвузлів

Обстежують верхню частину від місця прикріплення верхнього качана.

До пунктів 21 та 22 Таблиці ознак.

Волоть: головна вісь за довжиною (від нижньої бічної гілочки до верхівки)

Волоть: головна вісь за довжиною (від верхньої бічної гілочки до верхівки)



До пунктів 24.1, 24.2, та 25 Таблиці ознак.

Лише для інбредних ліній та сортів з цукровим або розлусним типом зернівки.

Рослина: за довжиною

Лише для гібридів і сортів, які вільно запилюються, за винятком сортів з цукровим або розлусним типом зернівки. Рослина: за довжиною

Рослина: співвідношення висоти прикріплення верхнього качана до довжини рослини

Довжину рослини визначають разом із волоттю.

До пункту 28 Таблиці ознак. Качан: за довжиною

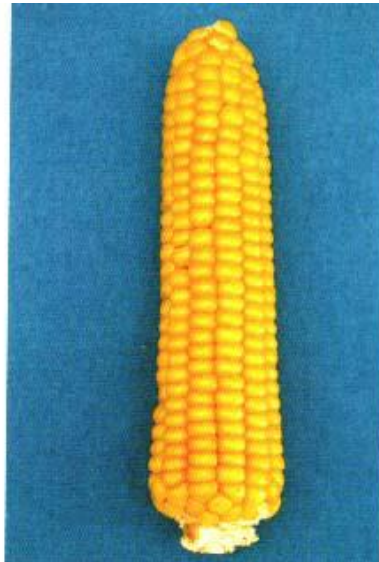


До пункту 30 Таблиці ознак. Качан: форма



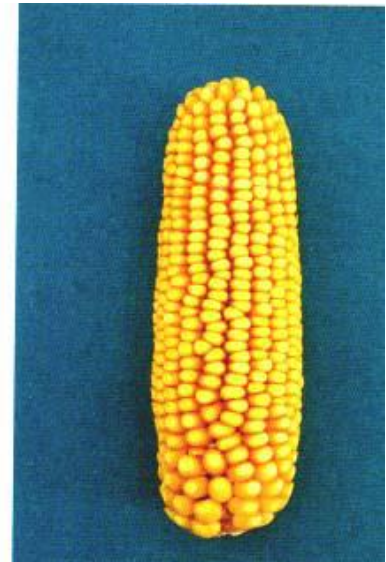
1

конусна



2

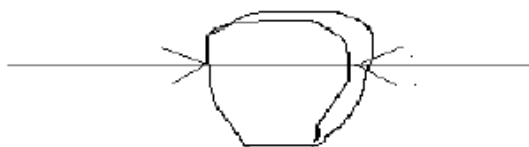
конусно-циліндрична



3

циліндрична

До пункту 35 Таблиці ознак. Лише для сортів з цукровим типом зернівки. Зернівка: за шириною



До пункту 36 Таблиці ознак. Качан: тип зернівки



1	2	3	4	5	6	7
кремени-	кременисто-	проміж-	зубовидно-	зубовид-	цукровий	розлус-
стий	подібний	ний	подібний	ний		ний

1	Кремений	Твердий ендосперм, зернівка округлої форми, товстий шар твердого ендосперму на верхівці, більший розмір зернівки в порівнянні з розлусним типом
2	Кременистоподібний	Більшою мірою твердий ендосперм, зернівка округлої форми, помірний шар твердого ендосперму на верхівці
3	Проміжний	Тонкий шар твердого ендосперму на верхівці, верхівка злегка вдавнена
4	Зубовидноподібний	М'який ендосперм верхівка помірно вдавнена, помірний шар твердого ендосперму на дорсальній частині зернівки
5	Зубовидний	М'який ендосперм верхівки, тонкий шар твердого ендосперму лише в дорсальній частині зернівки, верхівка зернівки сильно вдавнена
6	Цукровий	Лискучий ендосперм з відсутнім або дуже низьким умістом крохмалю, зернівка зморшкувата
7	Розлусний	Практично весь ендосперм твердий, зернівка подібна до рисової зернівки (загострена) або на перлину (заокруглена),

		дуже товстий шар твердого ендосперму на верхівці, зернівка менша за розміром у порівнянні з кременистим типом
8	Восковий	Близько 100 % амілопектину, восковий вигляд зернівки, рожеве забарвлення ендосперму під час йодного тесту (інші типи зернівок під час такого тесту набувають темно-синього забарвлення)
		Забарвлення під час йодного тесту:   восковий не восковий
9	Борошнистий	Ендосперм м'який, зернівка заокруглена або злегка вдавнена на верхівці

До пункту 37 Таблиці ознак. Тільки сорти з цукровим типом зернівки.
 Качан: зморшкуватість верхівок зернівок



1

слабка



3

помірна



5

сильна

До пункту 40 Таблиці ознак. Тільки сорти з розлусним типом зернівки. Зернівка: тип розлуснення.

Качан має зберігатись щонайменше 2–3 місяці після збирання до лущення.

Сухі зернівки (13,0–13,5 % – оптимальний уміст вологи) розлущуються за нагрівання.
 Має бути оглянута типова форма розлущених зернівок.



1

метелик



3

кулястий

До пункту 41 Таблиці ознак. Качан: антоціанове забарвлення лусок стрижня

Антоціанове забарвлення має обстежуватися на середній третині стрижня найвищого розвиненого качана після видалення декількох зернівок.

3) Коди фаз розвитку рослин кукурудзи, в які рекомендовано робити спостереження

Коди	Загальний опис
14	4 листки розгорнулись; кущіння; видовження стебла; трубкування
<i>Поява суцвіття</i>	
51 (♂, ♀)	Видиме суцвіття
59	Повна поява суцвіття
<i>Цвітіння</i>	
61 (♂, ♀)	Початок цвітіння
65 (♂, ♀)	Середина цвітіння
69	Завершення цвітіння
<i>Молочна стиглість</i>	
71	Зернівка водостигла
73	Рання молочна стиглість
75	Середина молочної стиглості
79 (1)	Зернівка досягла остаточного розміру
<i>Воскова стиглість</i>	
85	М'яка воскова стиглість
<i>Достигання</i>	
92	Зернівка тверда (важко продавити нігтем)
93	Зернівка вдень відокремлюється

4) Застосування ДНК маркерів для визначення S- та C-типів стерильності кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.) в кваліфікаційній експертизі на відмінність, однорідність та стабільність

Реактиви для виділення ДНК:

лізуючий розчин (на 200 мл: CTAB – 4 г; NaCl – 16,4 г; Tris – 3,15 г; EDTA – 1,5 г, pH розчину 8,0). 20 mM EDTA; 100 mM Tris-HCl; 1,4 M NaCl; 2% CTAB. Зберігають за температури 4 °C до 4 місяців;

розчин для преципітації (на 200 мл: CTAB – 1 г; NaCl – 0,5 г, pH розчину 8,0). Кінцеві концентрації компонентів: 0,5 % CTAB; 0,04 M NaCl. Зберігають розчин при 4 °C до 4 місяців;

хлороформ; трихлорметан; метилтрихлорид – CHCl_3 (Мм = 119,37);

розчин 1,2 M NaCl (на 100 мл: NaCl – 7 г). Зберігають при кімнатній температурі до 6 місяців;

ізопропіловий спирт; ізопропанол; 2-пропанол – $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ (Мм=60,10);

розчин для відмивання (70 % етиловий спирт). Зберігають розчин при кімнатній температурі до 6 місяців;

розчин TE (на 200 мл: 0,5 M EDTA pH 8,0 – 400 мкл; 1 M Tris-HCl pH 8,0 – 1 мл). Кінцеві концентрації TE розчину: 1mM EDTA pH 8,0; 10 mM Tris-HCl pH 8,0. Зберігають розчин при 4 °C до 6 місяців;

розчин 0,5 M EDTA (на 200 мл: 37,22 г EDTA, pH розчину 8,0). Зберігають за температури 4 °C до 6 місяців;

pH всіх розчинів регулюють за допомогою 1 M NaOH.

5) Проведення екстракції ДНК

1. Для виділення ДНК пророщують по 10 насінин кожної лінії кукурудзи протягом 5 днів за ДСТУ 4138-2002 «Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості».

2. Гомогенізують наважку зразку 50 мг з 500 мкл лізуючого розчину та переносять у мікроцентрифужну пробірку. Додають 300 мкл стерильної деіонізованої води та вортексують протягом 30 с.

3. Інкують за температури 65 °C протягом 45 хв. Після цього центрифугують за 1 3000g протягом 10 хв.

4. Весь супернатант ~300 мкл переносять в нову мікроцентрифужну пробірку та додають хлороформ у співвідношенні 1:1 до відібраного супернатанту, обережно перемішують протягом 30 с.

5. Після центрифугування за 1 3000g 10 хв. переносять верхній шар (~250 мкл) в нову мікроцентрифужну пробірку та повторюють п. 5.

6. Після центрифугування за 1 3000g протягом 5 хв. додають 2 об'єми (~500 мкл) Розчину для преципітації та обережно перемішують.

7. Інкують 60 хв. за кімнатної температури.

8. Центрифугують за 13000g протягом 5 хв. та обережно видаляють супернатант не зачіпаючи осад (преципітат).

9. Розчиняють преципітат в 350 мкл 1,2 М NaCl та додають 0,6 об'єму (210 мкл) охолодженого ізопропілового спирту, обережно перемішують.

10. Центрифугують за 1 3000 g протягом 10 хв., після чого видаляють супернатант, не зачіпаючи осад. До отриманого осаду додають 500 мкл 70 % етилового спирту, обережно перемішують.

11. Центрифугують за 13000 g протягом 10 хв, видаляють супернатант. Осад підсушують за 60 °C протягом 30 хв.

12. Сухий осад, в якому міститься ДНК розчиняють в 50 мкл TE-буферу. Отриману ДНК одразу використовують для проведення ПЛР або зберігають за температури +4 °C не більше одного місяця.

13. Концентрацію та чистоту ДНК визначають за допомогою спектрофотометра/мультифункціонального мікропланшетного рідеру CLARIOstar при довжинах хвиль 260 та 280 нм.

6) Умови проведення ПЛР

Використовують дві пари праймерів до генів мітохондрій за двома основними типами стерильності. Характеристики праймерів та склад реакційної суміші наведені в таблиці 1 та 2.

Таблиця 1. Характеристика праймерів

Тип ЦЧС	Нуклеотидна послідовність праймерів 5'→3'	Розмір амплікону, пн	Послідовність ДНК (GenBank)
ЦЧС-С	F* – ATGCTAATGGTGTTCGATTCC R** - AGCATCATCCACATTCGCTAG	398	S81074
ЦЧС-S	F – CAACTTATTACGAGGCTGATGC R - AGTTCGTCCCATATACCCGTAC	799	AF008647

*F – прямий праймер.

R – зворотний праймер.

Таблиця 2.

Склад реакційної суміші для проведення ПЛР ДНК ліній кукурудзи

Компоненти ПЛР	Кінцева концентрація
10×ПЛР буфер*	1×
dNTP	200 мкМ
Тaq-полімераза	1 од.
Праймер F	0,2 мкМ
Праймер R	0,2 мкМ
dH ₂ O	-
Загальний об'єм реакції	10 мкл

*10 мМ Tris-HCl, pH 9,0; 50 мМ KCl; 0,01% Тритон X-100; 20 мМ MgCl₂

7) Проведення ПЛР ДНК ліній кукурудзи

1. Розраховують кількість компонентів реакційної суміші для проведення ПЛР відповідно до наведених в таблиці 2 кінцевих концентрацій.

2. Реакційну суміш готують у пробірці 1,5 мл. Розрахунок компонентів ПЛР здійснюють з урахуванням можливих втрат (фактична кількість зразків + 1 зразок).

3. Додають в кожну пробірку по 9 мкл реакційної суміші відповідно до кількості зразків.

4. Після цього в кожну пробірку додають по 1 мкл зразків ДНК (концентрація 100 нг/мкл). Всі операції бажано проводити на льоду з метою уникнення утворення неспецифічних фрагментів реакції.

5. Готову реакційну суміш з зразками ДНК центрифугують для осадження крапель та бульбашок протягом 15 с за 7 000 g. Пробірки з реакційною сумішшю поміщають в ампліфікатор та задають параметри ампліфікації ДНК ліній кукурудзи (табл. 3).

Таблиця 3.

Параметри ПЛР ДНК ліній кукурудзи

Етап	Температура, °C	Час
Початкова денатурація	96	2 хв.
Денатурація	94	45 с
Гібридизація праймерів	55	30 с
Елонгація	72	1 хв.
Кінцева елонгація	72	2 хв.
Кількість циклів – 30		

8) Електрофорез продуктів ПЛР в агарозному гелі

Реактиви для електрофорезу:

10×TBE-буфер (стоковий розчин) (на 1 л: 108 г Tris, 55 г борної кислоти. Після розчинення додають 40 мл 0,5 М ЕДТА (рН 8,0)). Зберігають у холодильнику при 4 °С до 6 місяців;

0,5×TBE-буфер (робочий розчин) (на 1 л розчину: 50 мл 10×TBE-буфер (десятикратний TBE-буфер), доводять об'єм до 1 л дистильованою водою). Зберігають при кімнатній температурі не більше 1 місяця;

легкоплавка агароза для електрофорезу;

етидій бромистий; бромід етидію; EtBr; 2,7-діамін-10-етил-9-фенілфенантрідіум бромід; EtBr – $C_{21}H_{20}NBr$ (Мм=394,3) розчин 10 мг/мл;

агарозний гель 3% (на 100 мл: 3 г легкоплавкої агарози для електрофорезу розчинити в 0,5×TBE-буфері шляхом нагрівання у мікрохвильовій печі або киплячій водянній бані). Приготований гель одразу використовують для проведення електрофорезу.

9) Проведення горизонтального електрофорезу продуктів ПЛР

1. Після повного розчинення агарози, гель охолоджують при кімнатній температурі до 60 °С. Додають розчин бромистого етидію до кінцевої концентрації 1 мкг/мл. Встановлюють гребінку в камеру для заливки гелів та заливають гель товщиною близько 4 мм. Після полімеризації гелю гребінку видаляють попередньо заливши поверх гелю розчин 0,5×TBE-буферу шаром 1 мм.

2. Гель на підложці поміщають в електрофорезну камеру приладу для горизонтального електрофорезу, заповнену 0,5×TBE-буфером.

3. Готують розчин 1×буферу для нанесення (однократний буфер): для кожного зразку змішують 1,66 мкл 6×буферу (шестикратний буфер для нанесення*) та 3,34 мкл деіонізованої води.

*Примітка: комерційний реактив або 0,25 % бромфеноловий синій, 0,25 % ксиленціанол, 30 % гліцерин.

4. Відбирають по 5 мкл продуктів ПЛР та змішують з 5 мкл 1×буферу для нанесення, уникаючи утворення бульбашок. В лунки гелю вносять отриманий розчин (10 мкл) та маркер молекулярної маси ДНК.

5. Електрофорез продуктів ампліфікації проводять протягом 1,5 год. за напруженості електричного поля 5 В/см у напрямку від катода до анода в 0,5×TBE-буфері.

6. Для візуалізації продуктів ПЛР після закінчення електрофорезу гель поміщають на фільтр транслюмінатора з лампою ультрафіолетового світла (254-310 нм). Результати

електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації документують за допомогою цифрової камери або інших систем документування гелю.

7. На основі отриманих електрофореграм визначити розмір ампліконів за допомогою комп'ютерної програми TotalLab або іншого аналогічного програмного забезпечення.

10) Визначення S- та C-типів стерильності у ліній кукурудзи

Рослинний матеріал кукурудзи, пов'язаний з S та C типами стерильності включав по: 4 пари стерильних ліній-аналогів та їх закріплювачів, 3 стерильних ліній-аналога C типу та 3 стерильних ліній-аналога S типу.

В результаті аналізу ліній кукурудзи, які в польових умовах продемонстрували ознаки стерильності, за праймерами до S і C типів стерильності були отримані амплікони очікуваного розміру 799 пн та 398 пн (рис. 1 а та рис. 1 б).

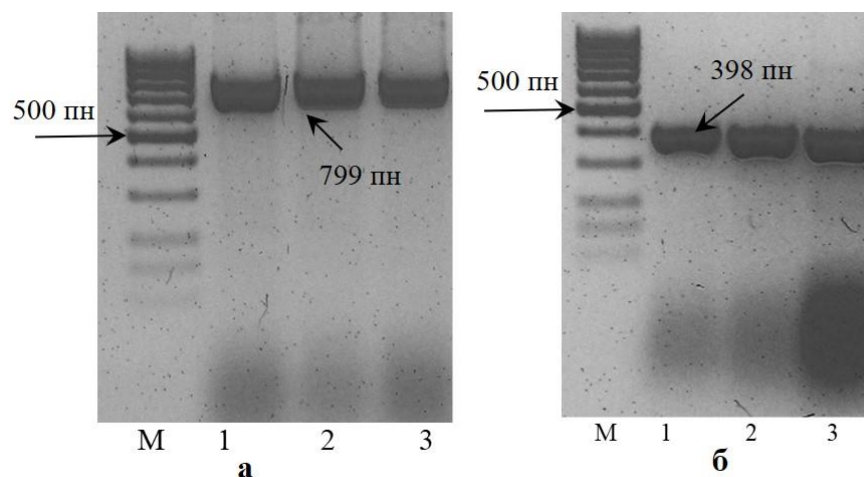


Рис. 1. Результати ПЛР ліній кукурудзи з S-типом стерильності: М – маркер молекулярної маси 100 bp DNA Ladder O'GeneRuler (Thermo Scientific);
а) 1-3 – стерильні лінії за S-типом; б) 1-3 – стерильні лінії за C-типом