

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ
ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНИ
УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ЕКСПЕРТИЗИ СОРТІВ РОСЛИН

НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ПОЛЬОВОЇ ЕКСПЕРТИЗИ СОРТІВ РОСЛИН НА ВІДМІННІСТЬ, ОДНОРІДНІСТЬ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Науково-методичні рекомендації

Вінниця
ТОВ «ТВОРИ»
2020

Н 34 Науково-практичні аспекти польової експертизи сортів рослин на відмінність, однорідність та стабільність / З. Б. Києнко, С. М. Гринів, Н. А. Мізерна, Л. М. Присяжнюк та ін. Вінниця : ТОВ «ТВОРИ», 2020. 27 с.

Методичні рекомендації розроблено в Українському інституті експертизи сортів рослин.

У методичних рекомендаціях деталізовано процедуру проведення експертизи на встановлення критеріїв відмінності, однорідності та стабільності безпосередньо в польових умовах. Методичні рекомендації містять основні принципи та аспекти, виконання яких забезпечить якісне спостереження за ознаками, правильний підхід до організації польових ділянок, поводження з насіннєвим і садивним матеріалом.

Рекомендації призначені для спеціалістів, які безпосередньо проводять кваліфікаційну експертизу на ВОС та задіяні у сфері охорони прав на сорти рослин, науковців, селекціонерів.

УДК 633:631.526.3

ЗМІСТ

Передмова	4
Терміни та визначення	6
1. Загальні принципи експертизи на ВОС	7
1.1 Матеріал для здійснення кваліфікаційної експертизи на ВОС	7
1.2 Тривалість експертизи на ВОС	8
1.3 Місце та умови для проведення експертизи на ВОС	9
1.4 План експертизи	10
1.5 Метод дослідження при здійсненні експертизи на ВОС	10
2. Експертиза на відмінність	12
2.1 Підбір загальновідомих сортів для здійснення польових досліджень	13
2.2 Методи оцінювання, що застосовують під час встановлення критерію відмінності	14
2.3 Використання батьківських компонентів для встановлення відмінності гібрида	15
3. Експертиза на однорідність	17
3.1 Методи здійснення експертизи на однорідність	18
3.1.1 Визначення однорідності методом нетипових рослин	19
3.1.2 Визначення однорідності методом стандартних відхилень (за рівнем мінливості ознаки)	20
4. Експертиза на стабільність	21
4.1 Методи встановлення стабільності в польових умовах для ботанічних таксонів, що розмножують насінням	22
4.2 Визначення критерію стабільності у гібридів	23
5. Додаткові методи, що використовують за здійснення експертизи	23
5.2. Застосування ДНК маркерів для визначення відмінності	23
5.1. Метод електрофорезу запасних білків насіння в ПААГ	24
6. Перевірка даних і припущень на достовірність	25
Перелік джерел посилання	26

Передмова

Методичні рекомендації «Науково-практичні аспекти польової експертизи сортів рослин на відмінність, однорідність та стабільність» деталізують процедуру проведення експертизи на встановлення критеріїв відмінності, однорідності та стабільності безпосередньо в польових умовах, містять основні принципи, які є основою здійснення експертизи. Дотримання та використання даних принципів допоможе зберегти чітке виконання Методик проведення експертизи на відмінність, однорідність та стабільність та забезпечити єдиний гармонізований підхід в дослідній справі під час здійснення експертизи нових сортів рослин з державами-учасницями Міжнародної конвенції з охорони нових сортів рослин.

Методичні рекомендації розроблено з урахуванням допоміжних керівництв загального та методичного характеру Міжнародного союзу з охорони нових сортів рослин, діючих методик проведення експертизи на відмінність, однорідність та стабільність, Закону України «Про охорону прав на сорти рослин» та низки інших підзаконних і нормативно-правових актів у сфері охорони прав на сорти рослин.

Морфологічні ознаки є ключем для встановлення критеріїв відмінності, однорідності та стабільності окремого сорту рослин та виведення особливого єдиного коду сорту. Методичні рекомендації містять певні аспекти, виконання яких забезпечить якісне спостереження за ознаками, правильний підхід до організації польових ділянок, поводження з насіннєвим і садивним матеріалом.

Методичні рекомендації призначені для спеціалістів, які безпосередньо проводять кваліфікаційну експертизу на ВОС та задіяні у сфері охорони прав на сорти рослин, науковців, селекціонерів.

Об'єктом дослідження є процес вивчення особливостей проявлення морфологічної ознаки рослини для встановлення відповідності сорту критеріям відмінності, однорідності та стабільності для отримання права інтелектуальної власності на сорт (патент) і здійснення державної реєстрації прав інтелектуальної власності на поширення (свідectvo про державну реєстрацію).

Сортом рослин згідно із Законом України «Про охорону прав на сорти рослин» є окрема група рослин (клон, лінія, гібрид першого покоління, популяція) в рамках нижчого із відомих ботанічних таксонів (рід, вид, різновид) незалежно від того, чи задовольняє вона умови виникнення правової охорони.

Сорт вважають придатним для набуття права на нього як на об'єкт інтелектуальної власності, якщо за проявом ознак, породжених певним генотипом чи певною комбінацією генотипів, він є новим, відмінним, однорідним та стабільним.

Сорт вважають однорідним, якщо з урахуванням особливостей його розмноження всі рослини цього сорту залишаються достатньо схожими (однорідними) за своїми основними ознаками, зазначеними в описі сорту.

Сорт вважають стабільним, якщо його основні ознаки, зазначені в описі сорту, залишаються незмінними після неодноразового розмноження чи, у разі особливого циклу розмноження, в кінці кожного такого циклу (Закон України «Про охорону прав на сорти рослин» від 06.09.2018 р.).

Сорт відповідає умові відмінності, якщо за проявом його ознак він чітко відрізняється від будь-якого іншого сорту, загальновідомого до дати, на яку заявку вважають поданою.

Державну реєстрацію сорту здійснюють, якщо сорт відмінний, однорідний та стабільний, йому присвоєно назву і він придатний для поширення в Україні.

Терміни та визначення

Батьківські компоненти – складові гібриду першого покоління (лінія, гібрид), що використовували для його створення.

Блок – група ділянок з розміщеними на них сортами.

ВОС – відмінність, однорідність та стабільність.

Держава-учасниця – держава, що приєдналася до Міжнародної конвенції з охорони нових сортів рослин, прийнятої 2 грудня 1961 року і переглянутої 10 листопада 1972 року, 23 жовтня 1978 року і 19 березня 1991 року.

Дослідна ділянка – елементарна земельна частка польового дослідження прямокутної видовженої форми, на якій вивчають лише один сорт або варіант.

Еталонна колекція сортів рослин – група сортів у рамках нижчого із відомих ботанічних таксонів, яку формують із загально-відомих сортів, що мають одну чи більше ознак, проявлення яких можна застосувати як еталон для порівняння із новими сортами, які вивчають у процесі проведення кваліфікаційної експертизи.

Загальновідомий сорт – сорт, відомості про який офіційно викладено у відкритому друці та наявний живий насіннєвий і садивний матеріал.

Кінцева захисна смуга – поперечна частина посівної площі на початку та в кінці ділянки поза межами її облікової площі.

Компетентний орган – центральний орган виконавчої влади, що забезпечує формування і реалізацію державної політики у сфері охорони прав на сорти рослин.

Насіння – рослинний матеріал, що використовують для сівби, включно власне насіння (насінину), плоди, супліддя.

Популяційний стандарт – максимально дозволений відсоток нетипових рослин з об'єму вибірки сорту.

Садивний матеріал – рослини та їхні вегетативні органи (частини), придатні для відтворення цілісного організму рослин.

Референсна колекція – формують із загальновідомих сортів щорічно і висівають єдиним блоком із сортами-кандидатами для здійснення тесту на відмінність.

Сорт рослин – окрема група рослин (клон, лінія, гібрид першого покоління, популяція) в рамках нижчого із відомих ботанічних таксонів (рід, вид, різновид) незалежно від того, чи задовольняє вона умови виникнення правової охорони.

Схема дослідів – план дослідів з визначенням набору сортів, варіантів, стандартів (за необхідності), повторностей, повторень, кількості блоків, посівної та облікової площ ділянок, їхнє розташування у просторі та інших умов проведення дослідів.

Тривалість періоду вегетації – час, необхідний для розвитку рослин. Визначають від дати отримання повних сходів до досягання (збирання врожаю).

1. Загальні принципи експертизи на ВОС

Експертиза на відмінність, однорідність та стабільність передбачає проведення комплексу польових, лабораторних та аналітичних досліджень сортів рослин. Для отримання об'єктивних, достовірних результатів під час проведення польових і лабораторних досліджень з експертизи сортів рослин на ВОС необхідною передумовою є чітке дотримання агротехнологічних і методичних вимог, високий рівень кваліфікації спеціалістів.

Для своєчасного виконання обліків і спостережень згідно з вимогами методики дослідної справи спеціалістам необхідно ретельно дотримуватися певних правил, які полягають у добросовісному та чіткому виконанні своїх посадових обов'язків. Записи в усіх формах документації повинні бути охайними й чіткими, підчищення й виправлення не допускаються; за потреби виправлення первинний запис закреслюють так, щоб його можна було прочитати, а нову цифру (назву, слово) пишуть акуратно зверху; обов'язково вказують причину виправлення й ким воно було зроблене (посада, підпис, дата); усі розділи в таблицях польового журналу, річного звіту, а також іншої документації повинні бути заповнені, якщо ж будь-які спостереження й обліки з тих чи інших причин не робили, то обов'язково вказують причину відсутності даних; усі форми наукової документації, що подають до Інституту, повинні бути підписані особами, відповідальними за виконання роботи та складання звітних матеріалів. За неточність записів у польових журналах, річних звітах та інших звітних матеріалах керівники пунктів досліджень несуть персональну відповідальність. Польовий журнал є основним первинним документом, до якого заносять усі дані щодо дослідження сортів. Його заводять до закладання досліду та ведуть простим олівцем або кульковою ручкою аж до дати останнього спостереження відповідно до методики проведення експертизи на ВОС певного ботанічного таксона.

1.1 Матеріал для здійснення кваліфікаційної експертизи на ВОС

Якість, кількість та строки надання насіннєвого і садивного матеріалу, необхідного для експертизи сорту рослин, врегульовано нормативно-правовими актами – Інструкцією щодо забезпечення дослідними зразками експертизи заявки на сорт рослин, *зареєстрованою в Міністерстві юстиції України 26 лютого 2018 року за № 232/31684* (далі – Інструкція), Правилами складання та подання заявки на сорт рослин, *затвердженими наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України від 26 квітня 2007 року № 287, зареєстрованими у Міністерстві юстиції України 30 травня 2007 року за № 553/13820* (далі – Правила), Порядком затребування зразків посадкового матеріалу батьківських компонентів об'єкта заявки, *затвердженим постановою Кабінету Міністрів України від 19 вересня 2018 р. № 756* (далі – Порядок).

Інструкцією встановлено порядок постачання та вимоги до дослідних зразків сортів, які надають для експертизи заявки на сорт рослин. Процедуру та випадки затребування зразків садивного матеріалу батьківських компонентів об'єкта заявки врегульовано Порядком. Правилами передбачено вимоги до складання документів заявки, порядок її подання з метою проведення науково-технічної експертизи заявки на сорт рослин, форми бланків документів заявки та кількість насіння (садивного матеріалу) сортів ботанічних таксонів, яке надають разом із документами заявки на сорт рослин.

Зразок залежно від ботанічного таксона може бути представлений насінням або садивним матеріалом (саджанцями, живцями, бульбами, цибулинами тощо).

Насінневий зразок повинен належати до певної категорії насіння: до базове та базове; бути здоровим на вигляд, не ураженим хворобами, не пошкодженим шкідниками та відповідати вимогам чинних нормативних документів щодо посівних і сортових характеристик. Зразок, представлений садивним матеріалом (саджанці, чубуки, живці тощо), повинен мати добре розвинену кореневу систему, не бути ураженим хворобами і пошкодженим шкідниками.

1.2 Тривалість експертизи на ВОС

Тривалість польових досліджень передбачено методиками проведення експертизи на відмінність, однорідність і стабільність (далі – Методика). Відповідно до методики польові дослідження для всіх категорій сортів повинні тривати щонайменше два незалежні вегетаційні цикли, за необхідності експертизу продовжують на третій.

Веgetаційний період в однорічних рослин це період від повних сходів до досягання.

Веgetаційний цикл для плодових видів з чітко визначеним періодом стану спокою, триває один веgetаційний сезон, починаючи з появи бруньки (цвітіння, та/або початок веgetації), розквіту, збору плодів і завершується, коли закінчується наступний період стану спокою, набряканням бруньок у новому сезоні.

Для плодових видів з не чітко визначеним періодом стану спокою веgetаційний цикл – це період, який триває з початку активного веgetаційного росту чи цвітіння, продовжується під час активного веgetаційного росту чи цвітіння та розвитку плодів і завершується збором плодів.

Співробітництво з іншими компетентними органами може скоротити час, витрати щодо здійснення експертизи сорту на ВОС, а також мінімізувати зусилля на підтримання колекцій сортів. Зокрема, на виконання статті 12 Міжнародної конвенції з охорони нових сортів рослин від 2 грудня 1961 року, переглянутої в м. Женеві 10 листопада 1972 року, 23 жовтня 1978 року та 19 березня 1991 року і відповідно до Закону України від 2 серпня 2006 року № 60-V «Про приєднання України до Міжнародної конвенції

з охорони нових сортів рослин» Компетентний орган може враховувати результати випробувань, отримані Компетентним органом держави-учасниці Міжнародного союзу з охорони нових сортів рослин.

1.3 Місце та умови для проведення експертизи на ВОС

Відповідно до Методики експертизу проводять у двох закладах експертизи (основному та додатковому). Експертизу сортів рослин здійснюють на всій території України в межах ґрунтово-кліматичних зон: Степ, Лісостеп, Полісся. Експертизу виконують за умов, що забезпечують задовільний ріст і розвиток рослин, і достатнє проявлення характерних ознак сорту.

Якість комплексу польових і лабораторних досліджень з експертизи сортів на ВОС залежить від дотримання науково обґрунтованих сівозмін; своєчасної та якісної підготовки ґрунту відповідно до технологічних карт вирощування для сортів відповідного ботанічного таксона з урахуванням агрохімічного обстеження ґрунтів у наукових сівозмінах; впровадження системи удобрення; закладання польових дослідів, проведення спостережень у відповідну фенологічну фазу росту та розвитку з подальшим опрацюванням результатів за кожним сортом-кандидатом [1, 3].

Щорічно згідно з Програмою польових досліджень фахівці пунктів досліджень розробляють схему закладання дослідів у сівозміні. На схему в масштабі наносять межі полів, контури ґрунтових відмін, елементи рельєфу (блюдця, западини, підвищення, солончаки, постійні вилучки), розташування дослідів, сторони світу, експозицію схилів та напрямки оранки.

Основні вимоги до розташування польових дослідів полягають у тому, що: кожен дослід повинен розташовуватись у межах однієї ґрунтової відміни; дослід після дослідів закладають не раніше, ніж через два роки вирівнювальних посівів. За необхідності допускають закладання дослідів після дослідів через рік, але обов'язково впоперек ділянок позаторішнього дослідів; постійні вилучки оминають або на них розташовують нулівки; маршрут огляду дослідів повинен бути зручним і найкоротшим, а доріжка з цільного боку кожного дослідів – достатньо широкою (1,5–2,0 м). Для запобігання розміщення дослідів після дослідів на схемі накладання різними кольорами наносять схеми двох попередніх років або заводять книгу накладання дослідів на 5–7 років за зразком книги історії полів, що дозволяє контролювати розміщення дослідів упродовж тривалого часу.

Схему закладання дослідів затверджує керівник пункту дослідів, у подальшому вона є обов'язковою для виконання фахівцями на місцях. Відповідно до прийнятої технології вирощування сільськогосподарських рослин у сівозміні якнайшвидше виконують основний і передпосівний обробіток ґрунту та внесення добрив. Водночас вживають ефективних заходів, що запобігають виникненню строкатості родючості ґрунту. Закладають дослідів в оптимальні та

стислі строки, які визначають залежно від термінів сівби, агрокліматичної зони вирощування й виду рослин.

У випадку з експертизою плодівих видів, необхідно щоб дерева давали задовільний урожай плодів у кожному з двох вегетаційних циклів.

1.4 План експертизи

Планують такий розмір ділянок, щоб вилучення рослин або їхніх частин для вимірювань і підрахунків не шкодило обстеженням, які тривають до завершення циклу вирощування.

За здійснення експертизи на ВОС застосовують щонайменше 6 типів ділянок, що різняться за своїм призначенням, параметрами та роком урожаю насінневого матеріалу, що використовують. Необхідну мінімальну кількість рослин для здійснення експертизи наведено відповідно для кожного ботанічного таксона в Методиці, ділянку умовно розділяють на два повторення [4, 9].

Тип ділянки, рекомендований для відповідного ботанічного таксона, вказують у другій колонці Таблиці ознак Методики таким визначником: А, Б, В, Г, Д, Е.

Типи ділянок, що застосовують в експертизі на ВОС

Тип ділянки	Назва ділянки	Вид експертизи	Пояснення
А	рядкова	відмінність, однорідність, стабільність	для встановлення відмінності та однорідності щороку висівають насінням заявника відповідно до року постачання; для встановлення стабільності – засівають на другий рік експертизи насінням заявника першого року врожаю
Б	пунктирна (розріджена)	відмінність, однорідність	щороку висівають насінням заявника відповідно до року постачання
В	колосова	однорідність, стабільність	висівають на другий рік експертизи колосами заявника (100 колосів)
Г	колосова	експертиза на яровість	ячмінь озимий, висівають на другий рік колосами заявника (50 колосів)
Д	колосова	однорідність	висівають на другий рік експертизи колосами, які відбирають з усіх нетипових рослин, зібраних на ділянці такого сорту, параметри ділянок Д і Е є рівнозначними
Е	колосова	однорідність (контроль)	для встановлення причин неоднорідності висівають на другий рік експертизи для контролю до ділянки Д колосами, які відбирають з типових рослин такого сорту

1.5 Методи дослідження при здійсненні експертизи на ВОС

Опис морфологічних ідентифікаційних ознак сорту здійснюють методом візуального оцінювання, за допомогою вимірювань чи підрахунків залежно від типу виявлення ознак: якісні – QL, кількісні – QN,

псевдоякісні – PQ. Ознаки, що використовують в експертизі на ВОС є результатом певного генотипу або комбінації генотипів; достатньо стійкі та здатні повторюватися в особливих умовах середовища; показують достатню різницю між сортами, що допомагає встановити відмінність; придатні для точного визначення або розпізнання; відповідають вимогам однорідності; відповідають вимогам стабільності – повторюються після розмноження або наприкінці кожного циклу розмноження.

Якісними є ознаки, що проявляються в перервному стані (наприклад, стать рослини: дводомна жіноча (1), дводомна чоловіча (2), одnodомна одностатева (3), одnodомна гермафродит (4)). Чотири стани проявлення однієї ознаки є самопояснювальними та незалежно виразними, разом вони описують повний спектр ознаки. Порядок ступенів проявлення є неважливим, ці ступені проявлення ознаки не залежать від умов середовища (ці ознаки є генетично закріпленими).

Кількісними є ознаки, проявлення яких охоплює повний спектр мінливості ознаки від її мінімального до максимально значення. Проявлення цих ознак може бути записане в одномірній, безперервній або дискретній лінійній шкалі. Спектр проявлення ознаки поділяють на кількість ступенів проявлення для опису (а саме: стебло за довжиною – дуже коротке (1), коротке (3), середнє (5), довге (7), дуже довге (9)). За допомогою такого розподілу забезпечують рівномірне розташування по всій шкалі спектру ознаки (ознаки, які можна виміряти).

У псевдоякісних ознак рівень проявлення є частково безперервним і коливається більше ніж в одному вимірі (наприклад, форма – яйцеподібна (1), еліптична (2), кругла (3), оберненояйцеподібна (4)) та не може бути достатньо описана лише початковим та кінцевим ступенем проявлення шкали [13].

Ознаки, які, як відомо з практики, не варіюють або дуже слабо варіюють у межах сорту, використовують окремо або в комбінаціях з іншими ознаками як ознаки для групування. Для групування можуть бути використані і якісні, і кількісні, і псевдоякісні ознаки.

Кожному ступеню проявлення ознаки визначено відповідний цифровий код, що спрощує запис даних. Ступінь проявлення ознаки може залежати від зовнішніх факторів: наявності шкідників і хвороб, застосування хімічного оброблення. Використання сортів-еталонів відіграє, в даному випадку, важливе значення, так як забезпечує встановлення ступеню проявлення кожної ознаки безпосередньо в ідентичних умовах. Передбаченим може бути використання, наприклад, штучного зараження для встановлення стійкості до хвороб [5].

Тому, за здійснення експертизи надзвичайно важливим є забезпечення задовільного росту і розвитку рослин за однакових умов – вільних від впливу тих чи інших факторів або щоб усі сорти, включені до експертизи на ВОС, разом із загальновідомими сортами та сортами-еталонами були предметом впливу тих самих факторів.

В експертизі на ВОС рекомендовано 4 методи спостереження за ознаками, які вказано в другій колонці Таблиці ознак Методики: MG: разове вимірювання групи рослин або частин рослин (наприклад, висота); MS: вимірювання групи окремих, попередньо визначених рослин або частин рослин, на яких протягом вегетації здійснюють усі вимірювання кількісних ознак (наприклад, довжина); VG: візуальне разове оцінювання групи рослин; VS: візуальне оцінювання окремих, попередньо визначених рослин або частин рослин.

Візуальне обстеження – це обстеження, яке здійснюють на основі суджень експерта. Візуальне спостереження здійснюють за допомогою органів чуттів людини: зору, нюху, дотику, смаку. Під час візуального обстеження експерт використовує пряме візуальне порівняння, сорти-еталони, нелінійні шкали. Візуальні обстеження потребують менших затрат часу та коштів порівняно з вимірюванням, але дані візуального обстеження мають дещо суб'єктивний характер.

Вимірювання є об'єктивним обстеженням, яке здійснюють з використанням лінійки, ваг, дат, підрахунків.

Якісні ознаки, як правило, обстежують візуально, кількісні – вимірюють візуально, псевдоякісні ознаки загалом можуть обстежувати візуально.

Певний метод спостереження передбачає визначену кількість рослин, які потрібно залучати для встановлення ступеню проявлення ознаки. Разове вимірювання рослин та візуальне разове оцінювання передбачає значно більшу групу рослин ніж вимірювання та візуальне оцінювання окремих, попередньо визначених рослин. Необхідну кількість рослин та їхніх частин передбачено Методикою для певного ботанічного таксона [4].

2. Експертиза на відмінність

Експертизу на відмінність проводять після отримання результатів морфологічного опису першого року випробувань. Згідно з Конвенцією Міжнародного союзу з охорони нових сортів рослин сорт, який чітко відрізняється від будь-якого із сортів, існування якого є загальновідомим – відповідає вимогам відмінності.

Сорт вважають загальновідомим, якщо:

- а) він поширений на певній території в будь-якій державі;
- б) відомості про проявлення його ознак стали загальнодоступними у світі, зокрема шляхом їхнього опису в будь-якій оприлюдненій публікації;
- в) він представлений зразком у загальнодоступній колекції;
- г) йому надано правову охорону і/або він внесений до офіційного реєстру сортів в будь-якій державі, при цьому його вважають загальновідомим від дати подання заявки на надання права чи внесення до реєстру [2].

Здійснення експертизи на відмінність насамперед передбачає наявність колекції загальновідомих сортів певного конкретного ботанічного таксона. До сортової колекції можуть входити описи сортів і, коли буде потреба, живий рослинний матеріал. Згідно з рекомендаціями Міжнародного союзу з охорони нових сортів рослин, якщо сорт-кандидат може бути відмінним від загальновідомих сортів за допомогою порівняння описів сортів, тоді немає потреби включати ці загальновідомі сорти до польових випробувань з відповідним сортом-кандидатом. Повнота описів сорту та мінливість ознак відіграють вирішальну роль за вибору шляху встановлення відмінності. Тому, коли неможливо чітко вирізнити їх від сорту-кандидата за морфологічною кодовою формулою, сорти необхідно наступного року порівняти в польовому досліді [15].

Сорт можна вважати відмінним, якщо відмінність в ідентифікаційних ознаках є стійкою і чітко вираженою. Для встановлення достатньо стійкої відмінності в ознаці необхідно здійснювати експертизу сорту принаймні у двох незалежних циклах.

2.1 Підбір загальновідомих сортів для здійснення польових досліджень

Для підбору загальновідомих сортів з метою формування колекції для проведення тесту на відмінність безпосередньо в польових умовах використовують групові ознаки. Групові ознаки можуть бути якісними, кількісними та псевдоякісними. Тип проявлення групової ознаки визначає, які загальновідомі сорти можна одразу вилучити з колекції [6].

Так як якісні ознаки не залежать від навколишнього середовища, відмінність між двома сортами є чіткою, якщо одна або більше ознак мають проявлення, які характеризуються різними ступенями ознаки. Тому за формування групи загальновідомих сортів для встановлення відмінності в польових умовах, сорти, які мають різні ступені проявлення якісних ознак одразу вилучають з колекції.

Наприклад, за якісної ознаки «Прилисток: плямистість» зі ступенями проявлення «відсутня; наявна», вилучають загальновідомі сорти, у яких строкатість відсутня, на відміну від сорту-кандидата, у якого строкатість наявна.

Для кількісних і псевдоякісних ознак неможливо застосовувати такий самий підхід як для якісних. Не включати до колекції сорти можна, наприклад, у випадку кількісної ознаки «Рослина: за висотою» сорти зі ступенем проявлення «дуже короткі» та «дуже високі» якщо сорт-кандидат середнього розміру.

А у випадку псевдоякісної ознаки, наприклад, «Пелюстка: забарвлення» зі ступенями проявлення «біле, жовте, зелене, рожеве, пурпурове», можна не включати у польову експертизу загальновідомі сорти з жовтою і зеленою пелюсткою, якщо сорт-кандидат має рожеве забарвлення пелюстки.

Щодо кількісних та псевдокількісних ознак, сорти, які можна вилучити з колекції одразу, визначають впливом навколишнього середовища на ступені проявлення ознаки, відмінністю умов до-вкілля, де здійснюють експертизу.

Використання групових ознак для зменшення залучення загально-новідомих сортів до польової колекції є ефективним за достатньої кількості групових ознак певного ботанічного таксона, особливо за великого набору сортів.

Якщо є два і більше сортів-кандидатів, описи яких дуже подібні за результатами першого року експертизи, їх необхідно висіяти поряд на другий вегетаційний період.

На рівень генетичного варіювання сорту впливають особливості розмноження, а на варіювання між сортами впливає навколишнє середовище залежно від типу проявлення ознаки. Сорти, що розмно-жують вегетативно, облігатно самозапильні та самозапильні сорти мають незначне варіювання в межах сорту. Перехреснозапильні та синтетичні сорти мають значно більший рівень варіювання в межах сорту, особливо в кількісних та деяких псевдоякісних ознаках.

2.2 Методи оцінювання, що застосовують за встановлення критерію відмінності в польових та лабораторних умовах

За здійснення експертизи на відмінність використовують такі підходи:

- А) візуальне оцінювання – пряме візуальне порівняння;
- Б) оцінювання за встановленими ступенями проявлення ознаки;
- В) статистичне опрацювання даних за результатами польової експертизи – передбачає здійснення повного опису сорту.

На вибір необхідного методу впливають особливості розмножен-ня сорту та тип проявлення ознаки, а метод спостереження за озна-ками (VG, MG, VS, MS) залежить від обраного методу оцінювання для встановлення критерію відмінності.

Пряме візуальне порівняння передбачає встановлення критерію відмінності шляхом закладання ділянок сортів поряд одна біля од-ної, щоб ознаки можна було легко обстежити візуально. Цей метод зручно використовувати для сортів, що розмножують вегетативно та самозапильних сортів, так як в даних ботанічних таксонів мін-ливості у межах сорту є незначною. Пряме візуальне порівняння є найнадійнішим, за кожного порівняння якщо різницю між сор-тами можна спостерігати візуально або вона може бути оцінена ві-зуально і її можна виміряти – вона є достатньою щоб вважати, що сорти є відмінними.

Оцінювання за кодами – опис певної ознаки сорту здійснюють шляхом письмової фіксації ступеня проявлення ознаки. Отже, у випадку якісних ознак, сорти з різними ступенями проявлення, тобто з різними кодами однієї ознаки, можуть вважатися від-мітними. І навпаки, сорти, які мають однаковий код, не можуть

вважатися відмітними за цією ознакою. Щодо кількісних ознак то різницю у два коди зазвичай вважають чіткою різницею, але необхідно завжди враховувати фактори навколишнього середовища, місце здійснення експертизи, ступінь проявлення даної ознаки сортів у колекції в поточному році. Різницю у два ступеня проявлення ознаки вважають суттєвою, якщо порівняння двох сортів проводять методом візуального оцінювання групи рослин або окремих, попередньо визначених рослин, або частин рослин. За застосування методу разового вимірювання групи рослин або частин рослин, чи групи окремих, попередньо визначених рослин, або частин рослин різницю, меншу ніж у два ступеня проявлення ознаки, можуть вважати чіткою, але як і у випадку з якісними ознаками, необхідно завжди враховувати фактори, які могли б вплинути на мінливість результату в межах проведення польового дослідіу [10].

Сорти, що мають однаковий ступінь проявлення ознаки є не відмінними щодо цієї ознаки але за прямого порівняння безпосередньо в полі або після здійснення статистичного аналізу на наступний рік експертизи, можливо і встановити відмінність.

За необхідності, встановлення критерію відмінності здійснюють за допомогою статистичного опрацювання результатів польової експертизи [14]. Використання статистичного підходу можливе лише за застосування методів: MS – вимірювання групи окремих, попередньо визначених рослин або частин рослин та VS – візуальне оцінювання окремих, попередньо визначених рослин або частин рослин. За візуального разового оцінювання групи рослин та разового вимірювання групи рослин або частин рослин неможливо застосовувати статистичні методи для встановлення відмінності. Для самозапильних сортів та сортів, що розмножують вегетативно відмінність є чітко встановленою, якщо розбіжність між сортами дорівнює або перевищує найменшу істотну різницю (НІР) за тією ж самою ознакою протягом відповідного періоду, якщо вони описуються однаковим ступенем проявлення.

Визначення відмінності між сортами шляхом прямого візуального порівняння або ступенями проявлення ознаки є швидшим і дешевшим порівняно зі статистичним підходом.

2.3 Використання батьківських компонентів для встановлення відмінності гібрида

Для встановлення відмінності в гібридів може бути доцільним використання батьківських компонентів шляхом польової експертизи. За умови чіткої розбіжності між останніми гібриди вважають чітко відмінними.

Цей метод включає чотири основних етапи:

а) Опис батьківських компонентів за Методикою даного ботанічного таксона;

б) Перевірка батьківських компонентів на відмінність з метою виявлення найподібніших загальновідомих інбредних ліній;

в) Перевірка схеми створення гібрида на відмінність щодо схем загальновідомих гібридів, враховуючи найподібніші інбредні лінії;

г) Оцінка відмінності між гібридами з подібною схемою.

Мета цього методу полягає в тому, що дві інбредні лінії А і В, за різних схрещувань $A \times C$ і $B \times C$ дають два різні гібриди за умови достатньої відмінності між ними. Тобто, якщо відмінність між інбредними лініями є чіткою в разі різних схрещувань отримаємо чітко відмінні гібриди.

Експертизу інбредних ліній, які є зазвичай гомозиготними, а тому й однорідними, здійснюють простіше порівняно з трилінійними або подвійними гібридами.

Для використання цього методу обов'язковим є:

- наявність насінневого матеріалу батьківських ліній;
- схема створення гібрида;
- ведення колекції інбредних ліній, які є складовими загальновідомих гібридів та наявність їхньої схеми;
- застосування методу до всіх гібридів цього ботанічного таксона;
- відмінність встановлюють шляхом застосування переліку ознак, передбачених Методикою.

Різниця між лініями повинна бути чіткою для того, щоб вважати гібриди відмінними, так як різниця лише за однією ознакою може бути недостатньою, щоб забезпечити відмінність між гібридами. Наприклад, якщо два ступені проявлення ознаки – наявне/відсутнє визначають алелями одного гена, одна з яких домінантна (+), то може бути такий варіант:

	А	С	В
Ознака 1	відсутнє (-)	наявне (+)	наявне (+)
Ознака 1	$A \times C (+)$		$C \times B (-)$

Не дивлячись на те, що лінії А і В чітко відрізняються за ознакою 1, після схрещування створені гібриди – не відмінні. Тому, різниці за однією ознакою між лініями недостатньо для чіткої відмінності між гібридами.

Якщо відмінність між гібридами встановлюють цим методом, то обов'язковою умовою є перевірка відповідності (істинності) схеми створення гібрида. Схему створення гібрида можна перевірити за допомогою різних ознак тією мірою, якою може виявлятися генетична структура кожного батьківського компонента в гібриді або використовують ознаки, що ґрунтуються на поліморфізмі ферментів/запасних білків. Якщо цей метод неможливо застосувати, то здійснюють схрещування батьківських компонентів насінним матеріалом, що надав заявник з наступним порівнянням партії насіння зі зразка заявника та зразка, зібраного після схрещування батьківських компонентів.

Перевірка однорідності і стабільності кожного батьківського компонента є необхідною для встановлення стабільності гібрида; використання тієї ж схеми створення за кожного циклу виробництва гібрида. Також важливо оцінювати партію насіння гібрида, навіть у тому випадку, коли немає необхідності оцінювати відмінність гібрида.

За встановлення відмінності гібрида лише за допомогою батьківських компонентів також описують безпосередньо гібрид за Методикою відповідного ботанічного таксона.

3. Однорідність

Предметом експертизи на однорідність є сорти першого, другого та, за необхідності, третього і четвертого років експертизи. Сорт вважають однорідним, якщо він є достатньо гомогенним.

Вимоги до однорідності безпосередньо залежать від індивідуальних особливостей розмноження сорту. Тобто, необхідний рівень однорідності буде різним для облігатно самозапильних сортів, здебільшого самозапильних сортів, інбредних ліній гібридних сортів, сортів, що розмножують вегетативно, перехреснозапильних сортів, синтетичних сортів та гібридів.

Варто зазначити, що серед самозапильних сортів і сортів, що розмножують вегетативно досить низький рівень мінливості. Мінливість у прояві ознак таких сортів є переважно результатом впливу навколишнього середовища. У цьому випадку однорідність оцінюють за рівнем мінливості, що спостерігають у кожній індивідуальній рослині на ділянці.

У перехреснозапильних сортів, синтетичних, через особливості їхнього розмноження, діапазон коливання в межах сорту є більшим і не всі рослини дуже подібні, тому неможливо визначити візуально, які рослини є типовими для цього сорту, а які атиповими. У цьому випадку, однорідність оцінюють урахуванням повної межі коливання ознаки з усіх визначених рослин [11].

Важливо розрізняти генетичні причини нетипового проявлення ознак рослини або частини рослини, такі як мутація та перехресне запилення, та зовнішні фактори – такі як навколишнє середовище, хвороби.

У випадку, коли атиповий прояв ознак рослини або частини рослини не має генетичної основи, рослина не може вважатися нетиповою. Зовнішні фактори, що можуть спричинити атиповий прояв:

- позиційні ефекти (дія різних рівнів освітлення та температури, мінливість рівня плодоношення);
- ураження хворобами та пошкодження шкідниками;
- фізична шкода (вплив погодно-кліматичних умов, використання засобів захисту рослин тощо);
- недостатнє запилення.

3.1 Методи здійснення експертизи на однорідність

Однорідність сорту може бути визначена лише: за кількістю нетипових рослин або методом стандартного відхилення, або комбінацією методів нетипових рослин для відповідних ознак і на основі стандартних відхилень для інших ознак. Загальні підходи для оцінювання однорідності залежно від методу розмноження сорту, типу варіювання ознаки та методу дослідження наведено в таблиці.

Метод розмноження сорту/ способу запилення	Тип проявлення ознак		
	якісний (QL)	псевдоякісний (PQ)	кількісний (QN)
вегетативно	метод «нетипових»	метод «нетипових»	метод «нетипових» (візуальне обстеження) метод стандартних відхилень (вимірювання)
самозапилюю	метод «нетипових»	метод «нетипових»	метод «нетипових» (візуальне обстеження) метод стандартних відхилень (вимірювання)
перехресносамозапилюю	метод «нетипових»	метод «нетипових»	метод стандартних відхилень
прості гібриди (інбредні батьківські лінії)	метод «нетипових»	метод «нетипових»	метод «нетипових» (візуальне обстеження) метод стандартних відхилень (вимірювання)
інші гібриди	застосовують залежно від типу гібрида		

Визначення однорідності якісних та псевдоякісних ознак здійснюють візуально, так само як і при обстеженні ознак на відмінність. На рисунку 3.1.1 можна чітко простежити нетипові рослини на прикладі соняшника однорічного, гречки їстівної.



Рисунок 3.1.1. Нетипові рослини на ділянках соняшника однорічного та гречки їстівної

3.1.1 Визначення однорідності методом нетипових рослин

Якщо всі рослини одного сорту дуже подібні, що характерно для рослин сортів, що розмножують вегетативно та самозапилюються сортів (рис. 3.1.1.2) – однорідність оцінюють за кількістю явно інших рослин – «нетипових» на ділянці.

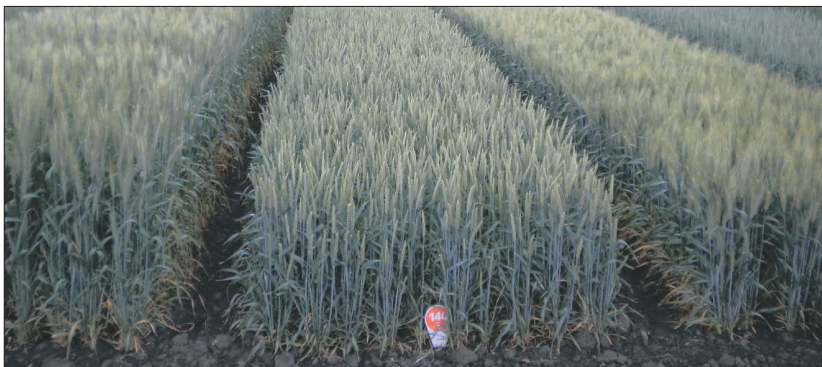


Рисунок. 3.1.1.2. Дослідні ділянки пшениці м'якої озимої

Рослину вважають нетиповою, якщо її можна чітко відрізнити від рослин сорту за проявленням будь-якої ознаки всієї чи частини рослини, яку використовують в експертизі на відмінність.

Оцінюють однорідність сорту за встановленням відсотка нетипових рослин, який залежить від ботанічного таксона та власне методу створення сорту. Методикою ВОС з відповідного ботанічного таксона враховано об'єм вибірки, максимально допустиму кількість нетипових рослин, фіксований популяційний стандарт, рівень ймовірності.

Таким чином для встановлення однорідності сорту беруть визначений Методикою ВОС об'єм вибірки рослин сорту-кандидата і підраховують кількість нетипових рослин. Якщо це число менше або дорівнює максимально допустимому, сорт приймають як однорідний.

Нетиповість установлюють щодо кожної ідентифікаційної ознаки, а не для рослини в цілому. Нетипові рослини або частини рослини на ділянці позначають стрічкою, маркером тощо та важливо робити їхню фотофіксацію, щоб мати можливість прослідкувати за їхнім розвитком упродовж періоду вегетації. Позначення червоною стрічкою нетипової рослини на ділянці зображено на рисунку 3.1.1.3.

Вимоги до однорідності безпосередньо залежать від індивідуальних особливостей розмноження сорту. Тобто, необхідний рівень однорідності буде різним для облігатно самозапилюються сортів, здебільшого самозапилюються сортів, інбредних ліній гібридних сортів,



Рисунок. 3.1.1.3. Нетипові рослини на дослідних ділянках, позначені червоною стрічкою

сортів, що розмножують вегетативно, перехреснозапильних сортів, синтетичних сортів та гібридів.

У деяких випадках з перехреснозапильними сортами однорідність встановлюють методом нетипових рослин, особливо для якісних та псевдоякісних ознак. Тобто, якщо переважна більшість рослин сорту матимуть дуже подібні ступені проявлення ознак, то рослини з чітко відмінними ступенями проявлення можна визначати як нетипові. Як приклад – забарвлення коренеплодів редьки посівної.

Рослини можна позначати, як нетипові, як тільки проявлення нетиповості буде помічено хоча б за однією ознакою. Після цього немає потреби оцінювати цю нетипову рослину.

Додаткова нетиповість інших рослин може бути ідентифікована на пізнішому етапі експертизи. Загальну кількість нетипових рослин сорту визначають після обстеження всіх відповідних ознак.

3.1.2 Визначення однорідності методом стандартних відхилень (за рівнем мінливості ознаки)

За встановлення однорідності сортів видів, для яких властивий високий рівень мінливості (рис. 3.1.2.4) в проявленні ознак рослин, неможливо візуально визначити, які рослини повинні розглядатись як нетипові.

Тому, у таких випадках необхідно застосовувати інший метод визначення критерію однорідності – метод стандартних відхилень. Метод стандартних відхилень означає, що сорт-кандидат не повинен бути значно менш однорідним порівняно з аналогічними сортами.

Порівнюють сорт-кандидат з аналогічними сортами на основі стандартних відхилень, що обчислюють за результатами обстежень окремих рослин. Аналогічні сорти – це сорти того ж типу, у межах тих чи споріднених видів, які вже пройшли експертизу й отримали позитивний результат щодо однорідності. Сорти, що порівнюють можуть належати до видів сортів одного роду або різних – вимоги до



Рисунок 3.1.2.4. Дослідні ділянки з високим рівнем мінливості

однорідності ґрунтуються на особливостях розмноження сорту, тому порівнювати можна ті сорти, які мають найподібніші особливості розмноження. Щодо сортів того ж роду або виду, які мають різні особливості розмноження, то їх необхідно розглядати окремо стосовно стандартів однорідності. У випадку міжвидових та міжродових гібридів батьківські види і роди повинні розглядатись в межах сортів, що порівнюють. Для визначення однорідності за допомогою вимірювання кількісних ознак використовують статистичні методи [7, 13].

За методом стандартних відхилень обстеження можуть здійснювати візуально чи за допомогою вимірювань. Візуальні обстеження передбачають наявність в експерта високої кваліфікації та досвіду, а отримані дані повинні підходити для розрахунку середнього та стандартного відхилення. Обстеження шляхом вимірювань потрібні для забезпечення точності оцінювання мінливості ознаки.

Однорідність і стабільність батьківських ліній є важливими для стабільності гібрида. Перевіряють однорідність гібрида і тоді, коли його відмінність уже підтверджено на основі батьківських ліній.

4. Експертиза на стабільність

Предметом експертизи на стабільність є сорти другого та третього років дослідження. Експертизу на стабільність проводять у той самий час, що й експертизу на відмінність та однорідність. Зазвичай, коли сорт однорідний, його можна вважати стабільним, а коли сорт не стабільний, вирощений рослинний матеріал не буде відповідати ознакам сорту, в результаті такий сорт не може отримати державну реєстрацію.

Сорт вважається стабільним, за умови, що його основні ознаки, залишаються незмінними після неодноразового розмноження, у разі особливого циклу розмноження, наприкінці кожного такого циклу.

За необхідності встановлення критерію стабільності сорту висівають насіння другого року сорту-кандидата та насіння першого року для встановлення розбіжностей основних морфологічних ідентифікаційних ознак отриманих рослин. Якщо стани проявлення відповідних ознак є однаковими у двох поколіннях – сорт вважають стабільним. Рослини сорту наступних поколінь повинні бути ідентичними за усіма ознаками. Щодо кількісних ознак, то сорт-кандидат вважають стабільним, якщо відсутні будь-які статистичні розбіжності між показниками у двох поколіннях.

Здатність сорту залишатися незмінним протягом відтворення послідовних поколінь, а отже і бути стабільним, залежить від генетичної структури сорту та від селекційних зусиль, яких доклав селекціонер, для того щоб сорт залишався однорідним і стабільним від одного циклу до наступного. Стабільність можна розглядати як однорідність у часі.

Якщо кількість нетипових рослин у межах сорту чітко перевищує допустиму норму на ділянці, сорт вважають неоднорідним. У такому разі рішення щодо стабільності не приймають.

Експертизу на стабільність можна проводити шляхом експертизи нового насіння або садивного матеріалу, або за основу беруть той самий зразок, але після циклу розмноження [12].

4.1. Методи встановлення стабільності в польових умовах для ботанічних таксонів, що розмножують насінням

Встановлення критерію стабільності ботанічних таксонів, що розмножують насінням можливе в польових умовах декількома методами.

а) Для встановлення стабільності одночасно зі встановленням відмінності та однорідності необхідно висіяти насіння з двох послідовних поколінь (C1 і C2), що надає заявник. Рослини на ділянках C1 та C2 порівнюють для встановлення ідентичності, тобто чи немає розбіжностей в ідентифікаційних ознаках. Якщо ступінь проявлення ознак є однаковим на ділянках C1 та C2 – сорт вважають стабільним. Щодо ознак, які потребують вимірювань – сорт вважають стабільним якщо відсутні будь-які статистичні розбіжності між показниками у двох поколіннях. Паралельно насіння C1 висівають поряд із загальновідомими сортами, на ділянках яких встановлюють відмінність та однорідність.

б) Якщо відсутнє насіння двох послідовних поколінь, встановлення стабільності здійснюють на другий рік, висіваючи насіння поточного року поряд із насінням наступного покоління.

4.2. Визначення критерію стабільності в гібридів

Визначення критерію стабільності в гібридів має свої особливості, які полягають в тому, що гібриди утворюються унаслідок схрещування двох або більше батьківських ліній і тому не можуть передавати ознаки наступному поколінню, тому що мають гетерозиготну генетичну структуру. Тому, не можна отримати два покоління гібридів з двох послідовних поколінь насіння та встановити стабільність. Але всі гібриди мають чіткий цикл розмноження і тому повинні бути стабільними в кінці кожного такого циклу розмноження для отримання позитивного результату.

Якщо необхідно, то стабільність гібрида також можна встановити за допомогою експертизи його батьківських ліній, тобто однорідність і стабільність останніх гарантує чітку стабільність гібрида.

5. Додаткові методи, що використовують за здійснення експертизи

У разі проведення прямого візуального порівняння в польовому досліді сортів пліч-о-пліч (поруч) та за встановлення, що сорти відрізняються між собою за декількома ознаками з мінімальним діапазоном ступеня проявлення, доцільно застосувати додатковий метод експертизи – електрофорез запасних білків або визначення поліморфізму за допомогою ДНК маркерів.

5.1. Метод електрофорезу запасних білків насіння в ПААГ

Одним із додаткових методів, що використовують за здійснення експертизи на відмінність, однорідність та стабільність є метод електрофорезу запасних білків насіння в поліакриламідному гелі (ПААГ).

Електрофоретичний спектр запасних білків є постійною генетичною характеристикою сорту. За сучасними даними у кукурудзи виявлено 20 структурних генів зеїна. Генетичний поліморфізм зеїна, як й у проламінів інших злаків, чітко проявляється електрофорезом у кислому буфері [8].

У результаті проведення електрофорезу запасних білків насіння кукурудзи в ПААГ для встановлення відмінності отримуємо електрофореграму спектра зеїнів, який включає в себе поліпептиди різного розміру (рис. 5.5).

Як видно з рисунка 5.5, перший сорт у результаті розділення спектрів зеїнів містить поліпептид, який відсутній у другого сорту (позначено 1). Зважаючи на те, що відповідно до інтерпретації результатів електрофорезу запасних білків, досліджувані зразки можна вважати відмінними при наявності хоча б одного відмінного поліпептида. Для досліджуваних сортів, крім відмінності за різними поліпептидами, характерна також відмінність і за їхньою інтенсивністю. На рисунку позначені поліпептиди (2), що мають різну інтенсивність. Зазвичай використовують цифрову оцінку інтенсивності:

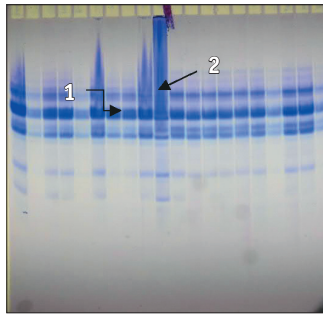


Рисунок 5.5. Електрофорез запасних білків, на прикладі кукурудзи звичайної

1 – слабкий компонент зеїну; 2 – середньої інтенсивності; 3 – інтенсивний [8]. Використання електрофорезу запасних білків для порівняння сортів у наведеному випадку показує, що сорти відмінні.

Таким чином, аналіз спектрів зеїнів дозволяє робити висновки про сортову чистоту насіннєвого матеріалу та відмінність гібридів чи ліній.

5.2. Застосування ДНК маркерів для визначення відмінності

Відповідно до принципів UPOV (International union for the protection of new varieties of plants) в рамках кваліфікаційної експертизи на ВОС застосовують додаткові методи оцінювання відмінності сортів, зокрема оцінювання сортів за ДНК маркерами. Для визначення поліморфізму сортів широко використовують SSR (Simple Sequence Repeats) маркери [16]. Одними з переваг використання SSR маркерів є високий рівень поліморфізму, широке розповсюдження по геному, кодомінантний тип успадкування, а також наявність валідованих методик щодо їхнього застосування.

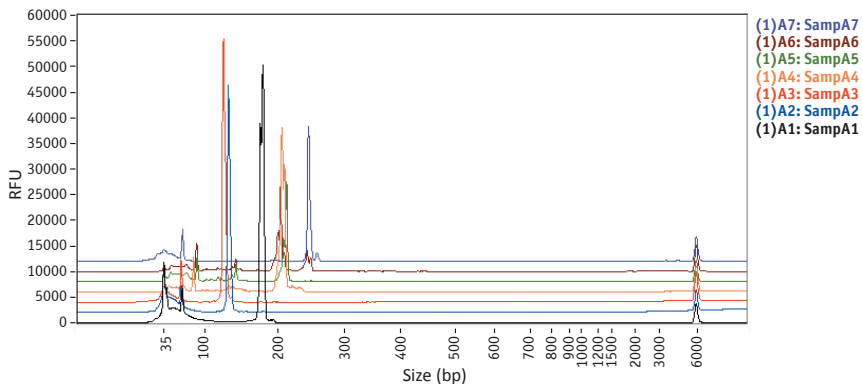


Рисунок 5.6. Результати електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації 7 ліній кукурудзи за SSR маркерами: umc1792 (SampA1-SampA3); bnlgl782 (SampA4-SampA6).

На рисунку 5.6 показано, що у досліджуваних ліній кукурудзи за маркером umc1792 ідентифіковано алелі розміром 179, 132 та 125 п.н., за маркером bnlgl782: 206, 213, 204 та 247, відповідно. Наявність алелів різного розміру в даному випадку свідчить про те, що за вказаними маркерами лінії відрізняються. Такий аналіз дозволяє визначити відмінні лінії кукурудзи, які за проявленням морфологічних ознак з мінімальним діапазоном ступеня проявлення виявились дуже близькими.

Крім того можливе застосування ДНК-маркерів для визначення S- та C- типів стерильності ліній кукурудзи звичайної забезпечить визначення відмінності ніж ними в комплексі з польовими дослідженнями, що скорочує тривалість польової експертизи стерильних аналогів до одного року досліджень.

6. Перевірка даних і припущень на достовірність

Для уникнення помилок в інтерпретації результатів, дані завжди повинні бути досконало проконтрольовані, логічно послідовні та не суперечити попередній інформації про діапазон варіювання для різних ознак. Такий контроль можна проводити вручну (візуально) або автоматично. Під час застосування статистичних методів можна також перевірити припущення, як один із варіантів перевірки даних на наявність помилки.

Перевірка даних на відсутність помилок стосується усіх методів обстежень ознак, незалежно від того чи дані представлено у вигляді кодів, у результаті візуального спостереження або вимірювань для групи рослин, або у формі одиничних записів для групи окремих рослин або частин рослин для статистичного опрацювання даних.

Помилки можуть бути такі:

- записано значення, що не входить до допустимих кодів. Така помилка, наприклад, може виникнути за перенесення даних з робочого зошита до польового журналу;

- значення, що виходить за передбачений діапазон значень, наприклад, довжина стебла перцю солодкого 400 см. Ця помилка виникає унаслідок випадкового повторення ще одного нуля і без сумніву є помилкою;

- значення з невірно застосованими одиницями вимірювання, наприклад, застосовано мм, а потрібно см.

В усіх випадках потрібно здійснити ретельну перевірку для виправлення невірних значень. Інколи можна повернутися безпосередньо до поля і перевірити чому допущена помилка під час вимірювання, або переглянути попередні записи для встановлення причини суперечливих результатів.

Перелік джерел посилання

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М. : Агропромиздат, 1985. 351 с.
2. Закон України «Про охорону прав на сорти рослин». URL: <http://sops.gov.ua/uploads/files/documents/Zakon/zakon-ohprav-new.htm>
3. Методика проведення кваліфікаційної експертизи сортів рослин на придатність до поширення в Україні. Загальна частина. URL: <https://sops.gov.ua/uploads/page/5a5f413bb9be6.pdf>
4. Методики проведення експертизи сортів рослин на відмінність, однорідність та стабільність (ВОС). URL: <http://sops.gov.ua/vos>
5. Положення про еталонні колекції сортів рослин. Збірник нормативно-правових актів з питань охорони прав на сорти рослин. К. : 2005. С. 239–241.
6. Ткачик С. О. Формування сортових колекцій сої *Glycine max* (L.) Merrill та їх використання для державної експертизи. *Селекція і насінництво*. 2005. Випуск 90. С. 261–267.
7. Шмидт В. М. Математические методы в ботанике. Изд-во Ленинградского университета, 1984. 285 с.
8. Сидорова В. В., Матвеева Г. В., Керв Ю. А., Конарев А. В. Возможности использования зеиновых маркеров в повышении эффективности гетерозисной селекции кукурузы. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2012. Т. 170. С. 147–157.
9. General introduction to the examination of distinctness uniformity and stability and the development of harmonized descriptions of new varieties of new varieties of plants. UPOV. Geneva. TG 1/3, April 19, 2002. 26 p.
10. List all Test Guidelines by TG Reference. URL: http://www.upov.int/test_guidelines/en/list.jsp.
11. TGP /10 «Examining uniformity». URL: http://www.upov.int/edocs/tgpdocs/en/tgp_10_1.pdf.
12. TGP /11 «Examining stability». URL: http://www.upov.int/edocs/tgpdocs/en/tgp_11.pdf.
13. TGP /7 Development of test guidelines. URL: http://www.upov.int/edocs/tgpdocs/en/tgp_7.pdf.
14. TGP /8 Trial design and techniques used in the examination of distinctness, uniformity and stability. URL: http://www.upov.int/edocs/tgpdocs/en/tgp_8_1.pdf.
15. TGP /9 Examining distinctness. URL: http://www.upov.int/edocs/tgpdocs/en/tgp_9_1.pdf.
16. Prysiazniuk L., Shytikova Yu., Starychenko Ye. et al. The estimation of maize lines by morphological and SSR markers and using GAIA software within DUS test. *International Ankara Conference of scientific research: Proc. II Int. Ankara Conference of scientific research* (Ankara, Turkey, March, 6 2020), 2020. P. 503–510.

НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ПОЛЬОВОЇ ЕКСПЕРТИЗИ СОРТІВ РОСЛИН НА ВІДМІННІСТЬ, ОДНОРІДНІСТЬ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Науково-методичні рекомендації

Методичні рекомендації розглянуто, схвалено та рекомендовано до видання Вченою радою Українського інституту експертизи сортів рослин, протокол № 6 від 25 червня 2020 року.

Методичні рекомендації підготували: З. Б. Києнко, С. М. Гринів, Н. А. Мізерна, Л. М. Присяжнюк, Н. Б. Якубенко, М. М. Таганцова, Н. П. Костенко, Н. В. Симоненко, Л. І. Чухлеб, А. М. Носуля, О. В. Свиначук, В. М. Матус, Т. В. Дудка, Л. М. Баліцька, М. С. Юшкевич, Т. А. Данюк, Н. Г. Кондратенко, С. П. Лікар.

Рецензент: Рахметов Д. Б. – доктор сільськогосподарських наук, професор, заступник директора з досліджень, Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України.

Комп'ютерне верстання: Бойко А. І.

Формат 64×84 1/16. Папір офсетний.
Друк цифровий. Гарнітура Schoolbook

Друк. арк.	Умов. друк. арк.
Наклад	прим. Зам. №

Віддруковано з оригіналів замовника.

Видавець ТОВ «ТВОРИ»

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів видавничої продукції серія ДК № 6188
від 18.05.2018 р.

21027, м. Вінниця, вул. Келецька, 51а, прим. 143.

Тел.: (0432) 603-000, 69-67-69

e-mail: info@tvoru.com.ua

<http://www.tvoru.com.ua>