

**MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE
ALIMENTARI E FORESTALI**

DECRETO 25 febbraio 2014.

Criteri e procedure tecniche per l'iscrizione al Registro nazionale di varietà di riso.**IL DIRETTORE GENERALE**
DELLO SVILUPPO RURALE

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

Visto il decreto del Presidente della Repubblica 24 novembre 1972, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 44 del 17 febbraio 1973, relativo all'istituzione dei «Registri obbligatori delle varietà» di cereali, patata, specie oleaginose e da fibra;

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

Visto il decreto ministeriale 10 maggio 1984, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 145 del 28 maggio 1984, recante «modalità per la presentazione delle domande per l'iscrizione nei registri nazionali delle varietà di specie agricole e orticole»;

Visto il decreto ministeriale 21 ottobre 2002, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 280 del 29 novembre 2002, recante «Criteri per l'iscrizione al Registro nazionale di varietà di riso»;

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

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

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

Ritenuto di procedere all'aggiornamento dei criteri e delle procedure tecniche per l'iscrizione al Registro nazionale delle varietà di riso;

Decreta:

Art. 1.

Sono approvati i nuovi criteri di iscrizione al Registro nazionale delle varietà di riso e pertanto la procedura di iscrizione al Registro nazionale, di cui all'articolo 19 della legge 25 novembre 1971, n. 1096, delle predette varietà è soggetta ai criteri di cui all'allegato, che fa parte integrante del presente decreto.

Art. 2.

Le modalità per la presentazione delle domande d'iscrizione nel Registro nazionale delle varietà di riso, di cui al decreto ministeriale 10 maggio 1984, sono modificate secondo quanto previsto nell'allegato al presente decreto.

Art. 3.

Le tariffe di cui alla legge 22 dicembre 1981, n. 744, stabilite con decreto ministeriale 21 ottobre 2002, sono sostituite da quelle previste nell'allegato al presente decreto. Il decreto 21 ottobre 2002 è abrogato.

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

Roma, 25 febbraio 2014

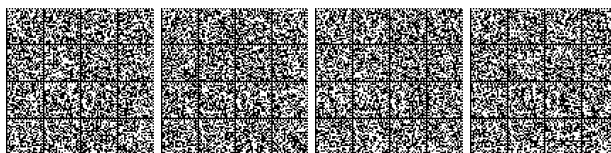
Il direttore generale: CACOPARDI

Registrato alla Corte dei conti il 19 marzo 2014
Ufficio di controllo atti MISE - MIPAAF, foglio n. 1113



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

Gennaio 2014



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

Oryza sativa L.

PREMESSA

Il lavoro di revisione dei criteri e delle procedure per l'iscrizione delle varietà di riso è stato predisposto in collaborazione tra Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (MiPAAF), Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura (CRA-SCS e CRA-RIS), Ente Nazionale Risi (ENR).

1. PARTE GENERALE

1.1 Gestione delle prove

L'esecuzione delle prove per l'iscrizione al registro italiano delle Varietà è gestita dal Centro di coordinamento, nominato dal MiPAAF che, avvalendosi di un gruppo tecnico costituito dai rappresentanti delle Istituzioni che effettuano le prove, ha il compito di:

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

Le funzioni del Centro di coordinamento consistono in:

- ◇ ricevimento dei campioni di seme,
- ◇ preparazione campioni parcellari di seme per tutti gli organismi coinvolti nella realizzazione dell'attività sperimentale,
- ◇ reperimento campioni di varietà di riferimento,
- ◇ preparazione schema sperimentale,
- ◇ preparazione delle schede di raccolta dei dati,
- ◇ effettuazione di sopralluoghi alle prove di campo,
- ◇ elaborazione statistica dei risultati,
- ◇ preparazione ed invio dei fascicoli al MiPAAF e allo specifico gruppo tecnico di settore,
- ◇ preparazione e invio dei fascicoli per i costitutori.

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



1.2 Questionario tecnico

Per una corretta impostazione delle prove, il Centro di coordinamento si avvale del Questionario tecnico che è fornito dal costituente in allegato alla domanda di iscrizione al registro. Il questionario (*allegato n. 1*) deve indicare per la varietà candidata la genealogia, la descrizione morfologica, le caratteristiche agronomiche e qualitative, compresa eventualmente la particolare destinazione d'uso della varietà, le modalità con le quali è stata ottenuta, le caratteristiche che la differenziano dalle altre varietà note più simili.

1.3 Modalità e tempi per la presentazione della domanda

La domanda per l'iscrizione della nuova varietà deve pervenire:

- ◇ in originale al MiPAAF con allegati:
 - ◇ questionario tecnico,
 - ◇ scheda descrittiva, se già disponibile,
 - ◇ restante documentazione necessaria,
- ◇ in copia, alla Regione in cui ha sede il Centro di coordinamento (senza allegati),
- ◇ in copia al Centro di coordinamento, preferibilmente in formato elettronico, con allegati:
 - ◇ questionario tecnico,
 - ◇ scheda descrittiva, se già disponibile,

entro il:

15 gennaio

1.4 Materiale da inviare al Centro di coordinamento

Il Richiedente deve inviare al Centro di coordinamento, per ogni ciclo di semina, entro il:

15 febbraio

il seguente materiale:

un campione di 20 kg di seme della nuova varietà.

Le caratteristiche tecnologiche delle sementi inviate devono corrispondere a quelle previste dalla normativa comunitaria per la categoria Base (grana rossa non più di 1 su 0,5 kg, purezza specifica 98%, germinabilità minima 80%). Inoltre, devono essere rispettati i requisiti previsti in materia fitosanitaria dal D.lgs. 214/2005 per la specie riso. Il limite previsto per la



ricerca di cariossidi a pericarpo rosso non si applica alle varietà il cui colore della cariosside (carattere 35) ha classe di espressione 5, 6, 7 e 8.

Le sementi inviate non devono essere trattate con antiparassitari. Eventuali trattamenti fungicidi devono essere concordati con il Centro di coordinamento; nel caso in cui il trattamento venga effettuato, il costitutore deve indicare il prodotto commerciale impiegato, il principio attivo, il dosaggio, le modalità d'impiego e allegare la scheda di sicurezza del formulato.

L'invio del materiale per la prova descrittiva e per la prova agronomica e di utilizzazione della varietà candidata non pregiudica la sua possibile protezione.

1.5 Numero di località

La prova descrittiva viene realizzata in una località/anno avente condizioni pedo-climatiche più simili a quelle degli areali di maggiore diffusione della specie.

La prova agronomica viene realizzata in almeno tre località/anno.

1.6 Durata delle prove

Le prove descrittive ed agronomiche e gli eventuali accertamenti speciali richiesti dal costitutore vengono normalmente effettuati in due cicli indipendenti di semina.

2. PROVA DESCRITTIVA

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

La prova comprende la coltivazione parcellare in campo per il rilievo dei caratteri morfo-fisiologici e analisi di laboratorio.

2.1 Condizioni della prova

La prova viene realizzata per ogni ciclo di semina sulla nuova varietà.



La popolazione di ogni parcella deve essere di almeno 1500 piante in due o più ripetizioni.

Di seguito vengono riportate le dimensioni standard delle parcelle:

lunghezza	8,50 m
larghezza	1,20 m
distanza tra le file	0,20 m circa
n° di file	6
superficie	10 m ²

Lungo il perimetro del campo dovranno essere presenti almeno 6 file di bordo.

Le tecniche colturali da adottarsi nel campo prova devono essere adeguate per un ottimale sviluppo delle piante e una migliore espressione dei caratteri.

Nel secondo ciclo di semina, si dovrà predisporre un confronto tra il seme inviato nel primo e quello inviato nel secondo anno di prova, attraverso la realizzazione di 2 parcelle affiancate delle dimensioni di almeno 1 m².

2.2 Collezione di riferimento e scelta dei testimoni varietali

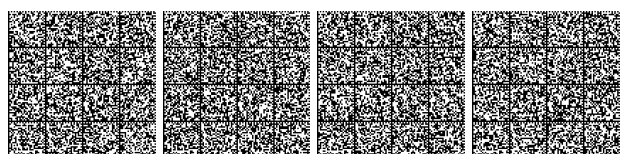
Il Centro di coordinamento deve disporre di una collezione di riferimento allo scopo di valutare la distinguibilità della varietà in prova rispetto a quelle già note.

- ◊ La collezione è costituita da materiale di propagazione, scheda descrittiva, documentazione fotografica della varietà negli stadi più significativi dello sviluppo e ogni altra utile informazione.
- ◊ La collezione comprende le varietà iscritte o protette a livello comunitario (in particolare le varietà di riferimento CPVO, almeno quelle coltivabili negli areali italiani), le varietà protette negli Stati aderenti all'UPOV, ogni altra varietà di comune conoscenza.
- ◊ Nell'ambito della collezione di riferimento vengono identificate le varietà testimoni da utilizzare per l'accertamento della distinguibilità.

Le varietà da utilizzare come testimoni saranno quelle che vengono considerate più simili in rapporto a tale confronto.

2.3 Raggruppamento delle varietà

Sulla base delle informazioni fornite dal costitutore attraverso il questionario tecnico e al fine di facilitare la valutazione della distinguibilità, le varietà candidate devono essere raggruppate utilizzando i seguenti caratteri CPVO:



- ◇ Foglia: pigmentazione antocianica delle auricole (carattere 4),
- ◇ Ciclo vegetativo semina-fioritura (50% di piante spigate) (carattere 9),
- ◇ Solo varietà non prostrate: lunghezza culmo (esclusa la pannocchia) (carattere 15),
- ◇ Pannocchia: ariste (carattere 19),
- ◇ Cariosside (seme sbramato): lunghezza (carattere 32),
- ◇ Cariosside (seme sbramato): forma (vista laterale) (carattere 34),
- ◇ Cariosside (seme sbramato): colore (carattere 35),
- ◇ Cariosside (seme sbramato): aroma (carattere 38).

2.4 Scheda descrittiva

Negli *allegati 2 e 3* vengono riportati l'elenco dei caratteri descrittivi e i criteri per la valutazione di ciascun carattere. L'elenco fa riferimento alla lista di caratteri in base alla linea guida dell'Ufficio Comunitario delle Varietà Vegetali (CPVO) e dell'Unione Internazionale per la Protezione delle Novità Vegetali (UPOV), così come previsto dalla direttiva 2003/90/CE della Commissione del 6 ottobre 2003 e successive modificazioni, recepita con D.M. 14 gennaio 2004 e successive modificazioni.

2.5 Valutazione della distinguibilità

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

Fatto salvo quanto previsto al successivo punto 2.6, i caratteri che devono essere rilevati ai fini della valutazione della distinguibilità della varietà candidata sono quelli riportati nella scheda descrittiva (*allegato n. 2*).

I caratteri sono classificati in qualitativi (QL) e quantitativi (QN). I caratteri QN possono essere misurati tramite misurazione singola effettuata su un gruppo di piante o su parti di esse (MG) oppure tramite misurazione effettuata su di un numero di piante individuali o su parti di esse (MS).



Una nuova varietà è considerata distinta se essa si differenzia chiaramente da tutte le altre varietà di cui è nota l'esistenza al momento della domanda di iscrizione per almeno un carattere.

I caratteri che devono essere rilevati ai fini della valutazione della distinguibilità sono quelli riportati nella scheda descrittiva (*allegato 2*) e valutati secondo le metodologie riportate nell'*allegato 3*.

La differenziabilità può essere attestata anche attraverso la verifica della presenza di un carattere aggiuntivo che consenta la distinguibilità, in base a quanto previsto al successivo punto 2.6 e secondo quanto stabilito dallo specifico gruppo tecnico di settore.

2.5.1 Caratteri qualitativi

I caratteri qualitativi sono quelli in cui i livelli di espressione sono discontinui (es. Pigmentazione antocianica: presente o assente).

2.5.2 Caratteri quantitativi

I caratteri quantitativi sono quelli in cui i livelli di espressione coprono tutto l'intervallo di variazione, da un estremo all'altro. L'intervallo di espressione è suddiviso in un certo numero di livelli (es. Ciclo vegetativo: precocissimo, precoce, medio, tardivo, molto tardivo).

2.6 Caratteri aggiuntivi utili ai fini della determinazione della distinguibilità

Su richiesta del costituente possono essere presi in considerazione ulteriori caratteri utili ai fini della determinazione della distinguibilità, a condizione che sia stabilita una adeguata procedura per l'accertamento degli stessi d'intesa tra il Centro di Coordinamento e il MiPAAF. Tali procedure potranno essere attivate a condizione che la dichiarazione del richiedente, al momento della domanda, sia supportata da adeguata documentazione tecnica che dovrà contenere tutte le informazioni necessarie all'individuazione dei protocolli opportuni di rilevamento e validazione del carattere (*allegato 5*).

In particolare l'espressione del carattere deve:

- ◊ essere il risultato di un particolare genotipo o della combinazione di più genotipi;
- ◊ essere sufficientemente consistente e ripetibile in una determinata condizione ambientale;



- ◊ mostrare una sufficiente variabilità tra le varietà che consenta di stabilire la distinguibilità;
- ◊ permettere una definizione precisa e riconoscibile;
- ◊ consentire il rispetto dei requisiti di uniformità;
- ◊ consentire il rispetto dei requisiti di stabilità, ovvero, deve dare risultati consistenti e ripetibili a seguito di successive moltiplicazioni o al termine di ciascun ciclo di propagazione.

2.7 Valutazione dell'omogeneità

Per i caratteri identificati con A nella scheda dei caratteri, la varietà viene considerata omogenea se il numero di fuori tipo è inferiore o uguale alla soglia indicata nella tabella sottostante che considera una popolazione standard pari a 1 % con probabilità superiore o uguale a 95 %:

N° PIANTE ESAMINATE	NUMERO DI FUORI-TIPO AMMESSI
1-5	0
6-35	1
36-82	2
83-137	3

Per i caratteri che riguardano la pigmentazione (caratteri 4, 11, 12, 13, 16, 17, 23, 28, 35) e il carattere "Spighetta: pubescenza della lemma" (carattere 22) vengono utilizzati i limiti dei caratteri B.

Per i caratteri identificati con B nella scheda dei caratteri, la varietà viene considerata omogenea se il numero di fuori tipo è inferiore o uguale alla soglia indicata nella tabella sottostante che considera una popolazione standard pari a 0,1 % con probabilità superiore o uguale a 95 %:

N° PIANTE ESAMINATE	NUMERO DI FUORI-TIPO AMMESSI
1000	3
1500	4
2000	5



2.8 Valutazione della stabilità

Una varietà è considerata sufficientemente stabile quando non c'è evidenza che indichi una mancanza di omogeneità.

Una varietà è stabile se essa resta conforme alla definizione dei suoi caratteri essenziali a seguito di riproduzioni o moltiplicazioni successive ovvero alla fine di ogni ciclo qualora il suo costituente abbia definito un particolare ciclo di riproduzione o moltiplicazione. Il requisito di stabilità è dato per acquisito laddove è accertato il requisito di omogeneità e differenziabilità.

3. PROVA AGRONOMICA

Scopo della prova agronomica è quello di valutare se la varietà possiede un valore agronomico o di utilizzazione soddisfacente. Tale requisito si considera rispettato se la varietà in prova costituisce, rispetto alle altre varietà note, un netto miglioramento per la coltivazione o per la gestione dei raccolti o per l'impiego dei prodotti ottenuti, almeno per la produzione in un determinato areale. L'eventuale deficienza di talune caratteristiche potrà essere compensata dalla presenza di altre caratteristiche favorevoli.

Le prove verranno realizzate come riportato in allegato (*all. 4*).

3.1 Valutazione dei risultati

Dall'elaborazione del complesso dei dati rilevati, sarà possibile esprimere, per ogni varietà in iscrizione, un giudizio agronomico e di utilizzazione, contenente anche eventuali indicazioni sugli areali di coltivazione o sulle tecniche colturali consigliabili ed un giudizio qualitativo.

3.2 Limiti di ammissibilità

Le nuove varietà per essere iscritte dovranno presentare un indice produttivo medio non inferiore a 90 fatto 100 il testimone di riferimento nel biennio. Nel caso di particolari destinazioni d'uso il limite di ammissibilità potrà essere valutato in funzione della diversa rilevanza di altri caratteri agronomici e/o qualitativi.

4. ISCRIZIONE CON UN ANNO DI PROVE SOTTO SORVEGLIANZA UFFICIALE

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



In questo caso e fin dal **1° anno di prove**, il costitutore deve:

- ◊ inviare la domanda di iscrizione entro il 15 gennaio secondo le modalità previste al punto 1.2 e 1.3;
- ◊ indicare che intende avvalersi della possibilità fornita dal presente paragrafo;
- ◊ comunicare l'ubicazione delle prove descrittive e agronomiche e segnalare il laboratorio in cui verranno effettuate le analisi di qualità (allegato 2: Caratteri 36-37-38).

Le prove condotte dal costitutore devono essere eseguite in conformità con i protocolli d'esame previsti dal presente documento. In particolare dovranno essere rispettati i testimoni utilizzati nelle prove ufficiali, il numero e la distribuzione delle località.

Il costitutore deve altresì inviare al Centro di coordinamento entro il 15 febbraio, un campione di seme di 1 kg.

Il Centro di coordinamento provvederà ad ispezionare le prove in corso a cura del costitutore, per verificare la corretta applicazione del protocollo d'esame.

Il Costitutore inoltre deve comunicare al Centro di coordinamento il nominativo del referente delle prove.

Al **secondo anno di prova (primo anno ufficiale)** oltre alla conferma della domanda di iscrizione, che dovrà pervenire entro il 15 gennaio ai destinatari indicati al punto 1.3, devono essere inviati al Centro di coordinamento :

- ◊ i risultati della prova descrittiva effettuata secondo le modalità indicate nella scheda descrittiva (*all. 2*) e la valutazione dell'omogeneità;
- ◊ i risultati della prova agronomica eseguita secondo il protocollo d'esame riportato nell'*allegato n. 4*;
- ◊ i risultati delle determinazioni qualitative eseguite secondo le metodiche di riferimento riportate nell'*allegato n. 3*;
- ◊ i risultati di eventuali accertamenti speciali.

I risultati delle prove devono essere inviati al Centro di coordinamento in forma elettronica.

Per l'anno di prova ufficiale il costitutore deve inviare entro il 15 febbraio il materiale di prova indicato al paragrafo 1.4 per il primo anno.

Qualora risultino discrepanze tra i risultati dei due anni di prova, il MiPAAF, su parere dello specifico gruppo tecnico di settore, d'intesa con il costitutore, dispone l'effettuazione di un ulteriore anno di prova.



5. RAPPORTI CON IL COSTITUTORE

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

Al termine del primo anno di prove ufficiali, i dati provvisori rilevati sulle nuove varietà verranno messi a disposizione del costitutore interessato.

Al termine del secondo anno di prove ufficiali, i dati finali rilevati sulle nuove varietà verranno messi a disposizione del costitutore interessato dopo le valutazioni dello specifico gruppo tecnico di settore.

6. COSTI DELLE PROVE

I costi delle prove effettuate secondo le modalità previste nel presente protocollo sono riportati in allegato (*All. 6*).

Eventuali accertamenti speciali effettuati ai sensi del paragrafo 2.6 saranno definiti in termini di costi dal Centro di coordinamento d'intesa con il MiPAAF.

Qualora il costitutore si avvalga della possibilità di cui al precedente punto 4 (iscrizione con un solo anno di prove ufficiali) il costo, relativamente all'anno di prova realizzato a sua cura, è limitato alla spesa di coordinamento.

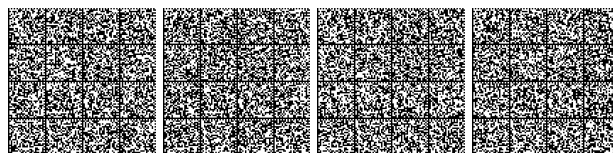


Allegato 1

QUESTIONARIO TECNICO (Rif.: CPVO TP/016/2 Final del 21.03.2012)			
1. SPECIE: RISO – <i>Oryza sativa</i> L.			
2. RICHIEDENTE - indicare se diverso dal costituente: SI ☐ NO ☐			
Nome:			
Indirizzo:			
N° tel:		N° fax:	e-mail:
3. DENOMINAZIONE PROPOSTA O RIFERIMENTO DEL COSTITUTTORE			
La denominazione è un codice (C) ☐ o un nome di fantasia (F) ☐ ?			
La denominazione è: provvisoria ☐ definitiva ☐			
4. GENEALOGIA ED INFORMAZIONI SULLE MODALITÀ DI SELEZIONE, MANTENIMENTO E RIPRODUZIONE DELLA VARIETÀ			
4.1 Origine			
a)	Incrocio (indicare varietà parentali)	☐	
b)	Mutazione (indicare varietà parentale)	☐	
c)	Ritrovamento (specificare)	☐	
d)	Altro (specificare)	☐	
4.2 Metodo di propagazione			
a)	Propagazione vegetativa	☐	
b)	Propagazione <i>in vitro</i>	☐	
c)	Seme	☐	
d)	Altro	☐	
4.3 Ulteriori informazioni			
Nel caso di varietà che si propagano tramite seme, indicare il metodo di produzione tra quelli elencati:			
a)	Varietà prevalentemente autogame	☐	
b)	Varietà prevalentemente allogame (specificare)	☐	
c)	Ibrido	☐	
4.4 Le informazioni relative alla genealogia della varietà ed ai componenti delle varietà ibride devono essere fornite compilando il documento Mod.RNV.QT.CONF.09.			
4.5 Origine geografica della varietà: nel caso di varietà che hanno come origine mutazione/ritrovamento o altro, indicare la regione e il Paese in cui la varietà è stata scoperta e sviluppata			
5. CARATTERISTICHE VARIETALI DA INDICARE (i numeri tra parentesi sono riferiti ai caratteri indicati nella scheda descrittiva; indicare con una croce un solo livello di espressione per ciascun carattere)			
Caratteri		Varietà di riferimento	
5.1 (4.) FOGLIA: PIGMENTAZIONE ANTOCIANICA DELLE AURICOLE			
1	assente	☐	Senia
9	presente	☐	Vialone Nano
5.2 (9.) CICLO VEGETATIVO SEMINA-FIORITURA (50% DI PIANTE SPIGATE)			
1	precocissimo	☐	Tea
2	da precocissimo a precoce	☐	
3	precoce	☐	Loto
4	da precoce a medio	☐	
5	medio	☐	Ariete
6	da medio a tardivo	☐	
7	tardivo	☐	Puntal
8	da tardivo a molto tardivo	☐	
9	molto tardivo	☐	Libero



5.3	(15.) SOLO VARIETÀ NON PROSTRATE: LUNGHEZZA CULMO (ESCLUSA LA PANNOCCHIA)			
	1	molto corta	☐	Lampo, Leda
	2	da molto corta a corta	☐	
	3	corta	☐	Loto, Thaibonnet
	4	da corta a media	☐	
	5	media	☐	Ariete, Bahia
	6	da media a lunga	☐	
	7	lunga	☐	Baldo
	8	Da lunga a molto lunga	☐	
	9	molto lunga	☐	Carnaroli
5.4	(19.) PANNOCCHIA: ARISTE			
	1	assenti	☐	Puntal
	9	presenti	☐	Bomba
				<i>Carnaroli</i>
	Caratteri		Esempi	
5.5	(34.) CARIOSSIDE (SEME SBRAMATO): FORMA (VISTA LATERALE)			
	1	arrotondata	☐	
	2	semi-arrotondata	☐	Bahia, Fonsa
	3	semi-affusolata	☐	Lido, Galatxo
	4	affusolata	☐	Ariete, Milagrosos
	5	molto affusolata	☐	Thaibonnet
5.6	(32.) CARIOSSIDE (SEME SBRAMATO): LUNGHEZZA			
	1	molto corta	☐	
	2	da molto corta a corta	☐	
	3	corta	☐	Balilla, Bomba, Fonsa
	4	da corta a media	☐	
	5	media	☐	Bahia, Lido, Galatxo
	6	da media a lunga	☐	
	7	lunga	☐	Puntal, Thaibonnet
	8	da lunga a molto lunga	☐	
	9	molto lunga	☐	
5.7	(35.) CARIOSSIDE (SEME SBRAMATO): COLORE			
	1	bianco	☐	Balilla, Senia
	2	marrone chiaro	☐	
	3	marrone variegato	☐	
	4	marrone scuro	☐	
	5	rosso chiaro	☐	
	6	rosso	☐	<i>Risrus</i>
	7	porpora variegato	☐	
	8	porpora	☐	
	9	porpora scuro/nero	☐	Venere
6.	VARIETÀ SIMILI E VARIETÀ CANDIDATA - CARATTERI DISTINTIVI (con riferimento all'elenco dei caratteri ed alla classificazione riportata nella scheda descrittiva)			
	Denominazione varietà simile	Carattere in cui la varietà simile è differente	Classe di espressione della varietà simile	Classe di espressione della varietà candidata
7.	INFORMAZIONI COMPLEMENTARI PER LA DETERMINAZIONE DEI CARATTERI DISTINTIVI DELLA VARIETÀ'			
	7.1 Resistenza ai parassiti ed alle malattie			
	7.2 Eventuali indicazioni particolari per l'esame della varietà			



	7.3 Altre informazioni utili per l'identificazione della varietà		
8.	LA VARIETÀ È DA CONSIDERARSI UN ORGANISMO GENETICAMENTE MODIFICATO COSÌ COME DEFINITO DALL'ARTICOLO 2 DELLA DIR. 2001/18/CE E SUCCESSIVE MODIFICHE? SI ☐ NO ☐		
	In caso affermativo specificare gli estremi della decisione comunitaria cui il relativo evento fa riferimento.		
9.	LA VARIETÀ È DESTINATA A ESSERE IMPIEGATA COME ALIMENTO RICADENTE NEL CAMPO DI APPLICAZIONE DEL REG. CE 1829/2003 E SUCCESSIVE MODIFICHE? SI ☐ NO ☐		
	In caso affermativo specificare gli estremi della decisione comunitaria cui il relativo evento fa riferimento.		
10.	AREALE DI COLTIVAZIONE SUGGERITO		
11.	DESTINAZIONE D'USO DEL PRODOTTO		
	Luogo e data		Nome, cognome e qualifica del Richiedente - Firma e Timbro



Allegato 1.1**QUESTIONARIO TECNICO – PARTE CONFIDENZIALE**

(Rif.: punto 4. del questionario tecnico)

Allegato alla domanda d'iscrizione al Registro italiano delle Varietà presentata in data

2.	SPECIE:	
	Denominazione scientifica:	
	Denominazione volgare:	

3.	DENOMINAZIONE DELLA VARIETA':	
	Eventuale riferimento del costitutore	
	Denominazione proposta:	
	TIPO: Ibrido semplice ☐ a tre vie ☐ doppio ☐	
	FORMULA (indicare per primo il componente femminile)	

4.	COMPONENTI GENEALOGICI	
	se appartengono al costitutore	se non appartengono al costitutore

5.	DENOMINAZIONE DEI COMPONENTI	
	CODIFICAZIONE	DECODIFICAZIONE

6.	PARENTALE FEMMINILE:	
	PARENTALE MASCHILE:	

7.	EVENTUALI INFORMAZIONI ADDIZIONALI. (ES., I DATI RELATIVI A COLTIVAZIONE)

Luogo e data

--

Nome, cognome e qualifica del Richiedente, Timbro e firma

--



Allegato 2

SCHEDA DESCRITTIVA DEI CARATTERI MORFOFISIOLOGICI

Nome scientifico della specie:

Oryza sativa L. (Riso)

Denominazione varietale:

Costitutore:

Responsabile conservazione in purezza:

Rappresentante in Italia:

Sigla rappresentativa della varietà all'iscrizione:

Codice SIAN:

Anno d'iscrizione al registro nazionale italiano:

Ente che ha effettuato la prova di iscrizione:

Località di svolgimento della prova:

Periodo della prova:

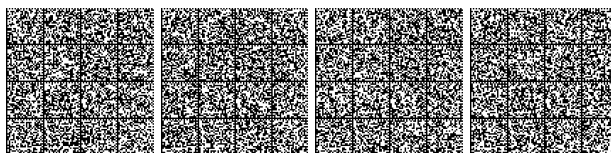
Data e riferimento documento UPOV e CPVO:

TG 16/8 del 31/03/2004 e TP/016/2 Final del 21.03.2012

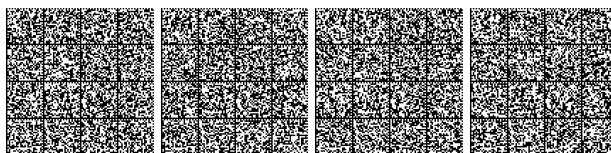
N°	CPVO	UPOV	Stadio Metodo	Carattere	Classi	Varietà di riferimento	
1.	1.	3.	40	Foglia: intensità della colorazione verde			
		QN	B; VG	Debole	3	☐	Lemont, Baldo
				Media	5	☐	Bahia,
				Scura	7	☐	Puntal, Gange
2.	2.	4.	40	Foglia: pigmentazione antocianica			
		QL	B; VG	Assente	1	☐	Puntal
				Presente	9	☐	Vialone nano
3.	3.	5.	40	Foglia: distribuzione della pigmentazione antocianica (penultima foglia)			
		PQ	B; VG	solo sugli apici	1	☐	
				solo sui margini	2	☐	Vialone nano
				a macchie	3	☐	
				uniformemente distribuita	4	☐	
4.	4.	9.	40	Foglia: pigmentazione antocianica delle auricole (penultima foglia)			
	G	QL	A ^(B) ; VS	Assente	1	☐	Senia
				Presente	9	☐	Vialone Nano
5.	5.	13.	40	Foglia: lunghezza della lamina fogliare (penultima foglia)			
		QN	A; MS	Corta	3	☐	Fanga Elio
				Media	5	☐	Galatxo
				Lunga	7	☐	Puntal Salvo
6.	6.	14.	40	Foglia: larghezza della lamina fogliare (penultima foglia)			
		QN	A; VS	Stretta	3	☐	Salvo
				Media	5	☐	
				Larga	7	☐	Roma
7.	7.	15.	60	Foglia paniculare: portamento della lamina (osservazione precoce)			
	+	QN	B; VG	Eretta	1	☐	Rombo
				Semi-eretta	3	☐	Galatxo Ariete
				Orizzontale	5	☐	Veta Ellebi
				Riflessa	7	☐	
8.	8.	16.	90	Foglia paniculare: portamento della lamina (osservazione tardiva)			
	+	QN	B; VG	Eretta	1	☐	Albatros
				Semi-eretta	3	☐	Fonsa Ariete
				Orizzontale	5	☐	Puebla Loto
				Riflessa	7	☐	Vialone nano



N°	CPVO	UPOV	Stadio Metodo	Carattere	Classi	Varietà di riferimento	
9.	9.	19.	55	Ciclo vegetativo semina-fioritura (50% di piante spigate)			
	G	QN	B; VG	Precocissimo	1	☐	Tea
				Precoce	3	☐	Loto
				Medio	5	☐	Ariete
				Tardivo	7	☐	Puntal
				Molto tardivo	9	☐	Libero
10.	10.	20.	60	Maschiosterilità			
		PQ	A; VS	Assente	1	☐	
	+			Parzialmente maschiosterile	2	☐	
				Maschiosterile	3	☐	
11.	11.	21.	65	Lemma: pigmentazione antocianica della carena (osservazione precoce)			
	+	QN	A ^(#) ; VS	Assente o molto debole	1	☐	
				Debole	3	☐	
				Media	5	☐	Arborio
				Forte	7	☐	Vialone nano
12.	12.	22.	65	Lemma: pigmentazione antocianica dell'area sotto la calotta (osservazione precoce)			
	+	QN	A ^(#) ; VS	Assente o molto debole	1	☐	
				Debole	3	☐	
				Media	5	☐	Arborio
				Forte	7	☐	Vialone nano
13.	13.	23.	65	Lemma: pigmentazione antocianica della calotta (osservazione precoce)			
	+	QN	A ^(#) ; VS	Assente o molto debole	1	☐	Ariete, Bomba
				Debole	3	☐	Aiace
				Media	5	☐	Cripto
				Forte	7	☐	Elio, Puntal
				Molto forte	9	☐	Arborio
14.	14.	24.	65	Spighetta: colorazione dello stigma			
		PQ	A; VS	Bianco	1	☐	Ariete, Bahia
				Verde chiaro	2	☐	
				Giallo	3	☐	
				Violetto chiaro	4	☐	Thaibonnet
				Violetto	5	☐	Vialone Nano
15.	15.	26.	70	Solo varietà non prostrate: lunghezza culmo (esclusa la pannocchia)			
	G	QN	B; VS	Molto corta	1	☐	Lampo, Leda
				Corta	3	☐	Loto, Thaibonnet
				Media	5	☐	Ariete, Bahia
				Lunga	7	☐	Baldo
				Molto lunga	9	☐	Camaroli
16.	16.	27.	70	Culmo: pigmentazione antocianica dei nodi			
		QL	A ^(#) ; VS	Assente	1	☐	Puntal
				Presente	9	☐	Vialone nano
17.	17.	29.	70	Culmo: pigmentazione antocianica degli internodi			
		QL	A ^(#) ; VS	Assente	1	☐	Puntal
				Presente	9	☐	Vialone nano
18.	18.	30.	72-90	Pannocchia: lunghezza dell'asse principale			
		QN	A; MS	Corta	3	☐	Ariete, Lido
	+			Media	5	☐	Thaibonnet, Thainato
				Lunga	7	☐	Camaroli, Lemont
19.	19.	32.	60	Pannocchia: ariste			
	G	QL	B; VS	Assenti	1	☐	Puntal
				Presenti	9	☐	Bomba
							Camaroli



N°	CPVO	UPOV	Stadio Metodo	Carattere	Classi		Varietà di riferimento	
20.	20.	34.	70-80	Pannocchia: distribuzione delle ariste				
		PQ	A; VS	Solo sulla punta	1	☐	Thainato, Senia	
				Solo nel quarto superiore	2	☐		Selenio
				Solo nella metà superiore	3	☐	Puebla	
				Sui ¾ della lunghezza	4	☐		
				Su tutta la lunghezza	5	☐	Carnaroli, Bomba	
21.	21.	35.	70-80	Pannocchia: lunghezza delle ariste più lunghe				
		QN	A; VS	Molto corte	1	☐		Ronaldo
				Corte	3	☐	Senia, Arborio	
				Medie	5	☐		Selenio
				Lunghe	7	☐	Bomba, Carnaroli	
				Molto lunghe	9	☐		
22.	22.	36.	60-80	Spighetta: pubescenza della lemma				
		QN	A ^(#) ; VS	Assente o molto debole	1	☐	Puntal, Thaibonnet	
				Debole	3	☐	Guadamar	Ellebi
				Media	5	☐	Galatxo, Vialone Nano	
				Forte	7	☐	Calca, Bomba, S. Andrea	
				Molto forte	9	☐		Samba
23.	23.	37.	70-75	Spighetta: colore dell'apice della lemma				
	+	PQ	A ^(#) ; VS	Bianco	1	☐	Veta, Calca	
				Giallastro	2	☐	Senia	
				Marrone	3	☐	Lemont	Arborio
				Rosso	4	☐		Gladio
				Violetto	5	☐	Vialone Nano	Carnise
				Nero	6	☐	Tarriso, Gange	Thaibonnet
24.	24.	39.	90	Pannocchia: portamento				
	+	PQ	B; VG	Eretta	1	☐	Elio, Roncolo	
				Semi-eretta	2	☐	Ariete, Lido	
				Semi-pendula	3	☐	Guadamar, Thaibonnet	
				Pendula	4	☐		
25.	25.	42.	90	Pannocchia: tipo				
	+	QN	B; VS	Compatta	1	☐	Lido	
				Intermedia	3	☐	Bahia, Senia	
				Aperta	5	☐	Koral, Galatxo	
26.	26.	43.	90	Pannocchia: eserzione				
	+	QN	A; VG	Inguainata	1	☐		
				Parzialmente eserta	3	☐		
				Appena eserta	5	☐		
				Moderatamente-bene eserta	7	☐		
				Bene eserta	9	☐		Carnaroli
27.	27.	44.	90	Ciclo vegetativo semina-maturazione				
	+	QN	B; VG	Molto precoce	1	☐	Tea	
				Precoce	3	☐	Loto	
				Medio	5	☐	Ariete	
				Tardivo	7	☐	Puntal	
				Molto tardivo	9	☐	Libero	



N°	CPVO	UPOV	Stadio Metodo	Carattere	Classi	Varietà di riferimento	
28.	28.	46.	A ^(#) ; VS	Lemma: colorazione			
		PQ		Giallo chiaro	1	☐	
				Gialla	2	☐	
				Marrone	3	☐	Arborio
				Da rossastro a violetto chiaro	4	☐	
				Violetto	5	☐	Vialone nano
				Nera	6	☐	
29.	29.	53.	92	Spighetta: peso di 1000 semi			
		QN	A; MS	Basso	3	☐	Puntal Ellebi
	+			Medio	5	☐	Niva Ariete
				Alto	7	☐	Galatxo Arborio
30.	30.	54.	92	Spighetta: lunghezza			
		QN	A; MS	Corta	3	☐	Fonsa Balilla
				Media	5	☐	Galatxo
				Lunga	7	☐	Thaibonnet
31.	31.	55.	92	Spighetta: larghezza			
		QN	A; MS	Stretta	3	☐	Puntal Thaibonnet
				Media	5	☐	Lido
				Larga	7	☐	Galatxo Arborio
32.	32.	58.	92	Cariosside (seme sbramato): lunghezza			
	G	QN	A; MS	Corta	3	☐	Balilla, Bomba, Fonsa
				Media	5	☐	Bahia, Lido, Galatxo
				Lunga	7	☐	Puntal, Thaibonnet
33.	33.	59.	92	Cariosside (seme sbramato): larghezza			
		QN	A; MS	Stretta	3	☐	Thaibonnet
				Media	5	☐	Milagrosos
				Larga	7	☐	Castell, Maso Arborio
34.	34.	60.	92	Cariosside (seme sbramato): forma (vista laterale)			
	G	PQ	A; VS	Arrotondata	1	☐	
				Semi-arrotondata	2	☐	Bahia, Fonsa Balilla
	+			Semi-affusolata	3	☐	Lido, Galatxo Baldo
				Affusolata	4	☐	Ariete, Milagrosos
				Molto affusolata	5	☐	Thaibonnet
35.	35.	61.	92	Cariosside (seme sbramato): colore			
		PQ	A; VS	Bianco	1	☐	Balilla, Senia
				Marrone chiaro	2	☐	
				Marrone variegato	3	☐	
				Marrone scuro	4	☐	
				Rosso chiaro	5	☐	
				Rosso	6	☐	Risrus
				Violetto variegato	7	☐	
				Violetto	8	☐	
				Violetto scuro/nero	9	☐	Venere
36.	36.	62.	92	Endosperma: tipo (sul seme lavorato)			
		PQ	A; VS	Glutinoso	1	☐	Castelmochi
	+			Intermedio	2	☐	
				Non glutinoso	3	☐	
37.	37.	63.	92	Endosperma: contenuto in amilosio (sul seme lavorato)			
		PQ	A; MG	Basso	1	☐	Ariete
	+			Alto	2	☐	Carnaroli, Thaibonnet

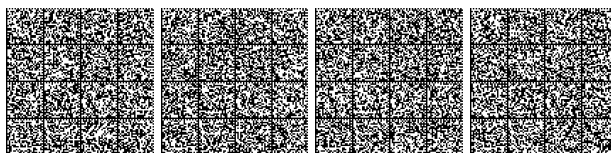


N°	CPVO	UPOV	Stadio Metodo	Carattere	Classi	Varietà di riferimento	
38.	38.	65.	92	Cariosside (seme sbramato): aroma			
	G	QN	A; MG	Assente o molto debole	1	☐	Bahia
	+			Debole	2	☐	
				Forte	3	☐	Arome, Gange, Delmar

Legenda:

- A esame compiuto su di un campione di almeno 50 piante per l'accertamento dell'omogeneità
A(#) esame compiuto su di un campione di circa 1500 piante in una parcella per l'accertamento dell'omogeneità
B esame compiuto su di un campione di circa 1500 piante in una parcella per l'accertamento dell'omogeneità
MG misurazione singola effettuata su di un gruppo di piante o su parti di esse per l'accertamento della distinguibilità
MS misurazione effettuata su di un numero di piante individuali o su parti di esse per l'accertamento della distinguibilità
VG valutazione visiva ottenuta tramite singola osservazione di un gruppo di piante o di parti di esse per l'accertamento della distinguibilità
VS valutazione visiva ottenuta tramite osservazione di piante individuali o di parti di esse per l'accertamento della distinguibilità
G carattere usato per il "grouping"
QL carattere qualitativo
QN carattere quantitativo
+ carattere per cui è presente in All. 3 una descrizione: disegno o metodo.

I numeri presenti nella colonna "Stadio, Metodo" si riferiscono agli stadi ottimali in cui valutare il carattere. Consultare la tabella relativa ai codici di crescita (Mod.RNV.COD.CER.09).



Allegato 3

METODOLOGIA DI EFFETTUAZIONE DEI RILIEVI

Il carattere è valutato in confronto con il testimone. I caratteri vengono descritti utilizzando classi di espressione.

I 38 caratteri della scheda descrittiva sono distinti come riportato nella legenda dell'allegato 2:

- ◇ Per i caratteri qualitativi (QL) e per i caratteri (PQ) 37 (Endosperma: contenuto in amilosio (sul seme lavorato), due varietà sono considerate differenti se appartengono a classi differenti tra quelle indicate per ciascun carattere nell'allegato 2¹.
- ◇ Per i caratteri quantitativi (QN) e per i caratteri (PQ) 3-10-14-20-23-24-28-36, la differenza tra due varietà è determinata dalla presenza di un intervallo tra le classi di espressione indicate per ciascun carattere nell'allegato 2¹.
- ◇ Nel caso di caratteri per la cui determinazione è previsto una misura (identificati con MS e MG nell'elenco dei caratteri), la differenziabilità è determinata da una differenza minima rispetto alla varietà di riferimento come di seguito specificato:
 - ◇ Carattere 18: pannocchia: lunghezza dell'asse principale: dato espresso in cm; differenza minima 10%; almeno 20 misurazioni rilevate dal nodo paniculare all'apice della pannocchia, ariste escluse;
 - ◇ Carattere 29: Spighetta: peso di 1000 semi: dato espresso in grammi; differenza minima 5%; Metodo: Metodi Ufficiali di analisi per le sementi, DM 22/12/92, supplemento alla G.U. n°2 del 4-1-93;
 - ◇ Caratteri 30-31-32-33: Spighetta e Cariosside, lunghezza e larghezza: espressi in millimetri; differenza minima 5%; metodo: media di 100 misurazioni, proiezione d'immagine;
- ◇ Nel caso di caratteri rilevati visivamente (identificati con VS e VG nell'elenco dei caratteri), le misure di seguito specificate sono effettuate a supporto del rilievo visivo e nel qual caso la differenziabilità è determinata da una differenza minima rispetto alla varietà di riferimento come di seguito specificato:
 - ◇ Carattere 9: Ciclo vegetativo semina-fioritura: definito in giorni rispetto ad un testimone; differenza minima 5 giorni;
 - ◇ Carattere 15: solo varietà non prostrate: lunghezza culmo (esclusa la pannocchia): dato espresso in cm; differenza minima 10%; almeno 20 misurazioni rilevate dal colletto al nodo paniculare;
 - ◇ Carattere 27: Ciclo vegetativo semina-maturazione: definito in giorni rispetto ad un testimone; differenza minima 8 giorni;
 - ◇ Carattere 34: Cariosside: forma (vista laterale): differenza minima 5%;
- ◇ per il carattere (PQ) 35 (Cariosside colore) la differenza tra due varietà è determinata dalla presenza di due intervalli tra le classi di espressione indicate nell'allegato 2¹.

¹ Esempio: Carattere n.1: Foglia: intensità della colorazione verde:

- ◇ l'appartenenza alle classi 3 e 5 non determina differenza tra le due varietà;
- ◇ l'appartenenza alle classi 3 e 7 costituisce differenza.



Per "Cariosside" si intende la spighetta sbramata (caratteri da n. 32 a 35 e n. 38).

Per i seguenti caratteri (identificati con un + nella scheda descrittiva di cui all'allegato 2) sono indicati specifici metodi o esemplificazioni grafiche per l'accertamento del carattere.

Gli intervalli numerici eventualmente indicati per descrivere la classe di espressione (carattere 21, carattere 34) sono funzionali al confronto con la classe di espressione della varietà di riferimento.

Carattere 7-8: Foglia panicolare: portamento della lamina (osservazione precoce e tardiva)



ERETTA

SEMI-ERETTA

ORIZZONTALE

RIFLESSA

Carattere 10: Maschiosterilità

Assente	Meno del 25% di polline sterile	1
Parzialmente maschio sterile	25÷95% di polline sterile	2
Maschio sterile	Più del 95% di polline sterile	3

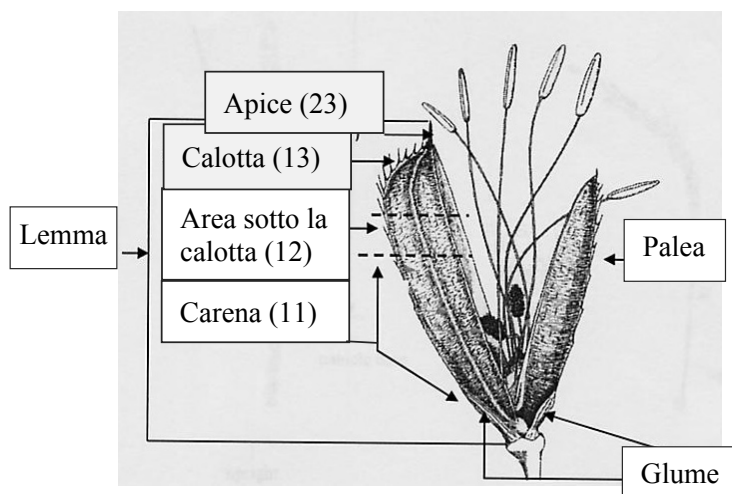
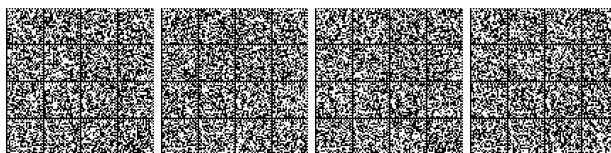
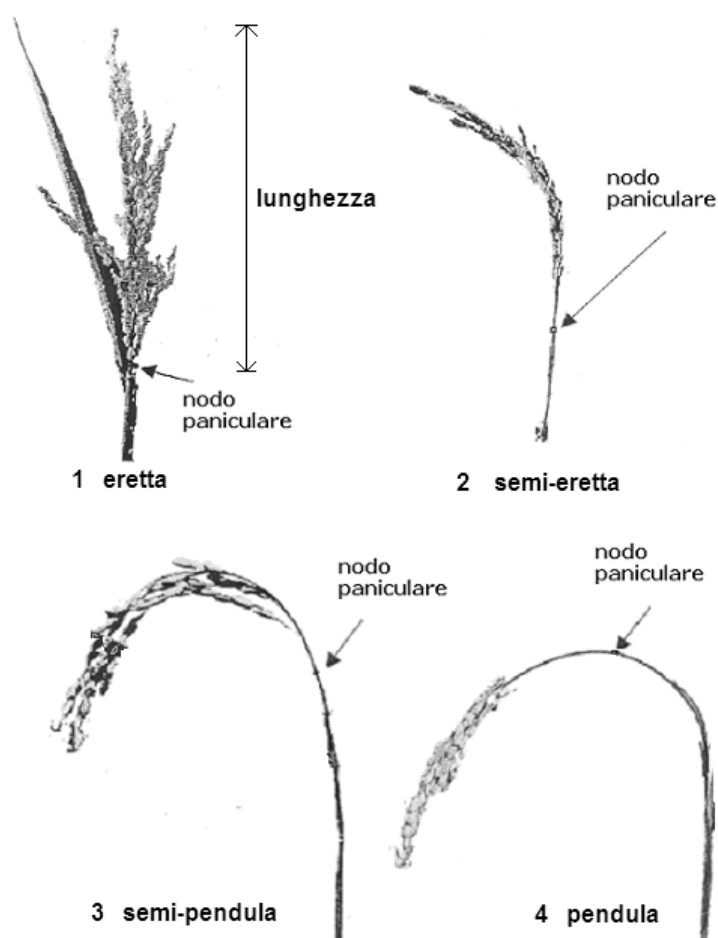
Caratteri 11-12-13: Lemma: pigmentazione antocianica

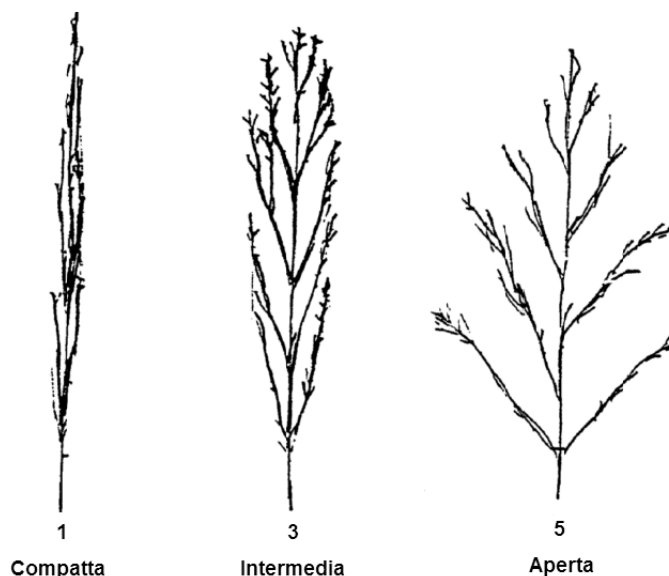
Carattere 21: Pannocchia: lunghezza delle ariste più lunghe:

- Molto corte: lunghezza inferiore a 0,5 cm;
- Corte: lunghezza compresa tra 0,5 e 1 cm;
- Medie: lunghezza compresa tra 1,1 e 2 cm;
- Lunghe: lunghezza compresa tra 2,1 e 3 cm;
- Molto lunghe: lunghezza superiore a 3 cm.

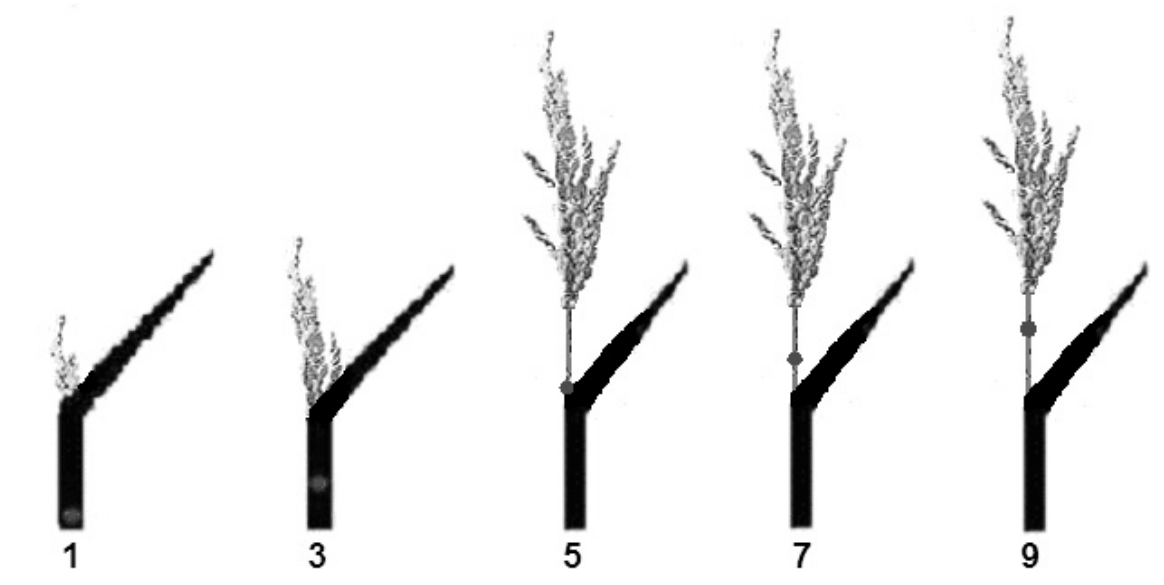
Carattere 22: Spighetta: pubescenza della lemma: viene considerata molto debole una tomentosità inferiore al 5% di copertura delle glumelle;



Carattere 23: Spigetta: colore dell'apice della lemma**Caratteri 18 e 24:** Pannocchia: lunghezza dell'asse principale (18) e Pannocchia: portamento (24)

Carattere 25: Pannocchia: tipo**Carattere 26: Pannocchia: eserzione**

- 1) **inguainata**: solo la parte distale della pannocchia è visibile;
- 3) **parzialmente eserta**: la pannocchia è ancora parzialmente avvolta nella foglia paniculare, ma fuoriesce per almeno la metà;
- 5) **appena eserta**: il nodo paniculare è appena visibile e la pannocchia fuoriesce completamente dalla foglia paniculare;
- 7) **moderatamente ben eserta**: il nodo paniculare è facilmente visibile oltre la foglia paniculare;
- 9) **ben eserta**: il nodo paniculare è vistosamente lontano dalla foglia paniculare.



Carattere 27: Ciclo vegetativo semina-maturazione

Il campione raccolto in campo, sarà conservato in un contenitore a tenuta di umidità e il contenuto di umidità sarà misurato tramite una termobilancia o una stufa a secco.

Una varietà è considerata matura quando le sue spighe hanno raggiunto l'umidità del 22%.

Carattere 29: Spigetta: peso di 1000 semi (da calcolare al 14% di umidità).**Carattere 34:** Cariosside (seme sbramato): forma (vista laterale)

		Lunghezza/larghezza
arrotondata	1	< 1,50
semi-arrotondata	2	1,50÷1,99
semi-affusolata	3	2,00÷2,49
affusolata	4	2,50÷2,99
molto affusolata	5	≥ 3,00

Carattere 35: Cariosside (seme sbramato): colore.

Nel caso di colorazioni diverse da quelle previste in all. 2, sarà assegnata la classe di espressione più simile e sarà specificato il colore.

Carattere 36: Endosperma: tipo (le analisi sono effettuate sul seme che ha subito la lavorazione industriale fornito dal costituente).

I tre stati di espressione possono essere semplicemente definiti dalla reazione alla soluzione KI-I; l'endosperma di tipo glutinoso si colora di rosso-viola, il tipo non glutinoso di blu scuro-viola e il tipo intermedio di rossastro-blu-viola.

E' possibile osservare che il riso glutinoso ha granelli con aspetto ceroso ed opaco (waxy), e che il riso non-glutinoso ha granelli da parzialmente cristallini a cristallini, con diverse situazioni intermedie a seconda del contenuto di amilosio dell'endosperma. Qualora si renda necessario differenziare il riso glutinoso dal riso con contenuto di amilosio molto basso, è necessario ricorrere all'analisi chimica.

Nota: in generale, il contenuto di amilosio di una linea pura di una varietà di riso glutinoso è pari a 0%. Tuttavia, numerose varietà commerciali, specialmente locali e tradizionali possono contenere tra l'1% e il 4% di amilosio. Questo succede poiché il gene waxy è recessivo e quando si incrocia con il polline di una varietà di riso non glutinoso, l'endosperma diventa non glutinoso. Inoltre, alcuni metodi di saggio possono dare come risultato una bassa percentuale di amilosio. Le ricerche sulla struttura chimica di riso waxy sono tuttora in corso in Giappone. Sono stati identificati numerosi geni (denominati geni "dull") per la produzione di riso semi-waxy. Il contenuto di amilosio di queste varietà semi-waxy non è inferiore al 5%, sebbene non si possa sapere se in futuro saranno selezionate linee con amilosio ancora più basso.

Il tipo intermedio è non-glutinoso, ma con amilosio molto basso.

La soluzione di KI-I si prepara miscelando 0,1% di soluzione I2 con 0,2% di soluzione KI.

Carattere 37: Endosperma: contenuto in amilosio (le analisi sono effettuate sul seme che ha subito la lavorazione industriale fornito dal costituente).

Si consiglia di utilizzare il metodo UNI ISO 6647.



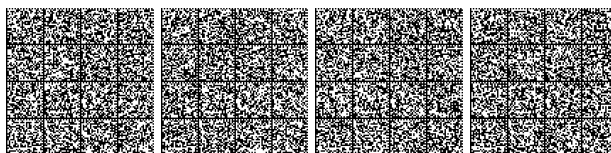
Approssimando i dati del sistema IRRI in funzione della variabilità presente specialmente nei climi freddi ed elevando il livello considerando che alcune varietà coltivate nel Sud dell'India hanno un contenuto di amilosio molto alto, si può considerare:

Basso < 21%

Alto > 21%

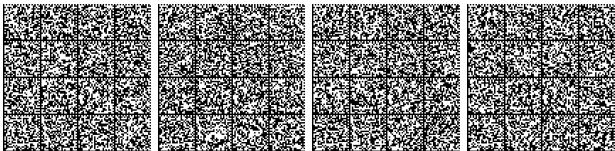
Carattere 38: Cariosside (seme sbramato): aroma

Il principale componente dell'aroma nel riso è la 2-acetil-1-pirrolina (AcPy). Per vaporizzarlo sono necessari 10 ml di una soluzione di KOH all'1,7%, da aggiungere a 2 g di semi sbramati. L'aroma, che è simile a quello di pop-corn, viene rilasciato entro 10 minuti. Il livello di espressione è determinato in funzione delle varietà di riferimento.



CODICI DECIMALI PER GLI STADI DI CRESCITA DEI CEREALI

Codice	Descrizione generale	Note	Codice	Descrizione generale	Note
	<u>Germinazione</u>			<u>Allungamento dello stelo</u>	
00	Seme secco		30	Innalzamento dello pseudostelo	
01	Inizio imbibizione		31	Primo nodo visibile	
02	-		32	Secondo nodo visibile	
03	Imbibizione completa		33	Terzo nodo visibile	
04	-		34	Quarto nodo visibile	
05	Emergenza della radice dalla cariosside		35	Quinto nodo visibile	
06	-		36	Sesto nodo visibile	
07	Emergenza del coleoptile dalla cariosside		37	Foglia a bandiera visibile	
08	-		38	-	
09	Foglia all'estremità del coleoptile		39	Ligula/collare della foglia a bandiera visibili	Stadio pre-botticella
	Crescita della plantula			<u>Botticella</u>	
10	Prima foglia dal coleoptile	Seconda foglia visibile (< 1 cm)	40	-	
11	Prima foglia ripiegata		41	Estensione della guaina della foglia a bandiera	Inizio botticella
12	2 foglie ripiegate		42	-	
13	3 foglie ripiegate		43	Aumento appena visibile della botticella	Media botticella
14	4 foglie ripiegate		44	-	
15	5 foglie ripiegate		45	Aumento della botticella	Fine botticella
16	6 foglie ripiegate		46	-	
17	7 foglie ripiegate		47	Rottura della guaina della foglia a bandiera	
18	8 foglie ripiegate		48	-	
19	9 o più foglie ripiegate		49	Guaina della foglia a bandiera aperta	
	<u>Germinazione</u>			<u>Emissione delle infiorescenze</u>	
20	Solo germoglio principale		50		
21	Germoglio principale e 1 culmo di accestimento		51	Prima spighetta infiorescenza appena visibile	
22	Germoglio principale e 2 culmi di accestimento		52		
23	Germoglio principale e 3 culmi di accestimento		53	Fuoriuscita di 1/4 dell'infiorescenza	
24	Germoglio principale e 4 culmi di accestimento		54		
25	Germoglio principale e 5 culmi di accestimento		55	Fuoriuscita di 1/2 dell'infiorescenza	
26	Germoglio principale e 6 culmi di accestimento		56		
27	Germoglio principale e 7 culmi di accestimento		57	Fuoriuscita di 3/4 dell'infiorescenza	
28	Germoglio principale e 8 culmi di accestimento		58		
29	Germoglio principale e 9 o più culmi di accestimento		59	Fine spigatura	



	<u>Senescenza</u>	
90	-	Senescenza spighetta terminale
91	Cariosside dura	50% delle spighette senescenti
92	Cariosside dura (difficile da scalfire con l'unghia)	Oltre il 90% delle spighette senescenti
93	Piena maturazione	
94	Sovramaturazione, paglia completamente secca	
95	Seme dormiente	
96	Seme vitale con il 50% di germinabilità	
97	Seme non dormiente	
98	Inizio della dormienza secondaria indotta	
99	Termine della dormienza secondaria	
	<u>Trapianto e raccolta</u>	
T1	Sradicamento delle piantine	
T2	-	
T3	Radicalamento	
T4	-	
T5	-	
T6	-	
T7	Raccolta dei germogli	
T8	-	
T9	Ripresa della crescita vegetativa	

	<u>Fioritura</u>	
60	Inizio fioritura	
61		
62	-	
63	-	
64	Metà fioritura	
65		
66	-	
67	-	
68	Fine fioritura	
69		
	<u>Sviluppo latteo</u>	
70	-	
71	Maturazione acquosa	
72	-	
73	Maturazione lattea precoce	
74	-	
75	Maturazione lattea media	
76	-	
77	Maturazione lattea piena	
78	-	
79	-	
	<u>Maturazione dei frutti e dei semi</u>	
80	-	
81	-	
82	-	
83	Maturazione cerosa precoce	
84	-	
85	Maturazione cerosa piena	
86	-	
87	Maturazione cerosa avanzata	
88	-	
89	-	



Allegato 4**METODOLOGIA PER L'ESECUZIONE DELLA PROVA AGRONOMICA
E CARATTERI DA RILEVARE****A. Numero di prove**

Considerata la diffusione della coltura, concentrata in un areale circoscritto, prevalentemente (85–90%) nelle province di PV, VC, NO e MI, verranno annualmente realizzate almeno tre prove ubicate in almeno 2 delle suddette province.

B. Varietà testimoni

Per ogni varietà in iscrizione il o i testimoni saranno scelti tra quelle maggiormente diffuse nell'ambito della stessa tipologia per pianta, granello, ciclo vegetativo ed eventualmente caratteristiche merceologiche. Le varietà testimoni dovranno essere riviste periodicamente dal Centro di coordinamento con l'accortezza di mantenere per il terzo anno la/le varietà da sostituire, in modo da garantire alle varietà in iscrizione il confronto per un biennio con gli stessi testimoni.

C. Metodologia sperimentale

Per le prove agronomiche verrà utilizzato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con tre repliche e parcelle di 45-50 m². La dose di semina per ogni varietà verrà determinata sulla base della germinabilità e del peso dei 1000 semi, in modo tale da garantire un investimento di semina di 500 semi germinabili per metro quadrato. In ogni località di prova verrà adottata la migliore tecnica colturale in uso nell'areale. Durante il ciclo colturale e sul seme raccolto verranno effettuati i rilievi morfologici ed agronomici previsti.

D. Caratteri da rilevare

- 1) *Ciclo semina-fioritura*: rilevato alla fioritura del 50% delle pannocchie.
- 2) *Ciclo semina-maturazione*: rilevato per ispezione diretta in campo valutando lo stadio delle cariossidi su alcune pannocchie prese a caso (parte distale, media e basale); la parcella è considerata matura quando le cariossidi esaminate hanno raggiunto lo stadio 93 (umidità 22%).
- 3) *Altezza della pianta (taglia)*: dal colletto radicale all'apice della pannocchia, arista esclusa (10 misure per ogni parcella). La misura deve stimare



l'omogeneità di livellamento della coltivazione e non la variabilità all'interno della parcella.

- 4) *Lunghezza della pannocchia*: dal nodo paniculare all'apice della pannocchia escludendo l'arista (10 misure per ogni parcella).
- 5) *Produzione unitaria*: determinata sulla raccolta di tutta la parcella, tolti i bordi, utilizzando una mietitrebbiatrice per parcelle. Sul prodotto verde viene determinata l'umidità, e la produzione viene determinata al 14 % di umidità.
- 6) *Resa alla lavorazione*: determinata su 200 grammi di prodotto prelevato da un campione rappresentativo; la determinazione riguarda sia la resa globale che quella in grana intera; i tempi di lavorazione sono determinati sulla base dell'asportazione di circa il 10% in peso, rispetto al riso sbramato.
- 7) *Allettamento*: espresso in percentuale sulla superficie totale della parcella (rilievo effettuato in continuazione dalla fioritura alla maturazione) e indicato come allettamento precoce quando intervenuto entro 25 giorni dalla fioritura.
- 8) *Attacco di malattie*: rilievo effettuato come giudizio complessivo di diffusione dell'attacco in base a 5 livelli (1 = tracce, 2 = leggero, 3 = discreto, 4 = forte, 5 = molto forte). Principali malattie da rilevare: brusone/mal del collo (*Magnaporthe oryzae*) e elmintosporiosi (*Bipolaris oryzae*). Segnalare la presenza di altre eventuali malattie.
- 9) *Biometria della spighetta e della cariosside*: calcolata sulla base delle misure (lunghezza e larghezza) di 100 spighette e del relativo sbramato; metodo impiegato: proiezione d'immagine.
- 10) *Peso di 1000 spighette e di 1000 cariossidi*: calcolato su 4 campioni di 100 spighette e del relativo sbramato.

I parametri 9 e 10 sono determinati sul materiale coltivato, su un campione raccolto a mano, essiccato e sgranato separatamente.



Allegato 5**CARATTERI AGGIUNTIVI****1. RESISTENZE AD ERBICIDI**

Qualora il costituente della nuova varietà richieda l'esame per la tolleranza dell'intera pianta ad un erbicida, deve fornire le seguenti informazioni tecniche:

1. base genetica di resistenza;
2. informazioni sul prodotto chimico ed estremi della sua autorizzazione;
3. origine del prodotto chimico;
4. protocollo per l'esecuzione della valutazione del carattere;
5. procedure di valutazione per la determinazione delle classi di espressione;
6. varietà testimoni.

1.1 PROTOCOLLO GENERALE PER L'ESECUZIONE DELLA VALUTAZIONE DELLA RESISTENZA A PARTICOLARI PRINCIPI ATTIVI DI CONTROLLO INFESTANTI**1.1.1 Numero di prove**

Per ciascun ciclo colturale è realizzata una prova, oltre alle prove descrittive ed agronomiche.

1.1.2 Materiale da inviare al Centro di Coordinamento

Il Richiedente deve inviare al Centro di Coordinamento, per ogni ciclo di semina e in contemporanea all'invio del seme, l'erbicida in quantità sufficiente, con allegata la scheda di sicurezza.

Inoltre il Richiedente dovrà impegnarsi a ritirare l'eventuale prodotto residuo al termine della prova.

1.1.3. Varietà testimoni

Per ogni principio attivo è utilizzata almeno una varietà testimone non resistente a quel principio attivo.



1.1.4. Metodologia sperimentale

La sperimentazione consiste nel seminare due parcelle della varietà candidata e due della varietà testimone.

Ciascuna parcella ha le stesse caratteristiche delle parcelle descritte per l'esecuzione della prova descrittiva. Per la coltivazione è adottata la migliore tecnica in uso nell'areale.

Le parcelle sono suddivise in *parcelle testimoni*, che non sono trattate con il principio attivo, e *parcelle di prova*, che sono trattate con il diserbante seguendo dosi e modalità d'impiego riportate nell'etichetta del prodotto. La prova prosegue fino alla completa essiccazione della varietà testimone nelle *parcelle di prova*. Le *parcelle testimoni* hanno lo scopo di escludere che la morte delle piante nelle *parcelle di prova* sia dovuta a cause agronomiche.

1.1.5. Limiti di ammissibilità

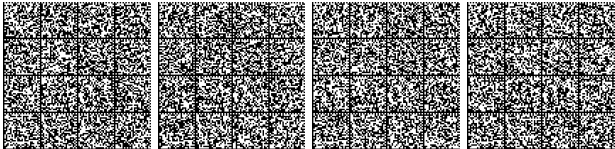
La varietà supera positivamente la prova ed è definita resistente se le piante della varietà candidata nella parcella di prova sopravvivranno al trattamento di diserbo.



Allegato 6

COSTI PER VARIETA' PER CICLO DI PROVA (EURO, IVA inclusa)

Tipologia	Spese generali di coordinamento	Analisi seme costituutore (per analisi)	Prova descrittiva (per parcella)	Prova agronomica (per parcella)	Analisi qualitative (per analisi)	Biometria seme costituutore (per analisi)	Biometria raccolto (per analisi)	Resa alla lavorazione industriale (per analisi)	Analisi molecolari (per varietà)	TOTALE (EURO)	
										(A+B+2C+E)	(A+B+2C+9D+E+F+9G+9H)
Linea pura	292,00	B 101,00	C 252,00	D -	E 252,00	F -	G -	H -	I -	1.149,00	
Varietà non ibrida	292,00	101,00	252,00	303,00	252,00	25,00	50,00	5,00	-	4.396,00	
Varietà ibrida (compresi componenti/parentali)	292,00	101,00	252,00	303,00	252,00	25,00	50,00	5,00	384,00	6.544,00	(A+3B+6C+9D+3E+3F+9G+9H+I)
Resistenze ad erbicidi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	706,00	
Primo anno di prove sotto sorveglianza ufficiale	292,00	-	-	-	-	-	-	-	-	292,00	(A)



Appendice 1

DISPOSIZIONI PARTICOLARI PER LE VARIETÀ IBRIDE

Questa appendice modifica ed integra alcuni paragrafi del presente decreto. Per tutto ciò che non è specificato in questa appendice, si fa riferimento a quanto definito nel testo per le varietà non ibride.

1.2 Questionario tecnico

Il questionario tecnico di un ibrido deve comprendere anche la descrizione dei relativi parentali e delle linee componenti (punto 4 dell'*allegato n. 1*). In applicazione dell'articolo 19 comma 10 della legge n. 1096 del 25 novembre 1971, la parte confidenziale offre ai costitutori di varietà ibride e sintetiche la possibilità di richiedere un trattamento riservato dei dati riguardanti le linee parentali (*allegato 1.1*).

Qualora venga richiesta l'iscrizione di un componente di un ibrido ai sensi dell'art. 15 comma IV D.P.R. 1065/73, fermo restando che questo debba essere adatto alle condizioni pedoclimatiche italiane, si procederà alla sola effettuazione della prova descrittiva.

1.4 Materiale da inviare al Centro di coordinamento

Il Richiedente deve inviare al Centro di coordinamento, per ogni ciclo di semina, entro il:

15 febbraio

il seguente materiale:

- ◇ un campione di 5 kg di seme della nuova varietà.

Al primo anno di prova devono essere inviati, oltre alla semente dell'ibrido, anche i componenti dello stesso:

- ◇ 2 kg di sementi del componente maschile (impollinante),
- ◇ 2 kg di sementi del componente femminile maschiosterile,
- ◇ 2 kg di sementi del componente femminile mantenitrice: solo nel caso in cui il componente femminile sia una linea dotata di maschiosterilità citoplasmatica, in quanto le corrispondenti linee isogeniche fertili sono utili per verificare l'identità morfologica dei due tipi.

Per i componenti o le linee iscritte o protette in Italia non è richiesto l'invio di seme.



2. PROVA DESCRITTIVA

Detta prova è effettuata sulla nuova varietà e sui relativi componenti e/o parentali.

La prova comprende la coltivazione di una parcella per il rilievo dei caratteri morfo-fisiologici, analisi di laboratorio e la verifica della formula mediante l'uso di marcatori molecolari di tipo microsatelliti (SSR).

2.1 Condizioni della prova

Nel caso in cui, sui componenti, sia necessario un ulteriore approfondimento, il Centro di Coordinamento, può chiedere un nuovo invio di sementi dei parentali al secondo anno.

2.2 Collezione di riferimento e scelta dei testimoni varietali

La collezione comprende le varietà iscritte o protette a livello comunitario (in particolare le varietà di riferimento CPVO, almeno (quelle coltivabili negli areali italiani), le varietà protette negli Stati aderenti all'UPOV, ogni altra varietà di comune conoscenza e possibilmente tutti i componenti delle varietà ibride di comune conoscenza.

2.3 Valutazione della distinguibilità

Per valutare la distinguibilità delle varietà ibride si effettua un esame preliminare sulla base delle linee parentali e della formula secondo le seguenti modalità:

- a) descrizione delle linee parentali con i caratteri della scheda di cui all'*allegato n. 2*;
- b) controllo dell'originalità dei componenti comparati con quelli più simili in confronto con la collezione di riferimento;
- c) confronto della formula dichiarata con quella degli ibridi già iscritti e conservati nel database o nella collezione di riferimento;
- d) valutazione della distinguibilità dell'ibrido; per quanto riguarda i caratteri 36, 37 e 38 dell'*allegato 2* l'accertamento verrà effettuato sul prodotto raccolto.

2.4 Valutazione dell'omogeneità

La varietà viene considerata omogenea se il numero di fuori tipo (inclusi gli individui auto-impollinati che risultino chiaramente self - autofecondazioni) è inferiore o uguale alla soglia indicata nella tabella sottostante che considera una popolazione standard pari a 0,5% con probabilità superiore o uguale al 95%.



N° PIANTE ESAMINATE	NUMERO FUORI-TIPO AMMESSI
1000	9
1500	12
2000	15

La valutazione dell'omogeneità per le linee parentali segue le regole definite per le varietà autoimpollinanti.

2.5 **Valutazione della formula dell'ibrido mediante l'uso di marcatori molecolari SSR (Single Sequence Repeat)**

I loci genomici scelti per la valutazione della formula dell'ibrido sono i cosiddetti microsatelliti o SSR (*Single Sequence Repeats*). Queste regioni del DNA sono caratterizzate dalla presenza di brevi sequenze nucleotidiche costituite da due o più basi ripetute consecutivamente (es: ATATATATAT; CGTCGTCGTCGT). Gli individui analizzati possono distinguersi tra loro per il diverso numero di ripetizioni che compongono tali sequenze.

Gli SSR permettono:

- l'identificazione dei diversi alleli di un singolo *locus*;
- la definizione della formula degli ibridi poiché sono marcatori codominanti.

2.5.1 **Scopo dell'analisi**

La descrizione del profilo molecolare ottenuto dalla combinazione di 12 SSR ben distribuiti nel genoma e con un buon livello di polimorfismo è impiegata a complemento della descrizione dei caratteri morfofisiologici sia dei parentali che dell'ibrido per:

◇ la verifica della formula dell'ibrido

Sfruttando la natura codominante dei marcatori SSR è possibile, mediante la descrizione delle linee parentali, desumere la formula teorica dell'ibrido e confrontarla con quella effettivamente rilevata nella varietà ibrida in iscrizione;

◇ la valutazione della omogeneità

La rilevazione del livello e del tipo di disomogeneità (presenza di alleli diversi ad uno stesso locus) nelle linee pure consentirà di spiegare la eventuale variabilità rilevata nell'ibrido e sarà quindi utile per la validazione della formula.



Nella tabella 1 sono riportati i marcatori microsatelliti e le loro principali caratteristiche. I 12 SSR costituiscono il pannello che dovrà essere utilizzato per la descrizione delle linee pure e degli ibridi corrispondenti.

SSR	Cromosoma	Paia di basi	Repeat	T° annealing
RM24	1	167-181	(GA) ₂₉	56° C
RM475	2	182-222	(TATC) ₈	56° C
RM338	3	174	(CTT) ₆	56° C
RM252	4	166-214	(CT) ₁₉	56° C
RM164	5	234-320	(GT) ₁₆ TT(GT) ₄	56° C
RM253	6	97-143	(GA) ₂₅	56° C
RM336	7	140-200	(CTT) ₁₈	56° C
RM44	8	88-126	(GA) ₁₆	56° C
RM219	9	180-222	(CT) ₁₇	56° C
RM215	9	147-155	(CT) ₁₆	56° C
RM202	11	155-183	(CT) ₃₀	56° C
RM235	12	86-134	(CT) ₂₄	56° C

Tabella 1: elenco dei marcatori SSR utilizzati e loro principali caratteristiche.



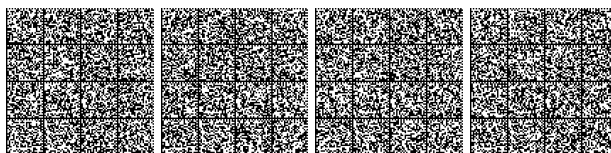
2.5.2 Riconoscimento degli alleli codificati dai marcatori SSR

I profili elettroforetici ottenuti da 28 varietà testimoni sono utilizzati come riferimento per il riconoscimento degli alleli individuati a ciascun locus SSR (allegato 1).

Nelle tabelle seguenti (Tab. 2, Tab. 3) sono riportati gli alleli identificati ai diversi loci SSR per alcune varietà di riferimento:

Cr1		Cr2		Cr3	
RM24		RM475		RM338	
Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento
RM24-a(167bp)	Loto	RM475-a(166bp)	IR64	RM338-a(174bp)	Aiace
RM24-b(169bp)	Cripto	RM475-b(182bp)	S. Andrea	RM338-b(177bp)	IR64
RM24-c(175bp)	Roma	RM475-c(214bp)	Vialone nano		
RM24-d(177bp)	Vialone nano	RM475-d(218bp)	Cripto		
RM24-e(181bp)	Aiace	RM475-e(222bp)	Loto		
Cr4		Cr5		Cr6	
RM252		RM164		RM253	
Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento
RM252-b(192bp)	Carnaroli	RM164-a(243bp)	IR64	RM253-a(127bp)	Baldo
RM252-c(194bp)	Aiace	RM164-b(254bp)	Carnaroli	RM253-b(129bp)	Carnaroli
RM252-b(214bp)	IR64	RM164-c(264bp)	Selenio	RM253-c(131bp)	Arborio
		RM164-d(266bp)	Carnise	RM253-d(137bp)	Tequing
		RM164-e(294bp)	Venere	RM253-e(139bp)	IR64
		RM164-f(297bp)	Thaibonnet		
		RM164-g(301bp)	Lemont		

Tabella 2: elenco degli alleli e di alcune varietà testimoni per alcuni loci SSR



Cr7		Cr8		Cr9	
RM336		RM44		RM219	
Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento
RM336-a(134bp)	Venere	RM44-a(88bp)	Carnise	RM219-a(188)	Carnise
RM336-b(146bp)	Arborio	RM44-b(98bp)	IR64	RM219-b-(192)	Carnaroli
RM336-c(152bp)	Koral	RM44-c(104bp)	Carnaroli	RM219-c(200)	Baldo
RM336-d(155bp)	S. Andrea	RM44-d(108bp)	S.Andrea	RM219-d(218)	IR64
RM336-e(158bp)	Carnise	RM44-e(116bp)	Ariete		
RM336-f(161bp)	Catelmochi	RM44-f(126bp)	Koral		
RM336-g(164bp)	Thaibonnet				
RM336-h(191bp)	IR64				
Cr9		Cr11		Cr12	
RM215		RM202		RM235	
Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento	Alleli	Varietà di riferimento
RM215-a-(147bp)	Tequing	RM202-a-(155bp)	Gange	RM235-a (96bp)	Thaibonnet
RM215-b-(149bp)	Baldo	RM202-b(157bp)	Thaibonnet	RM235-b(98bp)	Castelmochi
RM215-c(151bp)	Carnaroli	RM202-c(171bp)	Baldo	RM235-c(100bp)	Selenio
RM215-d-(153bp)	Selenio	RM202-d(179bp)	Tequing	RM235-d(102bp)	S. Andrea
RM215-e(155bp)	Ariete	RM202-e(183bp)	Rombo	RM235-e(110bp)	Tequing
				RM235-f (132bp)	IR 64

Tabella 3: elenco degli alleli e di alcune varietà testimoni per alcuni *loci* SSR

2.5.3 Materiali

Al primo anno di prova per il controllo della formula saranno esaminati 10 individui per ciascun parentale e 4 individui per l'ibrido corrispondente.

Nel caso in cui l'ibrido risulti disomogeneo anche ad un solo locus verranno esaminati altri 6 individui singoli.

Al secondo anno di prova l'analisi verrà effettuata sul nuovo campione di seme ibrido inviato, ciò consentirà di confermare la correttezza della formula e di verificare la stabilità del materiale.

2.5.4 Metodi

Estrazione degli acidi nucleici

Gli acidi nucleici verranno estratti da germinelli di circa 15 giorni secondo il protocollo proposto da Doyle e Doyle (1990) che prevede l'utilizzo di cetyltrimethylammonium



bromide (CTAB), un detergente ionico in grado di formare complessi insolubili con gli acidi nucleici in determinate concentrazioni saline della soluzione di estrazione.

In alternativa possono essere utilizzati kit di estrazione commerciali.

Reazione di Amplificazione e sistemi di rilevazione

Le sequenze dei primer da utilizzare per l'amplificazione dei diversi *loci* SSR sono elencate nella tabella 4.

Data la grande varietà di protocolli disponibili per la reazione di amplificazione e dei sistemi di rilevazione (elettroforesi su gel, elettroforesi capillare) si ritiene inopportuno stabilire una procedura analitica rigida, perciò per l'allestimento delle analisi sarà possibile utilizzare protocolli diversi fermo restando l'impiego del pannello di microsatelliti selezionati e delle varietà testimone indicate.

PRIMER	SEQUENZA 5'-3'	PRIMER	SEQUENZA 5'-3'
RM24-F	gaagtgtgatcactgtaacc	RM336-	cttacagagaaacggcatcg
RM24-R	tacagtggacggcgaagtgcg	RM336-	gctgggttgttcaggttcg
RM475-F	cctcacgattttcctccaac	RM44-F	acgggcaatccgaacaacc
RM475-R	acggtgggattagactgtgc	RM44-R	tcgggaaaacctaccctacc
RM338-F	cacaggagcaggagaagagc	RM219-	cgtcggatgatgtaaagcct
RM338-R	ggcaaaccgatcactcagtc	RM219-	catatcggcattcgctcg
RM252-F	ttcgtgacgtgataggttg	RM215-	caaaatggagcagcaagagc
RM252-R	atgactgatcccgagaacg	RM215-	tgagcacctccttctctgtag
RM164-F	tcttgcccgtcactgcagatatcc	RM202-	cagattggagatgaagtcctcc
RM164-R	gcagccctaattgctacaattcttc	RM202-	ccagcaagcatgtcaatgta
RM253-F	tccttcaagagtgcaaaacc	RM235-	agaagctagggttaacgaac
RM253-R	gcattgtcatgtcgaagcc	RM235-	tcacctggtcagcctctttc

Tabella 4: Sequenze dei primer forward (F) e reverse (R)

2.5.5 Elaborazione dati

I frammenti di amplificazione verranno misurati grazie all'utilizzo di marcatori di peso molecolare ed il confronto con le varietà di riferimento, di seguito è riportato un esempio di tabella per la raccolta dei dati.



		RM24	RM452	RM338	RM252	RM164	RM253	RM336	RM44	RM219	RM215	RM202	RM235	n°
I anno	Linea femm.	RM24-a	RM452-a	RM338-a	RM252-a	RM164-b	RM253-b	RM336-e	RM44-e	RM215-c	RM215-a	RM202-d	RM235-a	10
I anno	Linea masch.	RM4-c	RM452-a	RM338-b	RM252-c	RM164-d	RM253-b	RM336-e	RM44-a	RM215-c	RM215-a	RM202-c	RM235-b	10
	ibrido atteso	RM24-a/c	RM452-a/a	RM338-a/b	RM252-a/c	RM164-b/d	RM253-b/b	RM336-e/e	RM44-e/a	RM215-c/c	RM215-a/a	RM202-d/c	RM235-a/b	
I anno	ibrido	RM24-a/c	RM452-a/a	RM338-a/b	RM252-a/c	RM164-b/d	RM253-b/b	RM336-e/e	RM44-e/a	RM215-c/c	RM215-a/a	RM202-d/c	RM235-a/b	4
II anno	ibrido	RM24-a/c	RM452-a/a	RM338-a/b	RM252-a/c	RM164-b/d	RM253-b/b	RM336-e/e	RM44-e/a	RM215-c/c	RM215-a/a	RM202-d/c	RM235-a/b	4

Tabella 5: Schema per la raccolta dei dati per la descrizione dell'ibrido

2.6 Iscrizione con un anno di prove sotto sorveglianza ufficiale

Il costitutore deve inviare al 1° anno di prova sotto sorveglianza ufficiale al Centro di coordinamento entro il 15 febbraio, un campione di 200 g di semi dell'ibrido e un campione di 100 g di semi per ciascun parentale e componente.

Bibliografia

- Sundaram *et al.* (2008). Identification of informative SSR markers capable of distinguishing Hybrid rice parental lines and their utilization in seed purity assessment. *Euphytica* 163: 215-224.
- Yashitola *et al.* (2002). Assessment of purity of rice hybrids using microsatellite and STS markers. *Crop Sciences* 42: 1369-1373.
- Hasshemi *et al.* (2009). Identification of rice hybrids using microsatellites and RAPD markers. *African Journal of Biotechnology* 8 (10): 2094-2101.
- Guangjie *et al.* (2008). Molecular characterization of the recombinant inbred line population derived from a *japonica-indica* rice cross. *Euphytica* 159: 7382.
- Rahman *et al.* (2009). DNA fingerprinting of rice (*Oryza sativa*) cultivars using microsatellites markers. *Australian Journal of Crop Sciences* 3(3): 122-128.
- Sundaram Ganesh Ram *et al.* (2007). Genetic diversity among cultivars, landraces and wild relatives of rice as revealed by microsatellites markers. *Journal Applied Genetics* 48 (4): 337-345.
- Sundaram R.M. *et al.* (2008). Identification of informative SSR markers capable of distinguishing hybrids rice parental lines and their utilization in seed purity assessment. *Euphytica* 163: 215-224.
- Rajendracumar *et al.* (2007). A mitochondrial repeat specific marker for distinguishing Wild abortive type cytoplasmic male sterile from their cognate isogenic maintainer lines. *Crop Sciences* 47: 207-211.
- Yashitola *et al.* (2004). A sequence specific PCR marker for distinguishing rice lines on the basis of wild abortive cytoplasm from their cognate maintainer lines. *Crop Sci.* 44: 920-924.
- Filho *et al.* (2007). A set of multiplex panels of microsatellites marker for rapid molecular characterization of rice accessions. *BMC Plant Biology* 7:23.
- Casarini *et al.* (2008). First comparative test on DNA based methods: final report of the Variety C Working Committee Working Group. ISTA Seed Testing International n°135 April 2008.
- Sito Internet www.gramene.org
- Doyle and Doyle (1990). *Focus* 12:13-15.

