

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **048276**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.11.14

(51) Int. Cl. *A01H 1/00* (2006.01)

(21) Номер заявки
202391147

(22) Дата подачи заявки
2021.10.28

**(54) СПОСОБЫ ОЦЕНКИ АНАЛИЗИРУЮЩЕГО СКРЕЩИВАНИЯ ГИБРИДОВ
ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР**

(31) 20204432.7

(32) 2020.10.28

(33) EP

(43) 2023.06.21

(86) PCT/EP2021/079942

(87) WO 2022/090373 2022.05.05

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КВС ЗААТ СЕ & КО. КГАА (DE)

(72) Изобретатель:
**Лаге Джейкоб, Джон-Беджан Карус,
Бёрд Николас (GB)**

(74) Представитель:
Зуйков С.А. (RU)

(56) BAO Y G ET AL. "Heterosis and Combining Ability for Major Yield Traits of a New Wheat Germplasm Shannong 0095 Derived from *Thinopyrum intermedium*", AGRICULTURAL SCIENCES IN CHINA,, vol. 8, no. 6, 1 June 2009 (2009-06-01), pages 753-760, XP026221118, ISSN: 1671-2927, DOI: 10.1016/S1671-2927(08)60275-8, [retrieved on 2009-06-01], page 754, "Plant materials and field experiments", the whole document

Yosuf N. ET AL. "HETEROSIS FOR GRAIN YIELD AND ITS COMPONENT TRAITS IN SINGLE CROSS HYBRIDS OF MAIZE (*ZEA MAYS L.*)", 1 January 2014 (2014-01-01), pages 773-777, XP055786606, Retrieved from the Internet: URL:[http://pianarchives.org/files/Vol.%2014\(2\)%20\(773-777\).pdf](http://pianarchives.org/files/Vol.%2014(2)%20(773-777).pdf), [retrieved on 2021-03-17], page 773, "Materials and Methods"

ADHIKARI ANIL ET AL. "Estimation of heterosis and combining abilities of U.S. winter wheat germplasm for hybrid development in Texas", CROP SCIENCE, vol. 60, no. 2 1 March 2020 (2020-03-01), pages 788-803, XP055786676, US ISSN: 0011-183X, DOI: 10.1002/csc2.20020, Retrieved from the Internet: URL:<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full-xml/10.1002/csc2.20020>, the whole document

(57) Изобретение относится к анализирующему скрещиванию гибридов растений, таких как зерновые культуры, такие как *Triticum* (Пшеница), предпочтительно *Triticum aestivum* (Пшеница обыкновенная). Изобретение, в частности, относится к способам оценки анализирующих скрещиваний, в частности, оценки гетерозиса и/или (общей и/или специфической) комбинационной способности путем применения мужских стерильных растений, что позволяет использовать мелкомасштабные схемы посадок, содержащие ограниченное количество параллельных рядов тестерных и селекционных линий.

B1

048276

048276 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к способам генерирования и использования генетически (мужских) стерильных гибридных растений-тестеров, в частности растений рода *Triticum*. Кроме того, изобретение предлагает способ, облегчающий осуществление первоначального анализирующего скрещивания в анализирующих скрещиваниях гибридов с репрезентативными тестерами из мужских и женских пулов.

Предпосылки создания изобретения

В селекции гибридных культур скрещивание различных инбредных линий обычно приводит к получению гибридов F₁, которые имеют более высокую урожайность, чем их соответствующие родители. Это явление, при котором гибрид превосходит своих родителей, известно, как гетерозис. Селекция гибридных культур и, в частности, производство достаточного количества гибридных семян самоопыляющихся культур, таких как пшеница, является очень сложной задачей. Для решения этой проблемы было осуществлено использование химических гибридирующих агентов (СНА), например, при производстве гибридов пшеницы. Этот способ не только позволяет производить гибридные семена любой родительской комбинации, но и более удобен для стимулирования гетерозиса, поскольку не требуется поддерживающая линия или предварительная селекция.

В гибридной селекции все линии, разработанные в ходе линейной селекции, могут служить потенциальными родителями, что быстро приводит к непомерно высокому количеству факториальных скрещиваний. Поэтому линии обычно испытывают на их общую комбинационную способность (GCA) с использованием тестера из противоположной гетерозисной группы.

В настоящее время в селекции гибридной пшеницы все анализирующие скрещивания для анализа общей комбинационной способности (GCA) производятся с использованием химических гибридирующих агентов (СНА). Термин СНА описывает этот класс химических веществ при производстве гибридных семян, которые вызывают мужскую стерильность и, в зависимости от способа действия и дозировки, иногда могут приводить к женской стерильности (Маккрей, 1985, *Plant Breeding Reviews*, Том 3, Глава 3 "Достижения в химической гибридизации"). Преимущество, присущее использованию СНА, заключается в том, что мужскую стерильность можно вызвать у женского инбредного родителя простым распылением химического вещества, что значительно снижает производственные затраты. СНА полезен для коммерческого производства гибридных семян только в том случае, если он избирательно индуцирует мужскую, а не женскую стерильность, не зависит от генотипа и обладает системной активностью и стойкостью, позволяющей достичь различных стадий зрелости у обработанных растений (Уитфорд и соавт. *Journal of Experimental Botany* 2013, Том 64, № 18, стр. 5411-5428).

Однако этот способ является дорогостоящим. Хотя современные СНА эффективны в широком диапазоне генотипов и обладают пониженной фитотоксичностью, их коммерческому внедрению по-прежнему препятствует узкая область применения, которая зависит от преобладающих условий окружающей среды. Кроме того, многие линии не становятся полностью стерильными при использовании СНА и, следовательно, не дают однородных гибридов. Учитывая, что в полевых условиях участки необходимо опрыскивать СНА, необходимо использовать относительно большие участки.

Целью настоящего изобретения является устранение, по меньшей мере, одного из вышеупомянутых недостатков.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к анализирующему скрещиванию гибридов растений, таких как зерновые культуры, такие как *Triticum* (Пшеница), предпочтительно *Triticum aestivum* (Пшеница обыкновенная). Настоящее изобретение, в частности, относится к способам оценки анализирующих скрещиваний, в частности, для оценки гетерозиса и/или (общей и/или специфической) комбинационной способности.

Преобразовав тестеры как из мужского, так и из женского пула, например, в гибридную систему Голубого алейрона (BLA), авторы изобретения поняли, что можно сгенерировать семена тестеров, из которых вырастут мужские стерильные растения. Поскольку применение СНА не требуется, осуществление анализирующего скрещивания можно проводить на небольших участках, экономя землю, а также можно осуществлять анализирующее скрещивание с очень небольшим количеством семян. Кроме того, можно осуществлять анализирующее скрещивание на более ранних стадиях селекционного процесса при ограниченном количестве семян. Кроме того, стерильные мужские тестеры из мужского пула по-прежнему могут быть использованы для производства семян от анализирующего скрещивания с линиями, значимыми для женского пула, где способность к опылению не является обязательным требованием. Тот факт, что тестер и линию можно выращивать рядами на расстоянии < 20 см друг от друга, обеспечивает завязывание семян в достаточной мере даже при плохих опылителях.

Настоящее изобретение, в частности, охватывается любой одной или любой одной комбинацией, по меньшей мере, одного из приведенных ниже пронумерованных утверждений с 1 по 43, с любым другим утверждением и/или вариантами осуществления настоящего изобретения.

1. Способ генерирования гибридного растения, предпочтительно, гибридного зернового растения, более предпочтительно, гибридного растения из рода *Triticum* (Пшеница), наиболее предпочтительно, гибридного растения *Triticum aestivum* (Пшеница обыкновенная), содержащий скрещивание, по меньшей

19. Способ оценки анализирующих скрещиваний гибридов растений или оценки (общей и/или специфической) комбинационной способности, или гетерозиса (в анализирующих скрещиваниях гибридов растений) конкретного растения или в конкретном растении, или в растительной популяции, линии, сорте или разновидности (или в комбинации родительских растений), содержащий предоставление гибридного растения (F1) или растительной популяции, полученной путем скрещивания упомянутого конкретного растения в качестве первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности с другим растением, или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью в качестве второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, при этом упомянутое первое или второе растение представляет собой (генетически) мужское стерильное растение (и при этом упомянутое другое растение представляет собой (генетически) мужское фертильное растение);

определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака упомянутого гибридного растения или растительной популяции (для оценки анализирующего скрещивания гибридов растений или для определения (общей и/или специфической) комбинационной способности, или гетерозиса упомянутого конкретного растения, или комбинации родительских растений), предпочтительно, при этом упомянутое первое и второе растение представляет собой линию зерновых растений, более предпочтительно, растение из рода *Triticum*, наиболее предпочтительно, растение *Triticum aestivum*.

20. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-19, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

21. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-20, в котором упомянутое второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

22. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-21, в котором упомянутое первое растение и/или упомянутое второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой инбредное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

23. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-22, в котором упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой тестер.

24. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-23, в котором упомянутое первое или второе растение, или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность отбирают из растения или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в женском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях.

25. Способ в соответствии с утверждением 24, в котором упомянутый женский пул растений или растительные популяции, линии, сорта или разновидности характеризуются их пригодностью и использованием в качестве женского растения в гибридной селекции.

26. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-25, в котором упомянутое первое или второе растение, или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность отбирают из мужского пула растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей.

27. Способ в соответствии с утверждением 24, в котором упомянутый мужской пул растений или растительные популяции, линии, сорта или разновидности характеризуются их пригодностью и использованием в качестве мужского растения в гибридной селекции.

28. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-27, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в женском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях.

29. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-27, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в мужском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях.

30. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-27, в котором упомянутое второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в женском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях.

31. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-27, в котором упомянутое второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в мужском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях.

32. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-31, в котором упомянутое первое и второе

растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой зерновую культуру.

33. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-32, в котором упомянутое первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность относится к семейству Poaceae (Злаковые), предпочтительно, к подсемейству Pooideae (Мятликовые).

34. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-33, в котором упомянутое первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из трибы Triticeae (Пшеницевых).

35. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-34, в котором упомянутое первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходят из рода *Triticum*.

36. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-35, в котором упомянутое первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходят из вида *Triticum aestivum*.

37. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-36, в котором он не включает применение химического гибридизирующего агента и/или применение цитоплазматической мужской стерильности.

38. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-37, в котором упомянутое (генетически) мужское стерильное растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит гомозиготную мутацию, приводящую к (генетической) мужской стерильности.

39. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-38, в котором упомянутое (генетически) мужское стерильное растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит рецессивную мутацию, приводящую к (генетической) мужской стерильности.

40. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-39, в котором упомянутое (генетически) мужское стерильное растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит мутацию в гене *ms1* и/или *ms5*, предпочтительно, в *ms1*, предпочтительно, нокаутную мутацию или мутацию со сдвигом рамки.

41. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-40, в котором упомянутое (генетически) мужское стерильное растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит систему Голубого алейрона (BLA).

42. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-41, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген-восстановитель стерильности.

43. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-42, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген-восстановитель генетической стерильности.

44. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-43, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген-восстановитель мужской стерильности.

45. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-44, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген-восстановитель генетической мужской стерильности.

46. Способ в соответствии с любым из утверждений 42-45, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит селективный маркер.

47. Способ в соответствии с любым из утверждений 42-46, в котором упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген BLA или последовательность, кодирующую ген BLA.

48. Способ в соответствии с любым из утверждений 46-47, в котором упомянутый селективный маркер или ген BLA и упомянутый ген-восстановитель сцеплены.

49. Способ по любому из утверждений 46-48, в котором упомянутый селективный маркер или ген BLA и упомянутый ген-восстановитель находятся на одной и той же хромосоме.

50. Способ в соответствии с любым из утверждений 46-49, в котором упомянутый селективный маркер или ген BLA и упомянутый ген-восстановитель находятся на одном и том же хромосомном плече.

51. Способ в соответствии с любым из утверждений 42-50, в котором упомянутый ген-восстановитель находится на (чужеродной) дополнительной хромосоме.

52. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-41, в котором упомянутое второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген-восстановитель стерильности.

53. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-41 или 52, в котором упомянутое второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген-восстановитель генетической стерильности.

54. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-41 или 52-53, в котором упомянутое второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит ген-восстановитель мужской стерильности.

55. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-41 или 52-54, в котором упомянутое второе

ское) стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, полученную или получаемую путем самооплодотворения растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, содержащей ген-восстановитель (генетической) (мужской) стерильности, предпочтительно, содержащий (гомозиготную) мутацию *ms* (такую как *ms1*) (например, делецию или нокаут) и ген *BLA* или ген *BLA*, кодирующий последовательность.

86. Способ в соответствии с любым из утверждений 70-71, в котором упомянутый селективный маркер или ген *BLA* и упомянутый ген-восстановитель сцеплены.

87. Способ в соответствии с любым из утверждений 70-72, в котором упомянутый селективный маркер или ген *BLA* и упомянутый ген-восстановитель находятся на одной и той же хромосоме.

88. Способ в соответствии с любым из утверждений 70-73, в котором упомянутый селективный маркер или ген *BLA* и упомянутый ген-восстановитель находятся на одном и том же хромосомном плече.

89. Способ в соответствии с любым из утверждений 70-74, в котором упомянутый ген-восстановитель находится на (чужеродной) дополнительной хромосоме.

90. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-41, в котором упомянутое первое или второе растение получено или может быть получено путем отбора семян белого или не голубого цвета, полученных из (смеси семян, собранных с) самооплодотворенного растения с делецией в *ms*, предпочтительно, растения с делецией в *ms1*, имеющего (чужеродную) дополнительную хромосому, содержащую ген-восстановитель и селективный маркер, предпочтительно, ген *BLA* гена *BLA*, кодирующего последовательность.

91. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-90, содержащий

(a) скрещивание растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, содержащей ген-восстановитель (генетический) (мужской) стерильности, предпочтительно, содержащий мутацию (такую как у *ms1*) (гомозиготного) гена *ms* (например, делецию или нокаут), с (генетическим) (мужским) стерильным растением;

(b) отбор (генетического) (мужского) стерильного потомства, например, семени (не содержащего ген-восстановитель);

(c) скрещивание упомянутого потомства в качестве первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью (которое представляет собой (генетически) (мужское) фертильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность) для генерирования гибридного растения (или его части, например, семени) или растительной популяции;

(d) необязательно, дополнительное определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака упомянутого гибридного растения или растительной популяции (для оценки анализирующего скрещивания гибридов растений или для определения (общей и/или специфической) комбинационной способности, или гетерозиса упомянутого конкретного растения, или комбинации родительских растений).

92. Способ в соответствии с любым из утверждений 1-90, содержащий

(a) самооплодотворяющееся растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, содержащую ген-восстановитель (генетической) (мужской) стерильности, предпочтительно, содержащий мутацию (такую как у *ms1*) (гомозиготного) гена *ms* (например, делецию или нокаут);

(b) отбор (генетического) (мужского) стерильного потомства, например, семени (не содержащего ген-восстановитель);

(c) скрещивание упомянутого потомства в качестве первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью (которое представляет собой (генетически) (мужское) фертильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность) для генерирования гибридного растения (или его части, например, семени) или растительной популяции;

(d) необязательно, дополнительное определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака упомянутого гибридного растения или растительной популяции (для оценки анализирующего скрещивания гибридов растений или для определения (общей и/или специфической) комбинационной способности, или гетерозиса упомянутого конкретного растения, или комбинации родительских растений).

93. Способ в соответствии с любым из утверждений 91 или 92, в котором упомянутое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность этапа (a), содержащая ген-восстановитель (генетический) (мужской) стерильности, дополнительно содержит селективный маркер.

94. Способ в соответствии с любым из утверждений 91-93, в котором упомянутое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность этапа (a), содержащая ген-восстановитель (генетический) (мужской) стерильности, дополнительно содержит ген *BLA* или ген *BLA*, кодирующий последовательность.

95. Способ в соответствии с любым из утверждений 93-94, в котором упомянутый селективный маркер или ген *BLA* и упомянутый ген-восстановитель сцеплены.

96. Способ в соответствии с любым из утверждений 93-95, в котором упомянутый селективный маркер или ген B1A и упомянутый ген-восстановитель находятся на одной и той же хромосоме.

97. Способ в соответствии с любым из утверждений 93-96, в котором упомянутый селективный маркер или ген B1A и упомянутый ген-восстановитель находятся на одном и том же хромосомном плече.

98. Способ в соответствии с любым из утверждений 93-97, в котором упомянутый ген-восстановитель находится на (чужеродной) дополнительной хромосоме.

99. Способ в соответствии с любым из утверждений 93-98, в котором упомянутый отбор на этапе (b) основан на упомянутом селективном маркере.

100. Способ в соответствии с любым из утверждений 94-99, в котором упомянутый на этапе (b) содержит отбор не голубых семян, полученных из смеси семян, собранных в результате скрещивания или самооплодотворения растений на этапе (a).

101. Применение (генетически) мужского стерильного растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности для генерирования гибридного растения, оценки гетерозиса или общей/специфической комбинационной способности, или для анализирующего скрещивания гибридов растений, предпочтительно, при этом упомянутое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность определена в любом из утверждений 1-100, предпочтительно, при этом упомянутое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой линию зерновых растений, более предпочтительно, растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность из вида *Triticum*, наиболее предпочтительно, растение *Triticum aestivum* или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

102. Способ или применение в соответствии с любым из предыдущих утверждений, при этом упомянутое растение, линия растений, первое растение, линия первого растения, второе растение и/или линия второго растения является трансгенной или подвергшейся мутагенезу.

Краткое описание фигур

Фиг. 1: А. Схематическое представление обычного использования женского тестера, обработанного СНА. Затем его можно скрещивать с линиями, уже находящимися в мужском пуле, или с "экзотическими" линиями, которые оцениваются на применимость в мужском пуле; В. Схематическое представление обычного использования мужского тестера, который используется для опыления линий, уже находящихся в женском пуле, или "экзотических" линий, которые оцениваются на применимость в женском пуле. Для получения гибридных семян все женские линии должны быть обработаны СНА; С. Схематическое представление варианта осуществления настоящего изобретения, при этом женский тестер представляет собой линию B1A, а семена не голубого цвета отбирают, и они вырастают стерильными растениями (ms1ms1). Затем стерильное растение может быть скрещено с линиями, уже находящимися в мужском пуле, или с "экзотическими" линиями, которые оцениваются на применимость в мужском пуле; D. Схематическое представление варианта осуществления настоящего изобретения, где система B1A встроена в мужской тестер. Не голубые семена этого растения можно выращивать с любой потенциальной женской линией (экзотической или уже находящейся в пуле), которая не содержит систему B1A.

Фиг. 2: А. Схематическое представление традиционной установки с использованием СНА и посадок на больших участках для проведения опрыскивания; В. Схематическое представление варианта осуществления настоящего изобретения с использованием генетически стерильного тестера, высеваемого рядами, что экономит семена, пространство и химикаты.

Фиг. 3: Представление набора семян в кг, собранных с 6 м двойных рядов женских растений в зависимости от экстрезии пыльников использованных мужских растений.

Фиг. 4: Представление набора семян в кг, собранных с 6 м двойных рядов женских растений в зависимости от разницы по срокам колошения между мужским растением и женским растением.

Фиг. 5: Представление количества собранного зерна (в граммах) в зависимости от разницы во времени колошения (в днях) между женским родительским растением и мужским родительским растением (отрицательное значение = колошение мужского растения раньше колошения женского растения).

Фиг. 6: Представление количества собранного зерна (в граммах) в зависимости от уровня экстрезии пыльников у мужского родительского растения (более высокие баллы лучше, чем более низкие баллы).

Фиг. 7: Показано количество собранного зерна (в граммах) в зависимости от разницы в высоте растения (в см) женского родительского растения и мужского родительского растения (отрицательное значение = женское родительское растение короче мужского родительского растения).

Подробное описание изобретения

Прежде чем описывать настоящую систему и способ настоящего изобретения, следует понимать, что это изобретение не ограничивается конкретными описанными системами и способами или комбинациями, поскольку такие системы, способы и комбинации могут, конечно, варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем документе, не является ограничивающей, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

В контексте настоящего документа, формы единственного числа включают как единственное, так и множественное число, если из контекста явно не следует иное.

Термины "содержащий", "содержит" и "состоящий из", в контексте настоящего документа, являются синонимами "включающий", "включает" или "содержащий", "содержит", и являются всеобъемлющими или неограничивающими и не исключают дополнительных, не перечисленных членов, элементов или этапов способа. Следует понимать, что термины "содержащий", "содержит" и "состоящий из", в контексте настоящего документа, содержат термины "состоящий из", "состоит" и "состоит из", а также термины "состоящий по существу из", "состоит по существу" и "состоит по существу из".

Перечисление числовых диапазонов по конечным точкам включает все числа и дроби, включенные в соответствующие диапазоны, а также перечисленные конечные точки.

Термин "примерно" или "приблизительно", в контексте настоящего документа, когда он относится к измеряемому значению, такому как параметр, величина, длительность по времени и тому подобное, предназначен для охвата вариаций $\pm 20\%$ или менее, предпочтительно, $\pm 10\%$ или менее, более предпочтительно, $\pm 5\%$ или менее и еще более предпочтительно, $\pm 1\%$ или менее от упомянутого значения, поскольку такие вариации уместны для осуществления в раскрытом изобретении. Следует понимать, что значение, к которому относится модификатор "примерно" или "приблизительно", само по себе также конкретно и предпочтительно раскрыто.

Принимая во внимание, что термин "по меньшей мере, один", такой как, по меньшей мере, один член группы членов, понятен per se, посредством дальнейшего пояснения, термин охватывает, среди прочего, ссылку на любой один из упомянутых членов, или на любые, по меньшей мере, два из упомянутых членов, таких как, например, любой ≥ 3 , ≥ 4 , ≥ 5 , ≥ 6 или ≥ 7 и так далее из упомянутых членов, и вплоть до всех упомянутых членов.

Все ссылки, приведенные в настоящем описании, настоящим включены посредством ссылки в полном объеме. В частности, идеи всех ссылок, на которые конкретно ссылаются в настоящем документе, включены посредством ссылки.

Если не определено иное, все термины, используемые при раскрытии настоящего изобретения, включая технические и научные термины, имеют значение, которое обычно понятно специалисту средней квалификации в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. В качестве дополнительных разъяснений, включены определения терминов для лучшего понимания сути настоящего изобретения.

Авторитетные справочники, излагающие общие принципы технологии рекомбинантной ДНК, включают Молекулярное клонирование: Лабораторное руководство, 2-е изд., т. 1-3, изд. Сэмбрук и соавт., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Колд-Спринг-Харбор, Нью-Йорк, 1989; Текущие протоколы в молекулярной биологии, изд. Осубель и соавт., Greene Publishing and Wiley-Interscience, Нью-Йорк, 1992 (с периодическими обновлениями) ("Осубель и соавт. 1992"); серия "Методы в энзимологии" (Academic Press, Inc.); Иннис и соавт., Протоколы ПЦР: Руководство по методам и практическое руководство, Academic Press: Сан-Диего, 1990; ПЦР 2: Практический подход (под ред. М.Дж. Макферсона, Б.Д. Хеймса и Г.Р. Тейлора (1995); под ред. Харлоу и Лейна (1988) Антитела, Лабораторное руководство; и Культура клеток животных (Р.И. Фрешни, изд. (1987). Общие принципы микробиологии изложены, например, в работе Дэвис, Б.Д. и соавт., Microbiology, 3-е издание, Harper & Row, publishers, Филадельфия, Пенсильвания (1980).

В следующих отрывках различные аспекты настоящего изобретения определены более подробно. Каждый аспект, определенный таким образом, может быть объединен с любым другим аспектом или аспектами, если явно не указано обратное. В частности, любой признак, указанный как предпочтительный или имеющий преимущество, может быть объединен с любым другим признаком или признаками, указанными как предпочтительные или имеющие преимущество.

Ссылка во всем этом описании на "один вариант осуществления настоящего изобретения" или "вариант осуществления настоящего изобретения" означает, что конкретный признак, структура или характеристика, описанные в связи с этим вариантом осуществления настоящего изобретения, включен, по меньшей мере, в один вариант осуществления настоящего изобретения. Таким образом, фразы "в одном варианте осуществления настоящего изобретения" или "в варианте осуществления настоящего изобретения" в различных местах всего этого описания необязательно все относятся к одному и тому же варианту осуществления настоящего изобретения, но могут. Кроме того, конкретные признаки, структуры или характеристики могут быть объединены любым подходящим образом, как это было бы очевидно специалисту в данной области техники из настоящего изобретения, по меньшей мере, в одном варианте осуществления настоящего изобретения. Кроме того, в то время как некоторые варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в настоящем документе, включают некоторые, но не другие признаки, включенные в другие варианты осуществления настоящего изобретения, подразумевается, что комбинации признаков различных вариантов осуществления настоящего изобретения входят в объем настоящего изобретения и образуют различные варианты его осуществления, как это было бы понятно специалистам в данной области техники. Например, в прилагаемой формуле изобретения любой из заявленных вариантов осуществления настоящего изобретения может быть использован в любой комбинации.

В следующем подробном описании настоящего изобретения приводится ссылка на сопроводитель-

ные чертежи, которые являются частью настоящего документа и на которых показаны в качестве иллюстрации только конкретные варианты осуществления, в которых настоящее изобретение может быть реализовано. Следует понимать, что могут быть использованы и другие варианты осуществления настоящего изобретения, и могут быть внесены структурные или логические изменения, не выходя за рамки объема настоящего изобретения. Следовательно, следующее подробное описание не следует воспринимать в ограничивающем смысле, и объем настоящего изобретения определяется прилагаемой формулой изобретения.

Предпочтительные утверждения (признаки) и варианты осуществления этого изобретения изложены в настоящем документе ниже. Каждое утверждение и варианты осуществления настоящего изобретения, определенные таким образом, могут быть объединены с любым другим утверждением и/или вариантами осуществления, если явно не указано обратное. В частности, любой признак, указанный как предпочтительный или имеющий преимущество, может быть объединен с любым другим признаком или признаками, или утверждениями, указанными как предпочтительные или имеющие преимущество.

В контексте настоящего документа, термин "растение" включает целые растения, включая их потомство или потомков. В контексте настоящего документа, термин "растение", если явно не указано иное, означает растение на любой стадии развития. Предпочтительно, чтобы растение в соответствии с настоящим изобретением было (преимущественно) самоопыляющимся, т.е., значительная часть полученных семян была результатом самоопыления, а не перекрестного опыления. Перекрестное опыление, также называемое аллогамией, происходит, когда пыльца переносится с тычинки одного цветка на рыльце цветка другого растения того же вида. Самоопыление, в отличие от перекрестного опыления, относится к оплодотворению семяпочек/женских гамет в растении пыльцой того же растения. Самоопыление происходит, когда пыльца с одного цветка опыляет тот же цветок или другие цветки одного и того же индивидуума. Самоопыление может включать автогамию, когда пыльца переносится на женскую часть того же цветка; или гейтонамию, когда пыльца переносится на другой цветок того же растения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения самоопыление включает клейстогамию.

Предпочтительно, по меньшей мере, 25% полученных семян являются результатом самоопыления, более предпочтительно, по меньшей мере, 50%, еще более предпочтительно, по меньшей мере, 75%, наиболее предпочтительно, по меньшей мере, 90%. Термин "часть растения" включает любую часть или производное растения, включая конкретные растительные ткани или структуры, растительные клетки, протопласт растения, культуру растительных клеток или тканей, из которых могут быть регенерированы растения, каллусы растения, маточные корневища растения и растительные клетки, которые являются интактными в растениях или частях растений, такие как семена, ядра, початки, цветки, семядоли, листья, стебли, почки, корни, корневые кончики, стерня и тому подобное. Части растений могут включать обработанные части растений или производные, включая цветок, масла, экстракты и так далее. "Части растения" представляют собой, например, вегетативные органы/структуры побега, например, листья, стебли и клубни; корни, цветки и цветковые органы/структуры, например, прицветники, чашелистики, лепестки, тычинки, плодолистики, пыльники и семяпочки; семя, включая зародыш, эндосперм и семенную оболочку; плод и зрелую завязь; растительную ткань, например, сосудистую ткань, покровную ткань и тому подобное; и клетки, например, защитные клетки, яйцеклетки, пыльцу, трихомы и тому подобное; и их потомков. Части растений могут быть прикреплены к целому интактному растению или отделены от него. Такие части растения включают, но этим не ограничиваются, органы, ткани и клетки растения, и предпочтительно семена. "Растительная клетка" представляет собой структурную и физиологическую единицу растения, содержащую протопласт и клеточную стенку. Растительная клетка может быть в форме выделенной одиночной клетки или культивируемой клетки, или в виде части более высокоорганизованной единицы, такой как, например, растительная ткань, орган растения или целое растение. "Культура растительных клеток" означает культуры растительных единиц, таких как, например, протопласты, клетки в культуре клеток, клетки в растительных тканях, пыльца, пыльцевые трубки, семяпочки, зародышевые мешки, зиготы и зародыши на различных стадиях развития. "Растительный материал" относится к листьям, стеблям, корням, цветкам или частям цветков, плодам, пыльце, яйцеклеткам, зиготам, семенам, отводкам, культурам клеток или тканей, или любой другой части или продукту растения. Сюда также входят каллус или каллусная ткань, а также экстракты (такие как экстракты из стрежневых корней) или образцы. "Орган растения" представляет собой отдельную и визуальную структурированную, и дифференцированную часть растения, такую как корень, стебель, лист, бутон или зародыш. Термин "растительная ткань", в контексте настоящего документа, означает группу растительных клеток, организованных в структурную и функциональную единицу. Включена любая ткань растения в planta или в культуре. Этот термин включает, но этим не ограничивается, целые растения, органы растений, семена растений, культуру тканей и любые группы растительных клеток, организованных в структурные и/или функциональные единицы. Использование этого термина в сочетании или в отсутствие какого-либо конкретного типа растительной ткани, как указано выше, или иным образом, охватываемого этим определением, не подразумевает исключения любого другого типа растительной ткани.

Настоящее изобретение может быть применено к частям растения или к его производным. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, часть или производное растения является

или содержит (функциональный) материал для размножения, такой как зародышевая плазма, семя или зародыш растения, или другой материал, из которого растение может быть регенерировано. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, часть или производное растения не является (функциональным) материалом для размножения, таким как зародышевая плазма, семя или зародыш растения, или другой материал, из которого растение может быть регенерировано.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, часть или производное растения не содержит (функциональных) мужских и женских репродуктивных органов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, часть или производное растения является или содержит материал для размножения, но материал для размножения, который не используется или не может использоваться (больше) для продуцирования или генерирования новых растений, такой как материал для размножения, который был химически, механически или иным образом приведен в нефункциональное состояние, например, путем термической обработки, кислотной обработки, уплотнения, измельчения, дробления и так далее.

В контексте настоящего документа, термины "потомок" и "растение-потомок" относятся к растению, сгенерированному в результате полового размножения, по меньшей мере, от одного родительского растения. Растение-потомок может быть получено путем самоопыления одного родительского растения или путем скрещивания двух родительских растений. Например, растение-потомок может быть получено путем самоопыления родительского растения или путем скрещивания двух родительских растений, включая самоопыление, а также F1 или F2 или еще последующие поколения. F1 представляет собой потомков первого поколения, полученных от родителей, по меньшей мере, один из которых впервые используется в качестве донора признака, в то время как потомки второго поколения (F2) или последующих поколений (F3, F4 и т.п.) представляет собой образцы, полученные в результате самоопылений, интрокроссов, обратных скрещиваний и/или других скрещиваний F1 s, F2 s и тому подобного. Таким образом, F1 может представлять собой (и в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения представляет собой) гибрид, полученный в результате скрещивания между двумя настоящими гомозиготными родителями (т.е., родителями, которые являются настоящими гомозиготными, и каждый является гомозиготным по интересующему признаку или его аллелю), в то время как F2 может представлять собой (и в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения представляет собой) потомков полученных в результате самоопыления гибридов F1. Термин "потомки" может в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения использоваться взаимозаменяемо с термином "потомство", в частности, когда растение или растительный материал получен в результате полового скрещивания родительских растений. В соответствии с настоящим изобретением, потомки, предпочтительно, относятся к потомкам F1.

Настоящее изобретение, описанное в данном документе, может быть применено к растению. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растение представляет собой культурное растение, например, товарную культуру или культуру натурального хозяйства, такую как продовольственные или непродовольственные культуры, включая сельскохозяйственные, садовые культуры, культуры цветов или технические культуры. Термин "культурное растение" имеет свое обычное значение, известное в данной области техники. В качестве дополнительных разъяснений, и без ограничений, культурное растение представляет собой растение, выращиваемое людьми для получения пищи и других ресурсов, и его можно выращивать и собирать в широких масштабах для получения прибыли или продовольствия, как правило, в сельскохозяйственных условиях или контексте.

Термин "зерновое растение", в контексте настоящего документа, относится к культурному растению семейства злаковых (т.е., Graminaceae (Злаковые) или Poaceae (Мятликовые)), культивируемому ради пищевой ценности его зерен, такому как, но не ограничиваясь этим, пшеница, тритикале, кукуруза, рис, ячмень, овес, рожь, сорго, просо, гречка, фонио и квиноа. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, зерновое растение представляет собой тетраплоидную пшеницу, гексаплоидную пшеницу, тритикале, кукурузу, рис, ячмень или овес. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, зерновое растение представляет собой пшеницу (например, любой вид рода *Triticum*, включая его предшественников, а также его потомков, полученных путем скрещивания с другими видами). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, зерновое растение представляет собой тетраплоидную пшеницу или гексаплоидную пшеницу. Гексаплоидная пшеница (например, геномная организация AABBDD), состоящая из 42 хромосом и включающая, например, *T. aestivum* (Пшеница обыкновенная), *T. spelta* (Пшеница спельта), *T. mocha* (Пшеница маха), *T. compactum* (Клубная пшеница), *T. sphaerococcum* (Пшеница круглозерная), *T. vavilovii* (Пшеница Вавилова) и их межвидовое скрещивание. Тетраплоидная пшеница (например, геномная организация AABB), состоящая из 28 хромосом и включающая, например, *T. durum* (также называемую Твердой пшеницей или *Triticum turgidum* ssp. *durum* (Пшеница тургидум)), *T. dicoccoides* (Дикая полба), *T. dicoccum* (Пшеница двузернянка), *T. polanicum* (Пшеница польская) и их межвидовое скрещивание. Пшеница также может включать возможных предшественников гексаплоидной или тетраплоидной *Triticum* sp., такой как *T. urartu* (Пшеница Урарту), *T. monococcum* (Пшеница однозернянка культурная) или *T. boeoticum* (Пшеница боотийская) для генома A, *Aegilops speltoides* (Эгилопс спелтоидесный) для генома B и *T. tauschii* (Пшеница

Тауша (также известная как *Aegilops squarrosa* (Эгилопс оттопыренный) или *Aegilops tauschii* (Эгилопс Тауша)) для генома D. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения зерновым растением является *Triticum durum* или *Triticum aestivum*.

В контексте настоящего документа, термин "Poaceae" относится к семейству злаковых, или Gramineae. Предпочтительно, Poaceae представляет собой зерновые культуры (или злаковые травы), которые, в частности, культивируют ради съедобных компонентов их зерен.

В контексте настоящего документа, термин "Pooideae" относится к подсемейству Poaceae в семействе Poaceae. Предпочтительно, Pooideae представляет собой зерновые культуры (или злаковые травы), которые, в частности, культивируют ради съедобных компонентов их зерен.

В контексте настоящего документа, термин "Triticeae" относится к трибе Triticeae в подсемействе Pooideae. Предпочтительно, Triticeae представляет собой зерновые культуры (или злаковые травы), которые, в частности, культивируют ради съедобных компонентов их зерен. Неограничивающие роды в трибе Triticeae включают *Aegilops*, *Agropyron*, *Amblyopyrum*, *Anthosachne*, *Australopyrum*, *Cockaynea*, *Crithopsis*, *Dasyopyrum*, *Elymus*, *Elytrigia*, *Eremium*, *Eremopyrum*, *Festucopsis*, *Haynaldia*, *Henrardia*, *Heteranthelium*, *Hordelymus*, *Hordeum*, *Hystrix*, *Kengyilia*, *Leymus*, *Lophopyrum*, *Malacurus*, *Pascopyrum*, *Peridictyon*, *Psathyrostachys*, *Pseudoroegneria*, *Secale*, *Sitanion*, *Stenostachys*, *Taeniatherum*, *Thinopyrum*, *Triticum*. Предпочтительно, родом Triticeae является *Triticum* или *Hordeum*.

В контексте настоящего документа, термин "Triticum" относится к роду *Triticum* в трибе Triticeae. Термин "Triticum" может использоваться в настоящем документе взаимозаменяемо с пшеницей. Неограничивающие виды в роде *Triticum* включают *T. aestivum*, *T. aethiopicum*, *T. araraticum*, *T. boeoticum*, *T. carthlicum*, *T. compactum*, *T. dicoccoides*, *T. dicoccon*, *T. durum*, *T. ispananicum*, *T. karamyshevii*, *T. macha*, *T. militinae*, *T. monococcum*, *T. polonicum*, *T. spelta*, *T. sphaerococcum*, *T. timopheevii*, *T. turanicum*, *T. turgidum*, *T. urartu*, *T. vavilovii*, *T. zhukovskyi*; или любой их подвид или гибрид, включая все уровни пloidности, такие как (алло)тетраплоидный и (алло)гексаплоидный. Предпочтительно, вид *Triticum* представляет собой *Triticum aestivum*.

Настоящее изобретение относится к способам генерирования гибридного растения, содержащего скрещивание, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью, при этом упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

Термин "гибрид", "гибридное растение" или "гибридное семя", использованный в контексте настоящего изобретения, имеет свое обычное значение, известное в данной области техники. Посредством дополнительных разъяснений, и без ограничений, в контексте настоящего изобретения этот термин относится к потомству двух (генетически отличных или разных) родительских растений, которые могут представлять собой разные линии растений, сорта или разновидности. Следует понимать, что в соответствии с настоящим изобретением родители гибридного растения, предпочтительно, принадлежат к одному и тому же роду, предпочтительно, к одному и тому же виду. Предпочтительно, каждый из родителей гибрида представляет собой стабильную популяцию, имеющую высокую степень гомозиготности. Родители обычно отличаются друг от друга, по меньшей мере, по одному признаку или по (агрономической, физиологической или качественной) характеристике. Таким образом, гибрид обычно является гетерозиготным по такому признаку или (агрономическому, физиологическому или качественному) характеристике. В соответствии с настоящим изобретением, гибриды, предпочтительно, представляют собой гибриды F1, то есть, первое поколение потомства, полученное от двух родителей (например, двух родительских линий, сортов или разновидностей). Таким образом, семя, полученное в результате скрещивания двух родителей, является гибридным семенем F1.

Термины "линия растений", "сорт растений" и "разновидность растений", в контексте настоящего документа, имеют свое обычное значение в данной области техники и могут использоваться в настоящем документе взаимозаменяемо, если явно не указано иное. В качестве дополнительных разъяснений, и без ограничений, различные линии растений, сорта или разновидности, как правило, можно отличить друг от друга, по меньшей мере, по одному признаку или (агрономическому, физиологическому или качественному) характеристике. Сорт и разновидность обычно используются для описания линии, отобранной в рамках селекционной программы для массового производства фермерами, причем наиболее распространенным термином является сорт. В соответствии с настоящим изобретением, термин "линия растений" является предпочтительным. Предпочтительно, в соответствии с настоящим изобретением, линия растений представляет собой инбредную линию растений. Инбредные линии могут быть получены, как известно в данной области техники, например, путем последовательных циклов обратного скрещивания. Инбредные линии обычно имеют высокую степень гомозиготности. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения, части растений или растительная популяция имеют (среднюю) степень гомозиготности, составляющую, по меньшей мере, 50%, предпочтительно, по меньшей мере, 60%, более предпочтительно, по меньшей мере, 70%, наиболее предпочтительно, по меньшей мере, 80%, такую как, по меньшей мере, 90%. Предпочтительно, линия растений, в контексте настоящего до-

кумента, является полностью или почти гомозиготной (предпочтительно, идентичные растения, все одного и того же происхождения), предпочтительно, имеющая (среднюю) степень гомозиготности, составляющую, по меньшей мере, 50%, предпочтительно, по меньшей мере, 60%, более предпочтительно, по меньшей мере, 70%, наиболее предпочтительно, по меньшей мере, 80%, такую как, по меньшей мере, 90%.

В контексте настоящего документа, термин "растительная популяция" может использоваться взаимозаменяемо с термином "популяция растений". Растительная популяция, предпочтительно, содержит множество отдельных растений (зачастую или как правило связанных друг с другом общим происхождением), например, предпочтительно, по меньшей мере, 10, например, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90, более предпочтительно, по меньшей мере, 100, например, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 или 900, еще более предпочтительно, по меньшей мере, 1000, например, по меньшей мере, 10000 или, по меньшей мере, 100000. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растительная популяция, в контексте настоящего документа, относится к растительной популяции одного вида, линии, сорта или разновидности. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растительная популяция (или части ее растений) представляет собой линию, сорт или разновидность растения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растительная популяция (или части ее растений) не представляет собой линию, сорт или разновидность растения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растительная популяция (или части ее растений) представляет собой инбредную линию, сорт или разновидность растения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растительная популяция (или части ее растений) не представляет собой инбредную линию, сорт или разновидность растения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растительная популяция (или части ее растений) представляет собой аутбредную линию, сорт или разновидность растения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растительная популяция (или части ее растений) не представляет собой аутбредную линию, сорт или разновидность растения.

В контексте настоящего документа, термины "скрещенный" или "скрещивание" означают слияние гамет посредством опыления для получения потомков (т.е., клеток, семян или растений). Этот термин охватывает как половые скрещивания (опыление одного растения другим), так и самооплодотворение (самоопыление, т.е., когда пыльца и семяпочка (или микроспоры и мегаспоры) происходят от одного и того же растения или генетически идентичных растений). Предпочтительно, скрещивание, как указано в настоящем документе, оплодотворение одного растения другим растением, т.е., не самоопыление.

Использованный в настоящем документе термин "мужское стерильное" растение (линия, сорт или разновидность) имеет свое обычное значение в данной области техники. В качестве дополнительных разъяснений, и без ограничений, этот термин относится к растению, которое неспособно производить потомство в качестве донора пыльцы и, как следствие, может быть неспособно производить (функциональные) пыльники, пыльцу или гаметы. Цитоплазматические мужские стерильные растения имеют цитоплазматические гены, обычно в митохондриях, которые кодируют факторы, нарушающие или предотвращающие развитие пыльцы, что делает их мужскими стерильными, причем мужская стерильность наследуется по материнской линии. Использование цитоплазматической мужской стерильности для производства гибридных семян требует трех отдельных линий растений: мужской стерильной линии, изогенной мужской фертильной линии для размножения ("поддерживающая линия") и линии для восстановления фертильности гибрида, чтобы он мог давать семена ("восстановительная линия"). Мужская стерильная линия используется в качестве рецептивного родителя при гибридном скрещивании, поддерживающая линия генетически идентична мужской стерильной линии, за исключением того, что в ней отсутствуют факторы цитоплазматической стерильности, а восстановительная линия представляет собой любую линию, которая маскирует фактор цитоплазматической стерильности. Восстановительная линия очень важна для таких растений, как зерновое сорго или хлопчатник, полезной культурой которых являются сами семена или структуры, связанные с семенами. Генетическая мужская стерильность похожа на цитоплазматическую мужскую стерильность, но отличается тем, что факторы стерильности кодируются в ядерной ДНК. Как правило, генетическая мужская стерильность относится к изменению генетической структуры растения, что приводит к его способности производить и/или распространять жизнеспособную пыльцу. Генетические мужские стерильные линии растений могут быть природного происхождения. Также возможно создать мужскую стерильную линию растения с использованием рекомбинантных технологий. Независимо от того, встречаются ли они в природе или являются трансгенными, мужские стерильные линии по-прежнему требуют использования сестринской поддерживающей линии для своего размножения, что неизбежно приводит к получению как минимум 50% растений с мужской фертильностью в размноженных семенах. Это результат генетики линий мужской стерильности и поддерживающих линий. Если фактор мужской стерильности является рецессивным, как это происходит в большинстве случаев, то мужское стерильное растение должно быть гомозиготным и рецессивным, чтобы проявить этот признак. Предпочтительно, в соответствии с настоящим изобретением, мужская стерильность относится к генетической мужской стерильности. Предпочтительно, в соответствии с настоящим изобретением, мужская стерильность не является или не охватывает цитоплазматическую мужскую стерильность.

Необходимым условием для любой гибридной системы (в частности, для самоопыляющихся культур) является получение женских родителей, несущих мужскую стерильность. Документ WO 92/01366 A1 компании Pacific Seeds Pty. Ltd. раскрывает систему (генетической) мужской стерильности, которая позволяет поддерживать мужскую стерильность. Мужская стерильность может быть достигнута у растения путем гомозиготной делеции на коротком плече хромосомы 4В, например, как у пшеницы. Обычно используется хорошо известная делеция "Probus" (Fossati A., Ингольд М. 1970. Мужской стерильный мутант в *Triticum aestivum*. *Wheat Inform Serv* 30:8-10). Недавно ген *ms1*, расположенный в области, затронутой делецией, был идентифицирован как причинный ген. Если этот ген удален физически, или он был подвергнут нокауту/нокдауну посредством мутации или целенаправленной модификации (например, документ WO 2016/048891 A1, который включен в настоящий документ полностью для всех предполагаемых целей), то может быть установлена надежная мужская стерильность. Фертильность в этом случае также может быть легко восстановлена при скрещивании линии пшеницы, несущей делецию или мутацию/модификацию гомозиготно, с любой нормальной пшеницей. Полученные в результате потомки являются фертильными, поскольку делеция или мутация/модификация присутствуют только гетерозиготно. Однако для поддержания женского родителя, несущего мужскую стерильность, необходимы дополнительные компоненты. Таким образом, документ WO 92/01366 рекомендует использовать мужского родителя, изогенного по отношению к женскому родителю, но который имеет чужеродную дополнительную хромосому, несущую доминантный ген-восстановитель мужской фертильности из *Triticum boeoticum* (Пшеница беотийская) (обычное название *Triticum thaoudar* ((Пшеница таудар))) на коротком плече и ген голубого алейрона (BLA) из *Agropyron elongatum* (Пырей удлинённый) на длинном плече, при скрещивании с женским родителем для поддержания женского родителя, несущего мужскую стерильность, в результате чего ген BLA, если он экспрессируется, придает семенам потомков характерную голубую окраску. Ген-восстановитель и ген BLA могут в равной степени располагаться на одном и том же плече хромосомы, т.е., на одной и той же стороне центромеры хромосомы (см., например, документ WO2019043082, включенный в настоящий документ полностью). Недавние исследования показывают, что чужеродная дополнительная хромосома может также содержать хроматин *Triticum aestivum*. Для получения урожая от этого скрещивания, в результате которого генерируется популяция семян-потомков, состоящая из смеси двух родителей, возможно физически разделить семена-потомки при помощи цветового маркера, посредством которого, теоретически, семена белого цвета по-прежнему являются мужскими стерильными из-за наличия дефекта в гене *ms1* (делеция или мутация/модификация) и отсутствия чужеродной дополнительной хромосомы. Эти белые семена могут быть использованы в качестве женских родителей при последующем производстве гибридной пшеницы. Собранные голубые семена можно использовать в качестве мужских родителей для поддерживающей селекции. Аналогичная концепция применима к генам *ms2*, *ms3*, *ms4* и *ms5*. Способ получения зернового растения, содержащего моносомную чужеродную дополнительную хромосому, несущую ген-восстановитель мужской фертильности, и, по меньшей мере, один селективный маркерный ген были раскрыты в документе WO 2019/043082, включенном в настоящий документ в качестве ссылки полностью.

Системы, описанные в документах WO 92/01366 и WO 2019/043082, могут быть использованы для практической реализации настоящего изобретения. Предпочтительно, в таком случае, растение представляет собой зерновую культуру, предпочтительно из рода *Triticum*, более предпочтительно, *Triticum aestivum*. Соответственно, в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность, как описано в настоящем документе, может быть (генетически) мужским стерильным растением и может содержать мутацию, приводящую к (генетической) мужской стерильности. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность, как описано в настоящем документе, может быть (генетически) мужским стерильным растением и может содержать мутацию в любом, по меньшей мере, одном из генов *ms1*, *ms2*, *ms3*, *ms4* и *ms5* (приводящую к (генетической) мужской стерильности), предпочтительно, в *ms1*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность, как описано в настоящем документе, может быть (генетически) мужским стерильным растением и может содержать мутацию в гене *ms1* (приводящую к (генетической) мужской стерильности). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность, как описано в настоящем документе, может быть (генетически) мужским стерильным растением и может содержать мутацию в гене *ms2* (приводящую к (генетической) мужской стерильности). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность, как описано в настоящем документе, может быть (генетически) мужским стерильным растением и может содержать мутацию в гене *ms3* (приводящую к (генетической) мужской стерильности). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность, как описано в настоящем документе, может быть (генетически) мужским стерильным растением и может содержать мутацию в гене *ms4* (приводящую к (генетической) мужской стерильности). В определенных вариантах осуществления настоящего изобрете-

ния, первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность, как описано в настоящем документе, может быть (генетически) мужским стерильным растением и может содержать мутацию в гене *ms5* (приводящую к (генетической) мужской стерильности). Предпочтительно, чтобы все аллели гена *ms(1)* были мутантными. Мутации могут быть одинаковыми или разными. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация является гомозиготной. Следует понимать, что термин "мутация" в данном контексте включает физические мутации, такие как делеции (частей гена или кодирующей последовательности), точечные мутации, вставки, нокаутные мутации и т.д., как также описано в настоящем документе в другом месте, а также, например, нокаун гена (например, нокаун экспрессии). В контексте настоящего документа, термин "мутации" означает приведение к снижению (предпочтительно, к снижению, по меньшей мере, на 50%, более предпочтительно, по меньшей мере, на 75%, наиболее предпочтительно, к снижению, по меньшей мере, на 90%, 95% или 99%) или (по существу) к отсутствию уровней экспрессии белка и/или мРНК, или активности, по сравнению с немутированным/нативным/ белком дикого типа.

В контексте настоящего документа, термины "восстановитель", "ген-восстановитель" и "(ген) восстановитель (мужской) фертильности" могут использоваться взаимозаменяемо. Термин "ген-восстановитель", в контексте настоящего документа, также относится к кодирующей последовательности гена. Эти термины относятся к гену или хромосомному сегменту, или локусу, содержащему ген, который способен восстанавливать фертильность, в частности, мужскую фертильность, у иных (мужских) стерильных растений, в частности, растений, характеризующихся генетической или ядерной мужской стерильностью, таких как имеющих мутации, по меньшей мере, в одном гене *ms* (придающие (генетическую/ядерную) мужскую стерильность, такие как (рецессивные) мутации в гене *ms1*, которые вызывают (генетическую/ядерную) мужскую стерильность. Такие мутации в генах *ms*, включая мутации в *ms1*, известны в данной области техники и включают, среди прочего, делецию гена *ms(1)*, нокаун гена *ms(1)* или нокаут гена *ms(1)*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация является гомозиготной. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, ген-восстановитель является (доминантным) нативным/дикого типа/немутантным геном *ms* (т.е., *Ms*), таким как *Ms1*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, ген-восстановитель имеет последовательность, соответствующую SEQ ID NO: 1, 6, 7, 8 или 10, как указано в документе WO2019043082, или ее фрагменты, или ее варианты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; (ii) последовательность нуклеиновой кислоты, которая имеет идентичность последовательностей, составляющую, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с последовательностью нуклеиновой кислоты, как указано в SEQ ID NO: 1, 6, 7, 8 или 10 в документе WO2019043082, или ее фрагменты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; и (iii) последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую кодирующую последовательность, как указано в SEQ ID NO: 2, 4, 9, 11 или 14 в документе WO2019043082, или ее фрагменты, или ее варианты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; (iv) последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую кодирующую последовательность, которая имеет идентичность последовательностей, составляющую, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с последовательностью нуклеиновой кислоты, как указано в SEQ ID NO: 2, 4, 9, 11 или 14, как указано в документе WO2019043082, или ее фрагменты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; (v) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность, как указано в SEQ ID NO: 3, 5, 15, 42 или 43 в документе WO2019043082, или их фрагменты, или их варианты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; (vi) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность, которая имеет идентичность последовательностей, составляющую, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, как указано в SEQ ID NO: 3, 5, 15, 42 или 43 в документе WO2019043082, или ее фрагменты. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, ген-восстановитель расположен на (моносомной) (чужеродной) дополнительной хромосоме. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, ген-восстановитель расположен на дополнительной хромосоме к эуплоидному количеству хромосом растения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, (доминантный) ген-восстановитель мужской фертильности, и, по меньшей мере, один селективный маркерный ген находятся на дополнительной хромосоме. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, ген-восстановитель расположен на хромосоме, также несущей селективный маркер, предпочтительно, цветной маркер, предпочтительно, *BLA*, предпочтительно, *BLA* из *Agropyron elongatum* (Пырей удлинённый), *Agropyron trichophorum* (Пырей волососносный) или *Triticum monocossum* (Пшеница однозернянка культурная). Селективный маркер может находиться в (тесной) сцепке с геном-восстановителем, как описано в настоящем документе в другом месте (например, на том же плече хромосомы). В определенных вариантах осуществления настоящего

го изобретения, ген-восстановитель и, по меньшей мере, один селективный маркерный ген находятся на одной и той же стороне центромеры хромосомы. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, в контексте настоящего документа, ген BLA имеет или содержит последовательность, представленную в (i) последовательности нуклеиновой кислоты, имеющей кодирующую последовательность, как указано в SEQ ID NO: 44 или 12 в документе WO2019043082, или ее фрагменты, или ее варианты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; (ii) последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую кодирующую последовательность с идентичностью последовательностей, составляющей, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%>, по меньшей мере, 95%>, по меньшей мере, 96%>, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с последовательностью нуклеиновой кислоты, как указано в SEQ ID NO: 44 или 12 в документе WO2019043082, или ее фрагменты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; (iii) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность, как указано в SEQ ID NO: 45 или 13 в документе WO2019043082, или ее фрагменты, или ее варианты, которые производят функциональные аминокислотные последовательности; (iv) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность, которая имеет идентичность последовательностей, составляющую, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, как указано в SEQ ID NO: 45 или 13 в документе WO2019043082, или ее фрагменты.

В контексте настоящего документа, когда дается ссылка на растение (популяцию), содержащее ген-восстановитель, следует понимать, что такое растение экспрессирует или способно экспрессировать (например, условно) продукт гена-восстановителя. При этом, ген-восстановитель может быть функционально сцеплен с регуляторной последовательностью, такой как промотор, который может быть нативным или эндогенным промотором (или промотором, который естественным образом сцеплен с геном-восстановителем), или искусственным промотором (например, экзогенным промотором или промотором, который не сцеплен естественным образом с геном-восстановителем).

В контексте настоящего документа, термин "чужеродная дополнительная хромосома" может относиться к хромосоме, которая не является нативной для зернового растения в том смысле, что она происходит от ненативной хромосомы (т.е., от совершенно другого растения или другого вида растений, или от дикого родственника вида зернового растения) или, по меньшей мере, часть чужеродной дополнительной хромосомы происходит от ненативной нуклеиновой кислоты (например, по меньшей мере, селективный маркерный ген). Что касается способов и зерновых растений, раскрытых в настоящем документе, то чужеродная дополнительная хромосома придает фертильность зерновому растению, поскольку она несет ген-восстановитель мужской фертильности. Кроме того, чужеродная дополнительная хромосома придает измеримую фенотипическую характеристику, поскольку она несет селективный маркерный ген. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, чужеродная дополнительная хромосома является моносомной, что приводит к получению зернового растения с нечетным числом хромосом. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, чужеродная дополнительная хромосома транслоцируется в геном зернового растения, что может привести к получению зернового растения с четным числом хромосом. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, чужеродная дополнительная хромосома является дисомной, что приводит к получению зернового растения с нечетным числом хромосом. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, ген-восстановитель мужской фертильности чужеродного вида расположен в том же месте, что и ген мужской фертильности зернового растения.

В контексте настоящего документа, термин "фрагмент чужеродной хромосомы" может относиться к части хромосомы, которая происходит от ненативной нуклеиновой кислоты (например, по меньшей мере, селективный маркерный ген) или от нативной нуклеиновой кислоты, которая интегрирована в геном в местоположении, отличном от ее естественного местоположения. Что касается способов и зерновых растений, раскрытых в настоящем документе, то фрагмент чужеродной хромосомы придает фертильность зерновому растению, поскольку он несет ген-восстановитель мужской фертильности. Кроме того, фрагмент чужеродной хромосомы придает измеримую фенотипическую характеристику, поскольку он несет селективный маркерный ген. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, фрагмент чужеродной хромосомы является частью пары гомеологичных хромосом в геноме зернового растения.

В контексте настоящего изобретения, термин "ненативный" или "экзогенный" может относиться к нуклеиновой кислоте или полипептидной последовательности, которая не обнаружена в нативной нуклеиновой кислоте или белке рассматриваемого зернового растения. Термин "ненативный" может относиться к встречающейся в природе нуклеиновой кислоте или полипептидной последовательности, которая содержит мутации, вставки и/или делеции. Ненативная нуклеиновая кислота или полипептидная последовательность может быть сцеплена с встречающейся в природе нуклеиновой кислотой или полипептидной последовательностью (или их вариантом) с помощью генной инженерии для генерирования химерной нуклеиновой кислоты и/или полипептидной последовательности, кодирующей химерную нук-

леиновую кислоту и/или полипептид.

В контексте настоящего документа, термин "эндогенный", "нативный", "оригинальный" или "дикого типа" относится к встречающейся в природе нуклеиновой кислоте или полипептиду/белку. Нативная нуклеиновая кислота или белок могут быть физически получены из конкретного организма, в котором они встречаются в природе, или могут представлять собой синтетически сконструированную нуклеиновую кислоту или белок, идентичные встречающимся в природе нуклеиновой кислоте или белку.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, термин "фертильное растение" представляет собой растение, которое производит жизнеспособные мужские и женские гаметы, и является самооплодотворяющимся. Такое самооплодотворяющееся растение может произвести растение-потомка без вклада какого-либо другого растения в виде гаметы и содержащегося в ней генетического материала. Другие варианты осуществления настоящего изобретения, могут включать использование растения, которое не является самооплодотворяющимся, поскольку растение не производит мужские гаметы, или женские гаметы, или и те, и другие, которые жизнеспособны или иным образом способны к оплодотворению.

В контексте настоящего документа, "мужское стерильное растение" представляет собой растение, которое не производит мужские гаметы, которые являются жизнеспособными или иным образом способны к оплодотворению. В контексте настоящего документа, "женское стерильное растение" представляет собой растение, которое не производит женские гаметы, которые являются жизнеспособными или иным образом способны к оплодотворению. Следует иметь в виду, что мужские стерильные и женские стерильные растения могут быть женскими фертильными и мужскими фертильными, соответственно. Кроме того, следует иметь в виду, что мужское фертильное (но женское стерильное) растение может производить жизнеспособного потомка при скрещивании с женским фертильным растением, и что женское фертильное (но мужское стерильное) растение может производить жизнеспособного потомка при скрещивании с мужским фертильным растением. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, женский родитель, несущий мужскую стерильность, представляет собой индивидуум, у которого при самооплодотворении не может быть произведено жизнеспособного мужского растения.

В контексте настоящего документа, термин "эуплоидный" относится к нормальному комплекменту хромосом. В определенных вариантах осуществления настоящего документа, термин "эуплоидный" относится к числу хромосом, встречающихся в растении дикого типа.

Также в настоящем документе представлены селективные маркерные гены, которые могут быть использованы для идентификации (мужских) фертильных или, альтернативно, (мужских) стерильных растений среди зерновых растений и/или семян. Селективный маркерный ген кодирует маркер для подсчета трансформантов или скринируемый маркер. Чтобы точно идентифицировать (мужские) фертильные/стерильные растения, селективный маркер должен быть связан с геном-восстановителем мужской фертильности. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, маркерный ген и ген-восстановитель мужской фертильности расположены на одной и той же стороне центромеры одной и той же хромосомы, так что происходит значительное уменьшение количества фертильных семян и растений из голубых стерильных семян (из-за неправильного деления). Это связано с тем, что уменьшилась бы вероятность неправильного деления, приводящего к отделению или диссоциации селективного маркерного гена с геном-восстановителем мужской фертильности (т.е., приводящего к образованию двух телоцентрических хромосом, одна из которых несет только селективный маркерный ген, а другая несет только ген-восстановитель мужской фертильности).

Например, но без ограничения, селективный маркерный ген может представлять собой цветной маркерный ген (например, семя, шелк (совокупность пестичных столбиков), шелуха, кисточки, цветки и/или зерна), ген высоты растения, ген текстуры, ген аромата, микросателлиты (например, короткие tandemные повторы (STR) или простые повторяющиеся последовательности (SSR)), полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (RFLP), случайно амплифицированная полиморфная ДНК (RAPD), полиморфизм длины амплифицированных фрагментов (AFLP), однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) или их комбинация.

В определенных аспектах, селективный маркер представляет собой цветной маркер (например, визуальный и/или флуоресцентный). Когда селективным маркером является цветной маркер, можно отделить зерновые растения или семена в зависимости от того, как экспрессирован фенотип цвета, чтобы определить, какие растения или семена обладают геном-восстановителем мужской фертильности. Например, если цветной маркер приводит к получению семени, имеющего спецификацию (например, голубой алейрон или другой признак окраски эндосперма), то возможно разделить семена на окрашенные семена (например, голубые семена), из которых развиваются мужские фертильные растения (т.е., поддерживающая линия), и семена природного цвета (например, красные/белые), из которых развиваются мужские стерильные растения (т.е., женская линия). Возможность сортировки семян женской линии, несущей мужскую стерильность, непосредственно из потомка упрощает систему и в значительной степени снижает себестоимость производства гибридных семян. Например, устройство для сортировки семян смогло бы обнаружить разницу между природным цветом и семенами, экспрессирующими цветной маркер.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, цветной селективный маркер-

ный ген может происходить, например, но не ограничиваясь этим, от гена голубого алейрона (например, от *Agropyron elongatum*, *Agropyron trichophorum*, *Triticum thaoudar* или *Triticum monocossum*).

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, селективный маркер может представлять собой, например, без ограничения, *v*-глюкуронидазу; ген *uidA* (*GUS*) (кодирующий фермент, различные хромогенные субстраты которого известны (например, патент США №№ 5,268,463 и 5,599,670)); хлорамфеникол-ацетилтрансферазу; щелочную фосфатазу; полинуклеотиды антоцианина/флавоноида (например, полинуклеотид R-локуса (кодирующий продукт, который регулирует выработку антоцианиновых пигментов (красного цвета) в растительных тканях); гены, контролирующие биосинтез флавоноидных пигментов (например, C1 и C2 кукурузы, ген B, ген *ri* и гены бронзового локуса); ген голубого флуоресцентного белка (*CYP*); ген желтого флуоресцентного белка (*YFP*); ген красного флуоресцентного белка (*FP*), желто-зеленый флуоресцентный белок (*mNeonGreen*), ген *lux* (кодирующий люциферазу); зеленый флуоресцентный белок (*GFP*) и *Ds ed2* (Clontech Laboratories, Inc., Маунтин-Вью, Калифорния); ген *p*-лактамазы, кодирующий фермент, различные хромогенные субстраты которого известны (например, PADAC, хромогенный цефалоспориин); ген *hulE* (кодирующий катеходиоксигеназу, которая может преобразовывать хромогенные катехолы); и ген тирозиназы (кодирующий фермент, способный окислять тирозин до DOPA и допахинона, которые, в свою очередь, конденсируются с образованием легко обнаруживаемого соединения меланин). Также включены любые селективные маркеры, присутствие которых может быть обнаружено с использованием, например, рентгеновской пленки, сцинтилляционного счета, флуоресцентной спектрофотометрии, видеокamer с низкой освещенностью, детекторов счета фотонов (например, камер) и/или многолуночной люминометрии.

Дополнительные маркеры можно найти в работах Яррантона, *Curr Opin Biotech* (1992) 3:506-11; Кристоферсона и соавт., *Proc. Natl. Acad. Sci. США* (1992) 89:6314-8; Яо и соавт., *Cell* (1992) 71:63-72; Резникоффа, *Mol Microbiol* (1992) 6:2419-22; Ху и соавт., *Cell* (1987) 48:555-66; Брауна и соавт., *Cell* (1987) 49:603-12; Фигге и соавт., *Cell* (1988) 52:713-22; Дойшле и соавт., *Proc. Natl. Acad. Sci. США* (1989) 86:5400-4; Фюрста и соавт., *Proc. Natl. Acad. Sci. США* (1989) 86:2549-53; Дойшле и соавт., *Science* (1990) 248:480-3; Госсена, кандидатская диссертация, Гейдельбергский университет (1993); Рейнеса и соавт., *Proc. Natl. Acad. Sci. США* (1993) 90: 1917-21; Лабоу и соавт., *Mol Cell Biol* (1990) 10:3343-56; Замбетти и соавт., *Proc. Natl. Acad. Sci. США* (1992) 89:3952-6; Бэрна и соавт., *Proc. Natl. Acad. Sci. США* (1991) 88:5072-6; Выборски и соавт., *Nucleic Acids Res* (1991) 19:4647-53; Хиллена и Виссмана, *Topics Mol Struc Biol* (1989) 10: 143-62; Дегенколба и соавт., *Antimicrob Agents Chemother* (1991) 35: 1591-5; Кляйншнитца и соавт., *Biochemistry* (1988) 27: 1094-104; Бонина, кандидатская диссертация, Гейдельбергский университет (1993); Госсена и соавт., *Proc. Natl. Acad. Sci. США* (1992) 89:5547-51; Олива и соавт., *Antimicrob Agents Chemother* (1992) 36:913-9; Главка и соавт., *Справочник по экспериментальной фармакологии* (1985), Том 78 (Springer-Verlag, Берлин); Джилла и соавт., *Nature* (1988) 334:721-4; все они включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме для всех предполагаемых целей.

Термин "сцепление" относится к тенденции аллелей сегрегировать вместе чаще, чем ожидалось случайно, если их трансмиссия была независимой. Как правило, сцепление относится к аллелям на одной и той же хромосоме. Генетическая рекомбинация происходит с предполагаемой случайной частотой по всему геному. Генетические карты строятся путем измерения частоты рекомбинации между парами признаков или маркеров. Чем ближе признаки или маркеры расположены друг к другу на хромосоме, тем ниже частота рекомбинации и тем выше степень сцепления. Признаки или маркеры считаются в настоящем документе сцепленными, если они обычно совместно косегрегируются. Вероятность рекомбинации 1/100 на поколение определяется как расстояние на генетической карте 1,0 сантиморган (1,0 cM). Термин "неравновесное сцепление" относится к неслучайной сегрегации генетических локусов или признаков (или и того, и другого). В любом случае, неравновесное сцепление подразумевает, что соответствующие локусы достаточно физически проксимальны по длине хромосомы, так что они сегрегируются вместе с большей, чем случайная (то есть, неслучайная), частотой. Маркеры, которые показывают неравновесное сцепление, считаются сцепленными. Сцепленные локусы косегрегируются более чем в 50% случаев, например, примерно от 51% до примерно 100% случаев. Другими словами, два маркера, которые косегрегируются, имеют частоту рекомбинации менее 50% (и, по определению, отделены менее чем на 50 cM в одной и той же группе сцепления). В контексте настоящего документа, сцепление может быть между двумя маркерами или, в альтернативном варианте, между маркером и локусом, отрицательно влияющим на фенотип. Маркерный локус может быть "ассоциирован" (сцеплен) с признаком. Степень сцепления маркерного локуса и локуса, отрицательно влияющего на фенотипический признак, измеряется, например, как статистическая вероятность косегрегации этого молекулярного маркера с фенотипом (например, статистика F или LOD-балл).

Термин "мутация" или "мутантный", в контексте настоящего документа, относится к гену или его белковому продукту, который изменен или модифицирован таким образом, что функция, обычно приписываемая гену или его белковому продукту, изменена, или, альтернативно, таким образом, что экспрессия, стабильность и/или активность, обычно ассоциированные с геном или его белковым продуктом, изменены. Как правило, мутация, упомянутая в настоящем документе, приводит к фенотипическому эффекту, такому как мужская стерильность, как описано в настоящем документе в другом месте. Следует по-

нимать, что мутация в гене или его белковом продукте упоминается в сравнении с геном или его белковым продуктом, не имеющим такой мутации, таким как ген дикого типа или эндогенный ген, или его белковый продукт. Как правило, мутация относится к модификации на уровне ДНК и включает изменения в генетике и/или эпигенетике. Изменение в генетике может включать вставку, делецию, введение стоп-кодона, изменение основания (например, транзицию или трансверсию) или изменение границ сплайсинга. Эти изменения могут возникать в кодирующих или некодирующих областях (например, в промоторных областях, экзонах, интронах или в границах сплайсинга) эндогенной последовательности ДНК. Например, изменение в генетике может представлять собой обмен (включая вставки, делеции), по меньшей мере, одного нуклеотида в эндогенной последовательности ДНК или в регуляторной последовательности эндогенной последовательности ДНК. Если такой обмен нуклеотидами происходит, например, в промоторе, то это может привести к изменению активности промотора, поскольку, например, цис-регуляторные элементы модифицируются таким образом, что аффинность фактора транскрипции к мутантным цис-регуляторным элементам изменяется, по сравнению с промотором дикого типа, так что активность промотора с мутантными цис-регуляторными элементами повышается или понижается в зависимости от того, является ли фактор транскрипции репрессором или индуктором, или усиливается ли, или ослабляется аффинность фактора транскрипции к мутантным цис-регуляторным элементам. Если такой обмен нуклеотидами происходит, например, в кодирующей области эндогенной последовательности ДНК, то это может привести к аминокислотному обмену в кодируемом белке, что может привести к изменению активности или стабильности белка, по сравнению с белком дикого типа. Изменение в эпигенетике может происходить посредством измененного паттерна метилирования ДНК. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация, упомянутая в настоящем документе, относится к вставке, по меньшей мере, одного нуклеотида в ген. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация, упомянутая в настоящем документе, относится к делеции, по меньшей мере, одного нуклеотида в гене. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация, упомянутая в настоящем документе, относится к делеции, а также к вставке, по меньшей мере, одного нуклеотида. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, определенные удлинения нуклеотидов, такие как, например, кодирующие определенный белковый домен, удаляются. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация, упомянутая в настоящем документе, относится к обмену, по меньшей мере, одного нуклеотида в гене на другие нуклеотиды. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация представляет собой нонсенс-мутацию (т.е., мутация приводит к генерации стоп-кодона в последовательности, кодирующей белок). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация представляет собой мутацию со сдвигом рамки (т.е., вставку или делецию, по меньшей мере, одного нуклеотида (не равную трем или их произведению) в последовательности, кодирующей белок). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация приводит к получению усеченного белкового продукта. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация приводит к образованию N-концевого усеченного белкового продукта. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация приводит к образованию C-концевого усеченного белкового продукта. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация приводит к образованию N-концевого усеченного белкового продукта и C-концевого усеченного белкового продукта. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация приводит к измененному сайту сплайсинга (такому, как измененный донор сплайсинга и/или сайт акцептора сплайсинга). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация происходит в экзоне. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация происходит в интроне. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация происходит в регуляторной последовательности, такой как промотор. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация приводит к кодону, кодирующему другую аминокислоту. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация приводит к вставке или делеции, по меньшей мере, одного кодона (т.е., нуклеотидного триплета). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация представляет собой нокаутную мутацию. Как мутации со сдвигом рамки, так и нонсенс-мутации в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения могут рассматриваться как нокаутные мутации, в частности, если мутация присутствует в раннем экзоне. Нокаутная мутация, в контексте настоящего документа, предпочтительно, означает, что продукт функционального гена, такой как функциональный белок, больше не производится. В частности, мутации со сдвигом рамки, и нонсенс-мутации приведут к преждевременному прекращению трансляции белка, так что в результате получится усеченный белок, которому часто не хватает стабильности и/или активности, необходимой для выполнения естественно приписываемой ему функции. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация представляет собой нокадаун-мутацию. В отличие от нокаутной мутации, нокадаун-мутация приводит к снижению активности, стабильности и/или скорости экспрессии продукта нативного функционального гена, такого как белок, и, таким образом, в конечном счете к снижению функциональности. Например, мутации в промоторных областях, влияющие на связывание транскрипционного активатора (или других регуляторных последовательностей), в частности, снижающие скорость транскрипции, можно считать нока-

даун-мутациями. Мутации, негативно влияющие на стабильность белка (например, на увеличение убиквитинирования и последующую деградацию белка), также могут считаться нокдаун-мутациями). Кроме того, мутации, негативно влияющие на активность белка (например, на силу связывания или ферментативную активность), можно считать нокдаун-мутациями. Следует понимать, что описанные в настоящем документе мутации в соответствии с настоящим изобретением придают (генетическую) мужскую стерильность, как описано в настоящем документе в другом месте. Хотя рассматриваемая в настоящем документе мутация может не встречаться в природе, это не обязательно должно быть так. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, аллель дикого типа/эндогенный аллель заменяется мутантным аллелем, предпочтительно, все аллели дикого типа/эндогенные аллели заменяются мутантным аллелем. Замена может быть осуществлена любыми способами, известными в данной области техники, как также описано в настоящем документе в другом месте. Замена, в контексте настоящего документа, также включает (прямой) мутагенез аллеля (аллелей) дикого типа/эндогенного аллеля (аллелей) в его нативном геномном локусе. Соответственно, в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, аллель дикого типа/эндогенный аллель является мутантным, как описано в другом месте настоящего документа, предпочтительно, все аллели дикого типа/эндогенные аллели являются мутантными. Специалисту в данной области техники будет понятно, что только одна копия аллеля дикого типа/эндогенного аллеля может быть мутантной, и что гомозиготность (при желании) может быть получена путем самоопыления и последующего отбора. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения присутствует уменьшенное количество аллелей дикого типа/эндогенных аллелей (т.е., аллель дикого типа/эндогенный аллель является гетерозиготным). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, аллель дикого типа/эндогенный аллель нокаутирован, предпочтительно, нокаутированы все аллели дикого типа/эндогенные аллели, и мутантный аллель введен трансгенно, транзитно или геномно интегрирован, предпочтительно, геномно интегрирован. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, аллель дикого типа/эндогенный аллель нокаутирован, предпочтительно, нокаутированы все аллели дикого типа/эндогенные аллели, и трансгенно заменен мутантным аллелем (в нативном геномном местоположении аллеля дикого типа). Специалисту в данной области техники будет понятно, что только одна копия аллеля дикого типа/эндогенного аллеля может быть нокаутирована, и что гомозиготность (при желании) может быть получена путем самоопыления и последующего отбора.

Мутации, описанные в настоящем документе, могут быть введены путем мутагенеза, который может быть выполнен в соответствии с любой из методик, известных в данной области техники. В контексте настоящего изобретения термин "мутагенизация" или "мутагенез" включает как обычный мутагенез, так и мутагенез, зависящий от местоположения, или от "редактирования генома" или "редактирования генов". При обычном мутагенезе модификация на уровне ДНК не производится целенаправленным образом. Растительную клетку или растение подвергают воздействию мутагенных условий, таких как TILLING, воздействие ультрафиолетового излучения или использование химических веществ (Тилл и соавт., 2004). Дополнительным методом случайного мутагенеза является мутагенез с помощью транспозона. Специфичный для местоположения мутагенез, такой как редактирование генов, позволяет целенаправленно вводить модификации на уровне ДНК в заранее определенные местоположения ДНК. Например, для этого могут быть использованы TALENS, мегануклеазы, хоуминг-эндонуклеазы, цинк-пальцевые нуклеазы или система CRISPR/Cas.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутации, определенные в настоящем документе, являются гомозиготными. Соответственно, у диплоидных растений два аллеля идентичны (по меньшей мере, по отношению к конкретной мутации), у тетраплоидных растений четыре аллеля идентичны, а у гексаплоидных растений шесть аллелей идентичны по отношению к мутации или маркеру. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутация/маркер, в настоящем документе, является гетерозиготной. Соответственно, у диплоидных растений два аллеля не идентичны, у тетраплоидных растений четыре аллеля не идентичны (например, только один, два или три аллеля содержат специфическую мутацию/маркер), а у гексаплоидных растений шесть аллелей не идентичны по отношению к мутации или маркеру (например, только один, два, три, четыре или пять аллелей содержат специфическую мутацию/маркер). Аналогичные соображения применимы и в случае псевдополиплоидных растений.

В контексте настоящего изобретения, термины "фенотип", "фенотипический признак" или "признак" относятся, по меньшей мере, к одному признаку растения или растительной клетки. Фенотип можно наблюдать невооруженным глазом или с помощью любых других средств оценки, известных в данной области техники, например, с помощью микроскопии, биохимического анализа или электромеханического количественного анализа. В некоторых случаях фенотип непосредственно контролируется одним геном или генетическим локусом (т.е., соответствует "одному генному признаку"). В случае индукции гаплоидов, использование цветных маркеров, таких как R Navajo, и других маркеров, включая трансгены, визуализируемые по присутствию или отсутствию цвета в семени, свидетельствует о том, что семя является индуцированным гаплоидным семенем. Использование R Navajo в качестве цветного маркера и использование трансгенов хорошо известно в данной области техники в качестве средств обнаружения ин-

дукции гаплоидного семени на женском растении. В других случаях, фенотип является результатом взаимодействий между несколькими генами, что в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения также является результатом взаимодействия растения и/или растительной клетки с окружающей средой, в которой они находятся.

В контексте настоящего документа, термин "гомозиготный" относится к отдельной клетке или растению, имеющему одинаковые аллели, по меньшей мере, в одном локусе или во всех локусах. Когда этот термин используется применительно к определенному локусу или гену, это означает, что, по меньшей мере, локус или ген имеет одни и те же аллели. Используемый в настоящем документе термин "гомозиготный" означает генетическое состояние, существующее, когда идентичные аллели находятся в соответствующих локусах на гомологичных хромосомах. Соответственно, для диплоидных организмов два аллеля идентичны, для тетраплоидных организмов идентичны 4 аллеля и т.д. В контексте настоящего документа, термин "гетерозиготный" относится к отдельной клетке или растению, имеющему разные аллели, по меньшей мере, в одном локусе или во всех локусах. Когда этот термин используется применительно к определенному локусу или гену, это означает, что, по меньшей мере, локус или ген имеет разные аллели. Соответственно, для диплоидных организмов два аллеля не идентичны, для тетраплоидных организмов 4 аллеля не идентичны (т.е., по меньшей мере, один аллель отличается от других аллелей) и т.д. В контексте настоящего документа, термин "гетерозиготный" означает генетическое состояние, существующее, когда различные аллели находятся в соответствующих локусах на гомологичных хромосомах. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, белки, гены или кодирующие последовательности, описанные в настоящем документе, являются гомозиготными. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, белки, гены или кодирующие последовательности, описанные в настоящем документе, являются гетерозиготными. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, белки, гены или аллели кодирующих последовательностей, описанные в настоящем документе, являются гомозиготными. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, белки, гены или аллели кодирующих последовательностей, описанные в настоящем документе, являются гетерозиготными. Следует понимать, что гомозиготность или гетерозиготность, предпочтительно, относится, по меньшей мере, к гену, т.е., к локусу, содержащему ген (или кодирующую последовательность, производную от него, или кодируемый ей белок). Однако, более конкретно, гомозиготность или гетерозиготность может в равной степени относиться к конкретной мутации, такой как мутация, описанная в настоящем документе. Соответственно, конкретная мутация может считаться гомозиготной (т.е., все аллели несут мутацию), тогда как, например, остальная часть гена, кодирующей последовательности или белка может содержать различия между аллелями. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутации, определенные в настоящем документе, являются рецессивными. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, мутации, определенные в настоящем документе, являются рецессивными и гомозиготными.

В контексте настоящего документа, термин "химический агент гибридизации" или "СНА" относится к химическому агенту, которые используются для индуцирования (мужской) стерильности у растений и, следовательно, могут быть использованы в качестве инструмента получения гибридного растения, в частности, у самоопыляющихся растений. Химические вещества, используемые для индуцирования мужской стерильности, включают химические агенты гибридизации (СНА), мужские гаметоциды и средства для подавления пыльцы (Раззак и соавт., 2015, *Seed Technology*, 37(1): 23-31; Слипел и Полман, 2006; Каул, 2012). Мужская стерильность, индуцируемая с помощью СНА, является важным инструментом для использования гибридной силы в полевых культурах (Ченг и соавт., 2013). Точные дозы СНА на критических стадиях развития колоса могут индуцировать полную мужскую стерильность (Кросс и Ледимэн, 1991). Селективные СНА использовались во многих селекционных линиях, устраняя длительные процедуры, связанные с цитоплазматической мужской стерильностью (CMS) и поддержанием восстановления фертильности, и смягчая негативное влияние на функциональные характеристики инбредных линий из-за индукции CMS от других видов (Цизар и Купер, 2003). СНА также могут быть использованы для оценки большого количества генотипов на предмет общей и специфической способности к комбинированию на ранней стадии оценки кандидатов инбредных линий и могут быть использованы в качестве замены ручной эмаскуляции при межвидовых и межсортовых скрещиваниях, а также при рекуррентных обратных скрещиваниях. Настоящее изобретение, предпочтительно, позволяет избежать использования СНА. Соответственно, в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, не предполагают использование СНА.

В контексте настоящего документа, термин "гетерозис" имеет свое обычное значение в данной области техники и может также упоминаться как гибридная сила или усиление аутбридинга. В качестве дополнительных разъяснений, и без ограничений, гетерозис относится к улучшенной или усиленной функции любого биологического качества (такого как, по меньшей мере, одна агрономическая или физиологическая характеристика, или признак) у (гибридного) потомства. Потомство является гетерозисным, если, по меньшей мере, один его признак усиливается в результате смешения генетических вкладов его родителей. Эти эффекты могут быть обусловлены менделевским или неменделевским наследованием. Гетерозис может привести к появлению потомства от скрещивания (инбредных) линий. Гетерозис

может проявляться в любой, по меньшей мере, одной характеристике растения и, следовательно, может быть оценен посредством испытания, анализа или определения такой характеристики либо количественно, либо качественно. Как правило, такую характеристику сравнивают с соответствующей характеристикой у одного или обоих родительских растений. Гетерозис представляет собой функциональные характеристики F1 в сравнении со средним индивидуальным значением родителей. Это называется гетерозисом "среднего значения развития признака родительских форм". Термин "гетерозис наилучшего значения развития признака родительских форм" представляет собой функциональные характеристики в сравнении с наилучшим значением развития признака родительских форм. Термин "коммерческий гетерозис" относится к функциональным характеристикам F1 в сравнении с наилучшим коммерческим сравнением. Например, гетерозис среднего значения развития признака родительских форм и гетерозис наилучшего значения развития признака родительских форм (для специфической характеристики или признака) могут быть определены количественно, соответственно, следующим образом:

$$\% Ht = (F1 - M.P) / M.P \times 100,$$

Ht = Гетерозис, M.P = Среднее значение развития признака родительских форм,

$$\% Hbt = (F1 - B.P) / B.P \times 100,$$

Hbt = Гетеробельтиоз, B.P = Наилучшее значение развития признака родительских форм.

В контексте настоящего документа, термины "комбинационная способность", "общая комбинационная способность" или "GCA" и "специфическая комбинационная способность" или "SCA" имеют свое обычное значение в данной области техники. В качестве дополнительных разъяснений, и без ограничений, комбинационная способность относится к способности родителей комбинироваться друг с другом в процессе гибридизации таким образом, что желаемые гены или признаки передаются их потомкам (Фасахат и соавт., DOI: 10.15406/bbij.2016.04.00085). В другом определении, комбинационная способность представляет собой оценку значения генотипов на основе функциональных характеристик их потомства при некоторой определенной схеме спаривания (Аллард Р. В. Принципы селекции растений, John Wiley and Sons Inc., Нью-Йорк, США; 1960). Ее редко можно предусмотреть только на основе родительского фенотипа, и поэтому ее измеряют посредством проведения испытаний на потомках. Когда родительские растения производят мощное потомство, говорят, считается, что оно обладает хорошей комбинационной способностью, Васал С. К., Кордова Х., Пандей С., и соавт. Тропическая кукуруза и гетерозис. Основные результаты исследований CIMMYT (Международный центр селекции пшеницы и кукурузы), Мексика, DF, CIMMYT. 1986). Сначала комбинационная способность была общим понятием, используемым коллективно для классификации инбредной линии в соответствии с ее функциональными характеристиками скрещивания, но позже понятие было изменено. Две концепции общей комбинационной способности (GCA) и специфической комбинационной способности (SCA) важны для оценки инбредных линий и развития популяции в селекции сельскохозяйственных культур. Спрэг и Татум (Общая комбинационная способность против специфической комбинационной способности при простых скрещиваниях кукурузы. *Journal of the American Society of Agronomy*. 1942; 34:923-932) определили GCA как среднюю функциональную характеристику генотипа в серии гибридных комбинаций. Они определили SCA как случаи, при которых значения функциональных характеристик определенных гибридных комбинаций оказываются лучше или хуже, чем можно было бы ожидать, исходя из средних значений функциональных характеристик родительских инбредных линий. Считается, что родители, демонстрирующие высокое среднее значение комбинационной способности при скрещиваниях, имеют хорошую GCA, а если их потенциал хорошего комбинирования ограничен конкретным скрещиванием, то считается, что у них хорошая SCA. С точки зрения статистики, GCA является основным эффектом, а SCA - эффектом взаимодействия. GCA обусловлена активностью генов, которые в значительной степени аддитивны по своим эффектам, а также аддитивные x аддитивные взаимодействия. Специфическая комбинационная способность считается показателем локусов с доминантной изменчивостью (неаддитивные эффекты) и всех трех типов компонентов эпистатического взаимодействия, если присутствовал эпистаз. Они включают аддитивные x доминантные и доминантные x доминантные взаимодействия. Комбинационную способность линий по основным характеристикам оценивают путем изучения набора сконструированного потомства в рамках хорошей опытной конструкции, сопровождаемой статистическим анализом. Кроме того, отбор родителей по комбинационной способности проводится путем выращивания и оценки потомков. Для оценки комбинационной способности имеется несколько методов (Фасахат и соавт., DOI: 10.15406/bbij.2016.04.00085). Они включают линейное скрещивание, предложенное Дэвисом (Отчет селекционера растений. Годовой отчет сельскохозяйственной опытной станции Пуэрто-Рико. 1927. стр. 14-15) и разработанное Дженкинсом и Брунаоном (Метод испытания инбредной линии кукурузы при комбинациях поперечных грядок. *J Ann Sci Agron*. 1932;24:523-530), метод массового скрещивания, предложенный Тисдалом и соавт., (Селекция люцерны. *Coll Agric Univ Nebraska Agric. Exp Sta Res Bull*. 1942; 124:1-46), анализ диаллельного скрещивания по Гриффингу (Концепция общей и специфической комбинационной способности применительно к системе диаллельного скрещивания. *Australian Journal of Biological Sciences*. 1956b;9(4):463-493), анализ тестера по Кемпторну (Введение в генетическую статистику. John Wiley and Sons Нью-Йорк, США. 1957, стр. 458-471), частичное диаллельное скрещивание по Кем-

пторну и Курноу (Частичное диаллельное скрещивание. Биометрия. 1961;17(2):229-240), конструкция Северной Каролины, по Комстоку и Робинсону, (Компоненты генетической изменчивости в популяциях потомков от двух родителей и их использование для оценки средней степени доминантности Биометрия. 1948;4(4):254-266.), и триаллельное скрещивание по Роулингу и Кокерхэму (Анализ гибридных популяций двойного скрещивания. Биометрия. 1962; 18:229-244), которые используются для оценки комбинационной способности.

Оценка гетерозиса в соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, как и оценка (общей или специфической) комбинационной способности или, оценка анализирующих скрещиваний гибридов в более общем плане влечет за собой оценку, по меньшей мере, одной характеристики растения, в частности, по меньшей мере, одной агрономической, физиологической или качественной характеристики. Такие характеристики могут быть сопоставлены с соответствующими характеристиками, по меньшей мере, у одного родителя, как известно в данной области техники (среднее значение развития признака родительской формы или наилучшее значение развития признака родительской формы).

В качестве примера, и без ограничения, значимые характеристики растений включают множество характеристик, таких как агрономические, физиологические или качественные характеристики. Некоторые примерные агрономические, физиологические или качественные характеристики, или признаки включают: урожайность семян, высоту растения, количество (продуктивных) отростков на растение, длину колоса, количество колосков на колос, количество зерен на колос, урожайность зерна на растение, урожайность зерна, общий выход биомассы (надземной), устойчивость к болезням, засухоустойчивость, стрессоустойчивость, дни до цветения, индекс урожайности, выход соломы, масса зерна на колос, масса тысячи семян, объемная масса зерна, кущение, масса гектолитра, ущерб от мороза, дата появления колоса, полегание, твердость семян, содержание белка в семенах, общее содержание глютена в семенах, индекс глютена семян, содержание влаги в семенах, дни до колошения и т.д. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения, (агрономической, физиологической или качественной) характеристикой является урожайность семян (или зерна). Специалисту в данной области техники будет понятно, что урожайность семян может быть выражена несколькими различными способами, такими как урожайность семян на растение, урожайность семян на площадь произрастания, урожайность семян на колос, урожайность семян на единицу (общей или надземной) биомассы и т.д.

Агрономически значимая характеристика в контексте настоящего изобретения может быть связана с фенотипом растения, которое проявляет, по меньшей мере, один новый или оптимизированный признак, который обеспечивает улучшенную сельскохозяйственную производительность, касающуюся, например, урожайности, биомассы, архитектуры, морфологии, фертильности, выделения пыльцы, распределения питательных веществ, фотосинтеза, секвестрации углерода, устойчивости к болезням, толерантности к абиотическому и биотическому стрессу, толерантности к гербицидам, гормональной сигнализации и других категорий признаков. Фенотип может быть обусловлен любой одной или комбинацией, по меньшей мере, одной аллельной вариацией, по меньшей мере, в одной кодирующей, некодирующей или регуляторной областях генетического материала растения. Модификации могут быть связаны в рамках пространственной близости или геномного контекста, или они могут быть совершенно не связаны друг с другом. Таким образом, фенотип может проявлять, по меньшей мере, один полигенный признак.

Анализирующие скрещивания гибридов в соответствии с настоящим изобретением, как описано в настоящем документе, относятся к созданию конкретных схем селекции с целью оценки селекции гибридов, например, путем оценки гетерозиса или (общей и/или специфической) комбинационной способности. Линия x тестер представляется собой наиболее широко используемую схему спаривания для разработки гибридов (Фасахат и соавт., DOI: 10.15406/bbij.2016.04.00085). Анализ линии x тестер, который включает линии "I" и тестеры "t", является продолжением анализа двухфакторного факториального эксперимента, представленного Фишером и Йейтсом (Фишер Р.А. Организация полевых экспериментов. *Journal of Ministry of Agriculture*. 1926; 33:503-513; Йейтс Ф. Сложные эксперименты. Дополнение к журналу *Journal of the Royal Statistical Society*. 1935;2:181-223). В этой схеме потомки полных сибсов генерируются путем скрещивания линий "I" с тестерами "t". Затем развившихся потомков, а также их родителей оценивают в ходе разработанных полевых испытаний.

Тестер представляет собой генотип (линию, сорт, разновидность), который используется для идентификации превосходной зародышевой плазмы в соответствии с целями селекции в программе, ориентированной на гибрид. Тестерная линия, определенная различными исследователями (Матцингер Д.Ф. Сравнение трех типов тестеров для оценки инбредных линий кукурузы. *Agronomy Journal*. 1953;45:493-495; Роулинг Дж.О., Томпсон Д.Л. Уровень функциональных характеристик, как критерий при выборе тестеров кукурузы. *Stop Science*. 1962;2:217-220; Эллисон Дж.К.С, Курноу Р.У. О выборе родительского родителя-тестера для селекции синтетических сортов кукурузы (*Zea mays L.*). *Stop Science*. 1966;6(6):541-544), представляет собой линию, которая проста в использовании, предоставляет информацию, классифицирующую относительные функциональные характеристики линий по гетерозисным группам или гетерозисным паттернам, и максимально увеличивает ожидаемый средний урожай. Гетерозисные паттерны представляют собой популяции или линии с высоким средним гетерозисом, получен-

ные в результате высокой генетической дивергенции, отличающиеся частотой аллелей и обладающие высокой комбинационной способностью. Материалы, которые могут рассматриваться в качестве тестеров, состоят из инбредных линий, гибридов, полученных при простых скрещиваниях, и гетерогенных материалов, которые охватывают свободноопыляемые сорта, синтетические или популяционные. Эти материалы делятся на две большие группы, а именно на тестеры широкой генетической базы (гетерогенные материалы), а также на тестеры узкой генетической базы (простые скрещивания и инбредные линии). Считается, что тестер широкой генетической базы используется для отбора GCA, в то время как тестер узкой генетической базы используется для отбора SCA. Тестеры могут быть отобраны в соответствии с целями программы и типами разрабатываемых гибридов. Первоначальный тестер обычно выбирают на основе опыта работы с большинством коммерческих программ по улучшению гибридов с использованием инбредных родителей с подтвержденными функциональными характеристиками у гибридов. Выбор делают на основе использования информации о родословной испытуемых генотипов, а также на основе знаний о функциональных характеристиках тестера. Ни один тестер не удовлетворяет всем этим требованиям при любых обстоятельствах, поскольку польза тестера в значительной степени определяется предстоящим использованием специальной группы линий. При реципрокной рекуррентной селекции (RRS), подходящий тестер выбирают из популяции противоположной гетерозисной группы. Если целью является оценка линий неизвестного происхождения, то в качестве подходящих тестеров для определения гетерозисной ориентации новых линий используют, по меньшей мере, два тестера из установленных гетерозисных групп. По меньшей мере, две элитные линии из противоположных гетерозисных групп или демонстрирующие высокие уровни гетерозиса между собой, могут быть использованы в качестве тестеров, когда целью является разделение широкого спектра *baas* используемой в настоящем документе *sed*-популяции на две гетерозисные группы.

В контексте настоящего документа, термины "мужской пул" и "женский пул" относятся, соответственно, к коллекциям популяций, линий, сортов или разновидностей, которые обычно используются в качестве мужских или женских растений, т.е., которые обычно дают, соответственно, мужские или женские гаметы при скрещивании. Обозначение конкретной растительной популяции, линии, сорта или разновидности в мужском или женском пуле обычно определяется их пригодностью для использования в качестве мужского или женского растения, соответственно, как известно специалисту в данной области техники. Например, и без ограничений, такая пригодность может быть определена на основе значимых характеристик, ассоциированных со связанной с развитием и функциональностью мужских или женских гамет или репродуктивных органов. Например, у зерновых культур, таких как культуры из рода *Triticum*, (адекватная) экструзия пыльников может повысить качество конкретной линии для включения в мужской пул. В целом, в основе отнесения к мужскому пулу лежит способность линии рассеивать достаточное количество пыльцы, чтобы обеспечить высокий уровень оплодотворения стерильного женского растения. Важные признаки включают, но не этим не ограничиваются, экструзию пыльников, высвобождение пыльцы после, а не до экструзии пыльников, большой объем произведенной пыльцы, поэтапное цветение для увеличения периода рассеивания пыльцы, рассеивание жизнеспособной пыльцы и морфологию пыльцы, способствующую распространению ветром. В качестве примера и без ограничения, для женского пула значимыми характеристиками являются широкое "раскрытие" (раскрытие цветка), продолжительность раскрытия, продолжительность восприимчивости рыльца, большое количество прицветников, произведенных на единицу площади земли.

"Трансгенные" или "генетически модифицированные организмы" (ГМО), в контексте настоящего документа, представляют собой организмы, генетический материал которых был изменен с использованием общеизвестного метода, называемого "технологией рекомбинантной ДНК". Технология рекомбинантной ДНК охватывает способность объединять молекулы ДНК из разных источников в одну молекулу *ex vivo* (например, в пробирке). Термин "трансгенный" в настоящем документе означает генетически модифицированный путем введения неэндогенной последовательности нуклеиновой кислоты. Обычно видоспецифическую последовательность нуклеиновой кислоты вводят в клетку в виде, расположении или количестве в местоположении, где последовательность нуклеиновой кислоты не встречается в клетке естественным образом. Эта терминология обычно не охватывает организмы, генетический состав которых был изменен в результате обычного кроссбридинга или "мутагенезной" селекции, поскольку эти способы предшествуют открытию методов рекомбинантной ДНК. Термин "нетрансгенный", в контексте настоящего документа, относится к растениям и пищевым продуктам, полученным от растений, которые не являются "трансгенными" или "генетически модифицированными организмами", как определено выше.

"Редактирование генов" или "редактирование генома" относится к геной инженерии, при которой ДНК или РНК вставляют, удаляют, модифицируют или заменяют в геноме живого организма. Редактирование генов может содержать целенаправленный или нецеленаправленный (случайный) мутагенез. Целенаправленный мутагенез может быть осуществлен, например, с помощью дизайнерских нуклеаз, таких как, например, мегануклеазы, цинк-пальцевые нуклеазы (ZFN), нуклеазы на основе эффутора, подобного активатору транскрипции (TALEN), и система кластеризованных регулярных промежуточных коротких палиндромных повторов (CRISPR/Cas9). Эти нуклеазы создают сайт-специфические двухцепо-

чечные разрывы (DSB) в желаемых местоположениях в геноме. Индуцированные двухцепочечные разрывы репарируются путем негомологичного соединения концов (NHEJ) или путем гомологичной рекомбинации (HR), что приводит к целенаправленным мутациям или модификациям нуклеиновой кислоты. Использование дизайнерских нуклеаз особенно подходит для генерации нокаутов или нокадаунов генов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, разработаны дизайнерские нуклеазы, которые специфически вводят, по меньшей мере, один молекулярный маркер (аллель) в соответствии с настоящим изобретением, как описано в настоящем документе. Системы доставки и экспрессии систем дизайнерских нуклеаз хорошо известны в данной области техники.

Термин "ген", используемый в настоящем документе, относится к полимерной форме нуклеотидов любой длины, либо рибонуклеотидов, либо дезоксирибонуклеотидов. Этот термин включает двух- и одноцепочечную ДНК и РНК. Он также включает известные типы модификаций, например, метилирование, "кэпы", замены, по меньшей мере, одного из встречающихся в природе нуклеотидов аналогом. Предпочтительно, ген содержит кодирующую последовательность, кодирующую определенный в настоящем документе полипептид. "Кодирующая последовательность" представляет собой нуклеотидную последовательность, которая транскрибируется в мРНК и/или транслируется в полипептид при размещении или под контролем соответствующих регуляторных последовательностей. Границы кодирующей последовательности определяются стартовым кодоном трансляции на 5'-конце и стоп-кодом трансляции на 3'-конце. Кодирующая последовательность может включать, но этим не ограничивается, мРНК, кДНК последовательности рекомбинантных нуклеиновых кислот или геномную ДНК, в то время как интроны также могут присутствовать при определенных обстоятельствах.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способу генерирования гибридного растения, содержащего скрещивание, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью, при этом упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

Предпочтительно, первое и второе растения относятся к роду *Triticum*, предпочтительно, к *Triticum aestivum*.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способу генерирования гибридного растения, содержащему

(a) скрещивание растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, содержащей (генетический) (мужской) ген-восстановитель стерильности, предпочтительно, содержащий мутацию (такую как у *ms1*) (гомозиготного) гена *ms* (например, делецию или нокаут), с (генетическим) (мужским) стерильным растением, предпочтительно, содержащим мутацию (такую как у *ms1*) (гомозиготного) гена *ms* (например, делецию или нокаут);

(b) отбор (генетического) (мужского) стерильного потомства, например, семян (не содержащих ген-восстановитель), такого как, например, на основе селективного маркера, такого как *BLA* (сцепленного с геном-восстановителем, как описано в настоящем документе в другом месте), при этом, отбирают белые или не голубые семена;

(c) скрещивание упомянутого потомства в качестве первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью (которое представляет собой (генетически) (мужское) фертильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность) для генерирования гибридного растения (или его части, например, семени) или растительной популяции;

(d) необязательно, дополнительное определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака упомянутого гибридного растения или растительной популяции (для оценки анализирующего скрещивания гибридов растений или для определения (общей и/или специфической) комбинационной способности, или гетерозиса упомянутого конкретного растения, или комбинации родительских растений).

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способу генерирования гибридного растения, содержащему

(a) самооплодотворение растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, содержащей ген-восстановитель (генетический) (мужской) стерильности, предпочтительно, содержащий (гомозиготную) мутацию гена *ms* (такого как *ms1*) (например, делецию или нокаут);

(b) отбор (генетического) (мужского) стерильного потомства, например, семян (не содержащих ген-восстановитель), такого как, например, на основе селективного маркера, такого как *BLA* (сцепленного с геном-восстановителем, как описано в настоящем документе в другом месте), при этом, отбирают белые или не голубые семена;

(c) скрещивание упомянутого потомства в качестве первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью (которое представляет собой (генетически) (мужское) фертильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность) для генерирования ги-

бридного растения (или его части, например, семени) или растительной популяции;

(d) необязательно, дополнительное определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака упомянутого гибридного растения или растительной популяции (для оценки анализирующего скрещивания гибридов растений или для определения (общей и/или специфической) комбинационной способности, или гетерозиса упомянутого конкретного растения, или комбинации родительских растений).

Способы настоящего изобретения представляют особый интерес в контексте испытания комбинационной способности растений или растительных популяций. В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способу испытания, анализа, оценивания или определения (общей и/или специфической) комбинационной способности, содержащему скрещивание, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью, при этом упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность. Предпочтительно, первое и второе растения относятся к роду *Triticum*, предпочтительно, к *Triticum aestivum*.

Способы настоящего изобретения позволяют определить гетерозис для комбинации растений или растительных популяций. Соответственно, настоящее изобретение относится к способу испытания, анализа, оценивания или определения гетерозиса, содержащему скрещивание, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью, при этом упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность. Предпочтительно, первое и второе растения относятся к роду *Triticum*, предпочтительно, к *Triticum aestivum*.

Способы настоящего изобретения могут быть использованы для анализирующего скрещивания гибридных растений. В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способу анализирующего скрещивания гибридов растений, содержащему скрещивание, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, с одним вторым растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью, при этом упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность. Предпочтительно, первое и второе растения относятся к роду *Triticum*, предпочтительно, к *Triticum aestivum*.

Способы настоящего изобретения обычно включают анализ потомства от скрещивания первого и второго растения или растительной популяции. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, дополнительно содержат сбор первого и/или второго растений или их частей, предпочтительно, семян.

Анализ потомства может быть проведен различными путями. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, дополнительно содержат определение выхода, такого как выход (биомассы) растений или частей растений, предпочтительно, зерен или семян. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, дополнительно содержат испытание, анализ, оценку или определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака (у потомка (F1)). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, дополнительно содержат испытание, анализ, оценку или определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака (у потомка (F1) или потомка (F1), или у первого и второго растения). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, дополнительно содержат испытание, анализ, оценку или определение общей и/или специфической комбинационной способности или, по меньшей мере, одной агрономической (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака (у потомка (F1) или потомка (F1), или у первого и второго растения).

Способы настоящего изобретения могут быть реализованы на практике с помощью конкретных способов посева. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, содержат высеивание семян упомянутого, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, или посадку растений упомянутого, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, в один параллельный ряд; и высеивание семян упомянутого, по меньшей мере, одного второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, или посадку растений упомянутого, по меньшей мере, одного второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, в один параллельный ряд, примыкающий или нахо-

рого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, или посадку растений, по меньшей мере, одного второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, в один параллельный ряд, примыкающий или находящийся по обе стороны от упомянутого, по меньшей мере, одного параллельного ряда упомянутого, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности; при этом упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность. Предпочтительно, первое и второе растения относятся к роду *Triticum*, предпочтительно, к *Triticum aestivum*.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, способы изобретения, описанные в настоящем документе, дополнительно содержат анализирование или определение, по меньшей мере, одной (агрономической, физиологической или качественной) характеристики или признака, такого как для оценки (общей и/или специфической) комбинационной способности или гетерозиса, или для оценки анализирующего скрещивания гибридов растений, или скрещиваний.

Следует понимать, что в соответствии с настоящим изобретением, если первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, то второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность не представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность и наоборот. Соответственно, если первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, то второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское фертильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность и наоборот.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (происходит из) инбредную линию. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (происходит из) инбредную линию. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (происходит из) инбредную линию.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой растение-тестер или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой растение-тестер или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в женском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в мужском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в женском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой (генетически) мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в мужском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях. В качестве преимущества, в соответствии с настоящим изобретением, мужские стерильные тестеры из мужского пула по-прежнему могут быть использованы для производства семян от анализирующего

тения/популяции, имеющие (чужеродную) дополнительную хромосому или имеющие, по меньшей мере, ген-восстановитель (и селективный маркер), предпочтительно, содержащийся в (чужеродной) дополнительной хромосоме, также содержат генетическое событие, приводящее к стерильности, которая, однако, (фенотипически) подавляется или нейтрализуется присутствием гена-восстановителя. Соответственно, в некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения, (родительские) растения/популяции, имеющие (чужеродную) дополнительную хромосому или имеющие, по меньшей мере, ген-восстановитель (и селективный маркер), предпочтительно, содержащийся в (чужеродной) дополнительной хромосоме, содержат мутацию, как указано в настоящем документе в другом месте, в гене *ms*, таком как, предпочтительно, *ms1*, предпочтительно, в гомозиготном гене, или во всех аллелях.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что селекцию растений или растительных популяций можно проводить генотипически или фенотипически, как известно в данной области техники, например, путем селекции на основе селективного маркера, как описано в настоящем документе в другом месте, например, с помощью гена *BLA*, что позволяет осуществлять отбор на основе цвета семян (т.е., голубые семена содержат ген *BLA* и ген-восстановитель и, следовательно, являются (генетически) (мужскими) фертильными, а не голубые семена или белые семена не содержат гена *BLA* и гена-восстановителя и, следовательно, являются (генетически) (мужскими) стерильными (получаемыми в результате скрещивания с участием (генетических) (мужских) стерильных растений и (изогенных) родителей, содержащих те же (генетические) (мужские) факторы стерильности/гены и, кроме того, ген-восстановитель и ген *BLA*). Соответственно, в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, отбор включает отбор голубых семян (если должны быть отобраны (генетические) (мужские) фертильные растения). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, отбор включает отбор не голубых или белых семян (если должны быть отобраны (генетические) (мужские) стерильные растения).

Предпочтительно, (генетическое) (мужское) стерильное растение, используемое в настоящем документе, представляет собой генетическое (мужское) стерильное растение или (генетическое) мужское стерильное растение, предпочтительно, генетически мужское стерильное растение. Предпочтительно, такие растения имеют мутированный ген *ms*, как описано в настоящем документе в другом месте, предпочтительно, мутированный ген *ms1*, как описано в настоящем документе в другом месте, например, делецию, нокаут или нокадаун гена *ms(1)*.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, стерильное растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой генетически мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Poaceae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Poaceae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Poaceae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Pooideae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Pooideae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Pooideae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из трибы *Triticeae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Triticeae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из трибы *Triticeae*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из трибы *Triticum*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Triticum*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из семейства *Triticum*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из вида *Triticum aestivum*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из вида *Triticum aestivum*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, первое и второе растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность происходит из вида *Triticum aestivum*.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к использованию схемы посадок по настоящему изобретению, как описано в настоящем документе в другом месте (в способе), для испытания, анализи-

рования, оценивания или определения гетерозиса или общей и/или специфической комбинационной способности растений, или в растениях, или (в способе) для анализирующего скрещивания гибридов растений. Предпочтительно, растения относятся к роду *Triticum*, предпочтительно, к *Triticum aestivum*.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к использованию (генетически) мужского стерильного растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности (в способе) для испытания, анализа, оценивания или определения гетерозиса, или общей и/или специфической комбинационной способности растений, или в растениях, или (в способе) для анализирующего скрещивания гибридов растений. Предпочтительно, растения относятся к роду *Triticum*, предпочтительно, к *Triticum aestivum*.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к гибриднему растению, полученному или полученному способами по настоящему изобретению, как описано в настоящем документе, или к части растения, такой как семя.

Схемы посадок

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, схемы посадок (или схемы посевов), описанные в настоящем документе далее, используются в соответствии со способами настоящего изобретения, описанными в настоящем документе. Такие схемы посадок могут включать, по меньшей мере, одну схему посадок или посевов, размеры, плотность посадки и т.д., как дополнительно описано ниже.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, схемы посадок содержат комбинацию любого, по меньшей мере, одного аспекта и подаспекта, подробно описанных ниже.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, схемы посадок содержат комбинацию любого, по меньшей мере, одного аспекта {A}, {B}, {C}, {D}, {E}, {F}, {G}, {A+B}, {A+C}, {A+D}, {A+E}, {A+F}, {A+G}, {B+C}, {B+D}, {B+E}, {B+F}, {B+G}, {C+D}, {C+E}, {C+F}, {C+G}, {D+E}, {D+F}, {D+G}, {E+F}, {E+G}, {F+G}, {A+B+C}, {A+B+D}, {A+B+E}, {A+B+F}, {A+B+G}, {A+C+D}, {A+C+E}, {A+C+F}, {A+C+G}, {A+D+E}, {A+D+F}, {A+D+G}, {A+E+F}, {A+E+G}, {A+F+G}, {B+C+D}, {B+C+E}, {B+C+F}, {B+C+G}, {B+D+E}, {B+D+F}, {B+D+G}, {B+E+F}, {B+E+G}, {B+F+G}, {C+D+E}, {C+D+F}, {C+D+G}, {C+E+F}, {C+E+G}, {C+F+G}, {D+E+F}, {D+E+G}, {D+F+G}, {E+F+G}, {A+B+C+D}, {A+B+C+E}, {A+B+C+F}, {A+B+C+G}, {A+B+D+E}, {A+B+D+F}, {A+B+D+G}, {A+B+E+F}, {A+B+E+G}, {A+B+F+G}, {A+C+D+E}, {A+C+D+F}, {A+C+D+G}, {A+C+E+F}, {A+C+E+G}, {A+C+F+G}, {A+D+E+F}, {A+D+E+G}, {A+D+F+G}, {A+E+F+G}, {B+C+D+E}, {B+C+D+F}, {B+C+D+G}, {B+C+E+F}, {B+C+E+G}, {B+C+F+G}, {B+D+E+F}, {B+D+E+G}, {B+D+F+G}, {B+E+F+G}, {C+D+E+F}, {C+D+E+G}, {C+D+F+G}, {C+E+F+G}, {D+E+F+G}, {A+B+C+D+E}, {A+B+C+D+F}, {A+B+C+D+G}, {A+B+C+E+F}, {A+B+C+E+G}, {A+B+C+F+G}, {A+B+D+E+F}, {A+B+D+E+G}, {A+B+D+F+G}, {A+B+E+F+G}, {A+C+D+E+F}, {A+C+D+E+G}, {A+C+D+F+G}, {A+C+E+F+G}, {A+D+E+F+G}, {B+C+D+E+F}, {B+C+D+E+G}, {B+C+D+F+G}, {B+C+E+F+G}, {B+D+E+F+G}, {C+D+E+F+G}, {A+B+C+D+E+F}, {A+B+C+D+E+G}, {A+B+C+D+F+G}, {A+B+C+E+F+G}, {A+B+D+E+F+G}, {A+C+D+E+F+G}, {B+C+D+E+F+G}, {A+B+C+D+E+F+G}.

Аспект А

A1 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения высажены, или их семена высеяны, или были высеяны, по меньшей мере в один ряд. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности высажены, или их семена высеяны, или были высеяны, по меньшей мере в один ряд. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности высажены, или их семена высеяны, или были высеяны, по меньшей мере в один ряд. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности высажены, или их семена высеяны, или были высеяны, по меньшей мере в один ряд. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности высажены, или их семена высеяны, или были высеяны, по меньшей мере, в один ряд, примыкающий или находящийся по обе стороны от (т.е., смежный), по меньшей мере, одного ряда растений или семян второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности высажены, или их семена высеяны, или были высеяны, по меньшей мере, в один ряд, примыкающий или находящийся по обе стороны от растений или семян второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности высажены, или их семена высеяны, или были высеяны таким образом, что посадки примыкали или находились по обе стороны от, по меньшей мере, одного ряда растений или семян второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности.

A2 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения высажены, или их

разновидности составляет (максимально) 3, например, в диапазоне от 2 до 3. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, количество параллельных рядов первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности составляет (максимально) 2. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, количество параллельных рядов первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности составляет (максимально) 1.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, по меньшей мере, один ряд первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности может быть окружен, по меньшей мере одним рядом второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, площадь (которая может или не может быть организована рядами) первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности может быть окружена (со всех или некоторых сторон, например, по бокам с противоположных сторон), по меньшей мере, одним рядом второго растения или растительной популяции, линии, сорта, или разновидности.

Аспект В

В1 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый ряд находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый параллельный ряд находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см.

В2 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый ряд первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый параллельный ряд первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см.

В3 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый параллельный ряд второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый параллельный ряд второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см.

В4 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый ряд первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый параллельный ряд первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см.

Следует понимать, что (параллельные) ряды в пределах конкретного растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности могут иметь одинаковое или разное расстояние, и что ряды между разными растениями или растительными популяциями, линиями, сортами или разновидностями могут иметь одинаковое или разное расстояние. В качестве примера и без ограничений, два параллельных ряда растений линии А могут располагаться на расстоянии 0,5 м друг от друга, два параллельных ряда растений линии В могут располагаться на расстоянии 0,75 м друг от друга, и соседний ряд (ряды) растений линий А и растений линии В могут располагаться на расстоянии 1 м друг от друга.

Следует понимать, что в контексте настоящего изобретения, термин "на расстоянии друг от друга" относится к (среднему) расстоянию между соседними рядами.

Аспект С

С1 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый ряд имеет длину максимально 15 м, предпочтительно, в диапазоне от 1 м до 15 м, например, от 1 м до 14 м, от 1 м до 13 м, от 1 м до 12 м, от 1 м до 11 м, от 1 м до 10 м, от 2 м до 15 м, например, от 12 м до 14 м, от 2 м до 13 м, от 2 м до 12 м, от 2 м до 11 м, от 2 м до 10 м, от 3 м до 15 м, например, от 3 м до 14 м, от 3 м до 13 м, от 3 м

линии А может иметь длину 15 м, второй ряд растений линии А может иметь длину 10 м, а ряд растений линии В может иметь длину 12 м.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что обычно ряд является прямым или почти прямым. Однако изогнутые ряды также входят в объем настоящего изобретения.

Аспект D

D1 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом ряду расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом параллельном ряду расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см.

D2 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом ряду расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом параллельном ряду первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см.

D3 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом ряду второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом параллельном ряду второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см.

D4 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом ряду первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения (или семена) в каждом параллельном ряду первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности расположены на расстоянии друг от друга в диапазоне от 1 до 50 см, например, от 1 до 40 см, от 1 до 30 см, от 1 до 20 см, от 1 до 10 см, от 5 до 50 см, от 5 до 40 см, от 5 до 30 см, от 5 до 20 см, от 5 до 10 см, от 10 до 50 см, от 10 до 40 см, от 10 до 30 см, от 10 до 20 см, от 20 до 50 см, от 20 до 40 см, от 20 до 30 см, от 30 до 50 см, от 30 до 40 см или от 40 до 50 см.

Следует понимать, что (параллельные) ряды в пределах конкретного растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности могут иметь одинаковое или разное (среднее) расстояние между растениями в пределах ряда, и что ряды между разными растениями или растительными популяциями, линиями, сортами или разновидностями могут иметь одинаковое или разное (среднее) расстояние в пределах ряда. В качестве примера и без ограничений, в ряду растений линии А отдельные растения могут быть (в среднем) расположены на расстоянии 20 см друг от друга, в другом ряду растений линии А отдельные растения могут быть (в среднем) расположены на расстоянии 30 см друг от друга, а в ряду растений линии В отдельные растения могут быть расположены (в среднем) на расстоянии 15 см друг от друга.

Следует понимать, что в контексте настоящего изобретения, термин "на расстоянии друг от друга" относится к (среднему) расстоянию между растениями (или семенами) в пределах ряда.

Аспект E

E1 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, плотность посадки растений (в каждом ряду или на площади) находится в диапазоне от 10 до 500 растений/м², например, от 10 до 400 растений/м², от 10 до 300 растений/м², от 10 до 200 растений/м², от 10 до 100 растений/м², от 50 до

ний, от 300 до 800 растений, от 300 до 600 растений, от 500 до 1000 растений, от 500 до 800 растений или от 700 до 1000 растений.

G3 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, количество растений (в целом или в каждом (параллельном) ряду или на площади) второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности варьируется в диапазоне от 10 до 1000 растений, например, от 10 до 800 растений, от 10 до 600 растений, от 10 до 400 растений, от 10 до 200 растений, от 50 до 1000 растений, от 50 до 800 растений, от 50 до 600 растений, от 50 до 400 растений, от 50 до 200 растений, от 100 до 1000 растений, от 100 до 800 растений, от 100 до 600 растений, от 100 до 400 растений, от 300 до 1000 растений, от 300 до 800 растений, от 300 до 600 растений, от 500 до 1000 растений, от 500 до 800 растений или от 700 до 1000 растений.

G4 В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, количество растений (в целом или в каждом (параллельном) ряду или на площади) первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности варьируется в диапазоне от 10 до 1000 растений, например, от 10 до 800 растений, от 10 до 600 растений, от 10 до 400 растений, от 10 до 200 растений, от 50 до 1000 растений, от 50 до 800 растений, от 50 до 600 растений, от 50 до 400 растений, от 50 до 200 растений, от 100 до 1000 растений, от 100 до 800 растений, от 100 до 600 растений, от 100 до 400 растений, от 300 до 1000 растений, от 300 до 800 растений, от 300 до 600 растений, от 500 до 1000 растений, от 500 до 800 растений или от 700 до 1000 растений.

Следует понимать, что (параллельные) ряды или площади в пределах конкретного растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности могут иметь одинаковое или разное количество растений в пределах (параллельного) ряда или площади, и что (параллельные) ряды или площади между разными растениями или растительными популяциями, линиями, сортами или разновидностями могут иметь одинаковое или разное количество растений в пределах (параллельного) ряда или площади. В качестве примера и без ограничений, в ряду или на площади линии растений А количество растений может составлять 500 растений, в другом ряду или на площади линии растений А количество растений может составлять 300 растений, а в ряду или на площади линии растений В количество растений может составлять 800 растений.

Комбинация признаков схемы посадок

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, растения высажены, или их семена высеяны, или были высеяны, по меньшей мере в один (параллельный) ряд, предпочтительно, при этом

а) количество рядов первого и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности варьируется в диапазоне от 2 до 10, предпочтительно, от 2 до 5, более предпочтительно, от 2 до 3; и/или

б) каждый ряд первого и второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга, предпочтительно, в диапазоне от 10 см до 1 м, например, от 10 см до 90 см, от 10 см до 80 см, от 10 см до 70 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см; и/или

в) каждый ряд первого и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности имеет длину максимально 15 м, предпочтительно, в диапазоне от 1 м до 15 м, например, от 1 м до 10 м, от 1 м до 5 м, от 2 м до 15 м, от 2 м до 10 м, от 2 м до 5 м, от 5 м до 15 м или от 5 м до 10 м; и/или

д) растения (или семена) в каждом ряду первого и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности расположены на расстоянии друг от друга от 1 до 50 см, например, от 1 см до 40 см, от 1 см до 30 см, от 1 см до 20 см, от 1 см до 10 см, от 5 см до 50 см, от 5 см до 40 см, от 5 см до 30 см, от 5 см до 20 см, от 10 см до 50 см, от 10 см до 40 см, от 10 см до 30 см или от 10 см до 20 см; и/или

е) плотность посадки растений в каждом ряду или на площади первого и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится в диапазоне от 10 до 500 растений/м², например, от 100 до 500 растений/м², от 200 до 500 растений/м², от 300 до 500 растений/м², или от 400 до 500 растений/м²; и/или

ф) плотность посадки растений в каждом ряду первого и/или второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности находится в диапазоне от 2 до 100 растений/м, предпочтительно, от 5 до 100 растений/м, например, от 10 до 100 растений/м, от 30 до 100 растений/м, от 50 до 100 растений/м или от 70 до 100 растений/м; и/или

г) количество растений (в целом или в каждом (параллельном) ряду или на площади первого и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности) находится в диапазоне от 10 до 1000 растений, предпочтительно, от 50 до 1000, например, от 100 до 1000, от 300 до 1000, от 500 до 1000 или от 700 до 1000.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, схемы посадки сочетают в себе любой, по меньшей мере, один из признаков {a}, {b}, {c}, {d}, {e}, {f}, {g}, {a+b}, {a+c}, {a+d}, {a+e}, {a+f}, {a+g}, {b+c}, {b+d}, {b+e}, {b+f}, {b+g}, {c+d}, {c+e}, {c+f}, {c+g}, {d+e}, {d+f}, {d+g}, {e+f},

{e+g}, {f+g}, {a+b+c}, {a+b+d}, {a+b+e}, {a+b+f}, {a+b+g}, {a+c+d}, {a+c+e}, {a+c+f}, {a+c+g}, {a+d+e}, {a+d+f}, {a+d+g}, {a+e+f}, {a+e+g}, {a+f+g}, {b+c+d}, {b+c+e}, {b+c+f}, {b+c+g}, {b+d+e}, {b+d+f}, {b+d+g}, {b+e+f}, {b+e+g}, {b+f+g}, {c+d+e}, {c+d+f}, {c+d+g}, {c+e+f}, {c+e+g}, {c+f+g}, {d+e+f}, {d+e+g}, {d+f+g}, {e+f+g}, {a+b+c+d}, {a+b+c+e}, {a+b+c+f}, {a+b+c+g}, {a+b+d+e}, {a+b+d+f}, {a+b+d+g}, {a+b+e+f}, {a+b+e+g}, {a+b+f+g}, {a+c+d+e}, {a+c+d+f}, {a+c+d+g}, {a+c+e+f}, {a+c+e+g}, {a+c+f+g}, {a+d+e+f}, {a+d+e+g}, {a+d+f+g}, {a+e+f+g}, {b+c+d+e}, {b+c+d+f}, {b+c+d+g}, {b+c+e+f}, {b+c+e+g}, {b+c+f+g}, {b+d+e+f}, {b+d+e+g}, {b+d+f+g}, {b+e+f+g}, {c+d+e+f}, {c+d+e+g}, {c+d+f+g}, {c+e+f+g}, {d+e+f+g}, {a+b+c+d+e}, {a+b+c+d+f}, {a+b+c+d+g}, {a+b+c+e+f}, {a+b+c+e+g}, {a+b+c+f+g}, {a+b+d+e+f}, {a+b+d+e+g}, {a+b+d+f+g}, {a+b+e+f+g}, {a+c+d+e+f}, {a+c+d+e+g}, {a+c+d+f+g}, {a+c+e+f+g}, {a+d+e+f+g}, {b+c+d+e+f}, {b+c+d+e+g}, {b+c+d+f+g}, {b+c+e+f+g}, {b+d+e+f+g}, {c+d+e+f+g}, {a+b+c+d+e+f}, {a+b+c+d+e+g}, {a+b+c+d+f+g}, {a+b+c+e+f+g}, {a+b+d+e+f+g}, {a+c+d+e+f+g}, {b+c+d+e+f+g}, {a+b+c+d+e+f+g}.

Аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения дополнительно подтверждаются следующими неограничивающими примерами. Следующие примеры, включая проведенные эксперименты и достигнутые результаты, приведены только в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1: Производство гибридных семян 697 уникальных гибридов яровой пшеницы было получено с использованием следующей процедуры. Линии были посажены в ряды с помощью 6-рядной сеялки Hege, при этом среди 6-метровых рядов в два ряда в центре были посажены женские растения, несущие мужскую стерильность, а в два ряда с обеих сторон были посажены мужские растения (см. фиг. 2B).

Мужские линии представляли собой смесь селекционных линий компании KWS, австралийских селекционных линий и широкой коллекции зародышевой плазмы яровой пшеницы, полученной в результате различных обменов зародышевой плазмой на протяжении многих лет.

Женские линии, несущие мужскую стерильность, представляли собой селекционные линии компании KWS и австралийские селекционные линии, причем все они были преобразованы в гомозиготные для генетической делеции в области хромосомы 4B, где расположен ген Ms1.

В основе гибридов лежали родительские линии из разных стран мира, следовательно, у них была широко распространена экстрезия пыльников (измеряемая по шкале 0-3, где 0 = пыльники были не полностью экструированы и 3 = все пыльники были полностью экструированы), а также широкий диапазон дат цветения с положительными числами, показывающими количество дней цветения у мужских линий после цветения женских линий, и дат с отрицательными числами, показывающие количество дней цветения у мужских линий до цветения женских линий.

На фиг. 3 и 4 показан набор семян в килограммах, собранных с 6 м двойных рядов женских растений, в зависимости от экстрезии пыльников используемых мужских растений и разницы по срокам колошения между мужскими растениями и женскими растениями. На фиг. 3, в частности, показано, что даже экстрезия пыльников на более низком уровне (0,5-1) может привести к высокому уровню урожая. Также на фиг. 4 показано, что даже когда мужские растения и женские растения цветут в разные дни (периоды), можно достичь удовлетворительного урожая. Становится ясно, что между любыми из этих признаков нет никакой корреляции. Это можно объяснить обилием мужских растений, по сравнению с женскими растениями (соотношение 2:1), непосредственной близостью и расстоянием рядов посадок, которые способствуют кущению и, следовательно, продлению времени, в течение которого как мужские, так и женские растения имеют активные цветущие прицветники. Этого можно с успехом достичь путем использования схемы селекции, как, например, показано на фиг. 2B, и использования мужских стерильных тестеров (которые могут быть выбраны либо из мужского пула, либо из женского пула, как, например, показано на фиг. 1C и 1D).

На фиг. 5 показано количество собранного зерна (в граммах) в зависимости от разницы во времени колошения (в днях) между женским родительским растением и мужским родительским растением. Хорошая продуктивность семян получается даже тогда, когда цветение не было полностью синхронизировано.

На фиг. 6 показано количество собранного зерна (в граммах) в зависимости от уровня экстрезии пыльников у родительского мужского растения.

На фиг. 7 показано количество собранного зерна (в граммах) в зависимости от разницы в высоте растения (в см) между женским родительским растением и мужским родительским растением.

Результаты, приведенные на фиг. 5-7, показывают, что гибридные семена, полученные в результате анализирующего скрещивания, могут быть получены благодаря комбинациям, в которых мужские и женские растения отличаются по срокам колошения, экстрезии пыльников и высоте растения. Хотя хорошая экстрезия пыльников обеспечивает более высокую всхожесть семян, но и даже очень плохая экстрезия пыльников приводит к образованию семян. Эти результаты также указывают на то, что даже при больших (>2 дней) различиях во времени цветения и при низком уровне экстрезии пыльников, все же возможно получить пригодное для анализа количество семян F1. В заключение можно сказать, что хорошая продуктивность семян наблюдается даже тогда, когда цветение не было полностью синхронизи-

ровано.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ оценки анализирующих скрещиваний гибридов растений или оценки комбинационной способности, или гетерозиса конкретного растения или в конкретном растении, или в растительной популяции, линии, сорте, разновидности, или в комбинации родительских растений рода *Triticum*, содержащий предоставление гибридного растения или его части, или растительной популяции, полученной путем скрещивания упомянутого конкретного растения в качестве первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности с другим растением или растительной популяцией, линией, сортом или разновидностью в качестве второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, отличающийся тем, что упомянутое первое или второе растение представляет собой генетически мужское стерильное растение, полученное путем отбора не голубых семян, полученных из смеси семян, собранных с самооплодотворенного растения с делецией гена *ms1*, имеющего чужеродную дополнительную хромосому, содержащую ген-восстановитель и ген *BLA*, и при этом упомянутое другое растение представляет собой мужское фертильное растение, или при этом упомянутое первое или второе растение представляет собой растение с делецией гена *ms1*, имеющее чужеродную дополнительную хромосому, содержащую ген-восстановитель и ген *BLA*, и при этом упомянутое другое растение представляет собой генетически мужское стерильное растение;

определение, по меньшей мере, одной характеристики, или признака упомянутого гибридного растения, или растительной популяции для оценки анализирующего скрещивания гибридов растений или для определения комбинационной способности, или гетерозиса упомянутого конкретного растения, или комбинации родительских растений.

2. Способ по п.1, в котором упомянутое гибридное растение получают в результате скрещивания, при котором семена, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, или посадочные растения, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности были высеяны, по меньшей мере, в один параллельный ряд; и при котором высажены семена, по меньшей мере, одного второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, или посадочные растения, по меньшей мере, одного второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, по меньшей мере, в один параллельный ряд, примыкающий или находящийся по обе стороны от упомянутого, по меньшей мере, одного параллельного ряда упомянутого, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности.

3. Способ высева семян или посадки растений, содержащий

высев семян, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности рода *Triticum* или посадку растений, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности рода *Triticum*, по меньшей мере, в один параллельный ряд;

высев семян, по меньшей мере, одного второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности рода *Triticum* или посадку растений, по меньшей мере, одного второго растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности рода *Triticum*, по меньшей мере, в один параллельный ряд, примыкающий или находящийся по обе стороны от упомянутого, по меньшей мере, одного параллельного ряда упомянутого, по меньшей мере, одного первого растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности,

отличающийся тем, что упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт, или разновидность представляет собой генетически мужское стерильное растение или растительную популяцию, линию, сорт, или разновидность, полученную путем отбора не голубых семян, полученных из смеси семян, собранных с самооплодотворенного растения с делецией гена *ms1*, имеющего чужеродную дополнительную хромосому, содержащую ген-восстановитель и ген *BLA*, или при этом упомянутое первое или второе растение представляет собой растение с делецией гена *ms1*, имеющее чужеродную дополнительную хромосому, содержащую ген-восстановитель и ген *BLA*, и при этом упомянутое другое растение представляет собой генетически мужское стерильное растение.

4. Способ по п.2 или 3, отличающийся тем, что упомянутый, по меньшей мере, один ряд упомянутого, по меньшей мере, одного первого и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта, или разновидности составляет максимально 5 рядов.

5. Способ по любому из пп.2-4, отличающийся тем, что каждый из упомянутых рядов находится на расстоянии максимально 1 м друг от друга.

6. Способ по любому из пп.2-5, отличающийся тем, что длина каждого из упомянутых рядов составляет максимально 15 м.

7. Способ по любому из пп.2-6, отличающийся тем, что отдельные растения в пределах ряда находятся на расстоянии 1-50 см друг от друга.

8. Способ по любому из пп.2-7, отличающийся тем, что плотность посадки упомянутого первого

и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности составляет от 10 до 500 растений/м².

9. Способ по любому из пп.2-8, отличающийся тем, что количество отдельных растений упомянутого, по меньшей мере, одного первого и/или второго растения, или растительной популяции, линии, сорта или разновидности составляет от 10 до 1000.

10. Способ по любому из пп.1-9, отличающийся тем, что упомянутое первое или второе растение, или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой тестер.

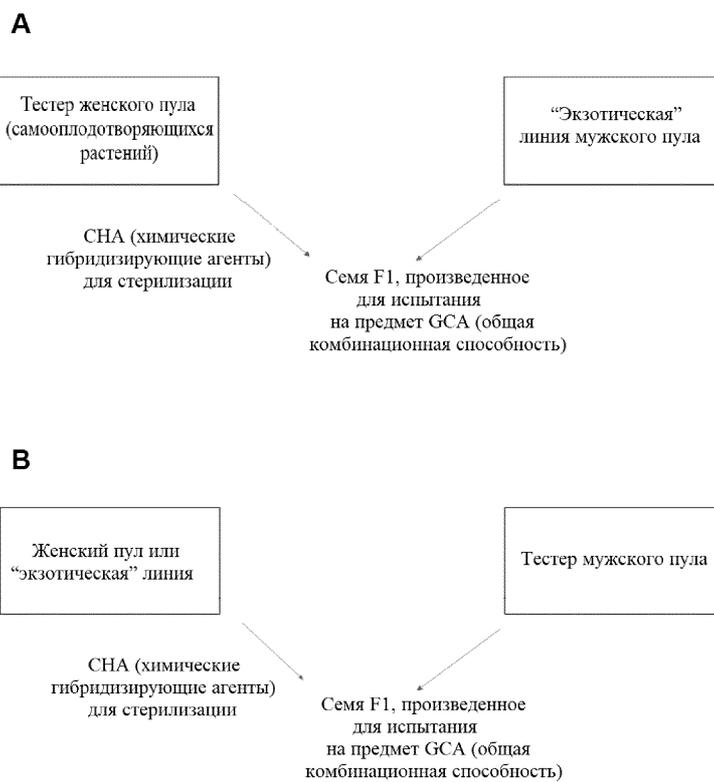
11. Способ по любому из пп.1-10, отличающийся тем, что упомянутое первое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность представляет собой мужское стерильное растение, или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность, отобранную из растений или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в мужском пуле растений или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях.

12. Способ по п.11, отличающийся тем, что упомянутое второе растение, или растительную популяцию, линию, сорт или разновидность отбирают из растений, или растительных популяций, линий, сортов или разновидностей в женском пуле растений, или в растительных популяциях, линиях, сортах или разновидностях.

13. Способ по любому из пп.1-12, отличающийся тем, что он не включает применение химического гибридизирующего агента и/или применение цитоплазматической мужской стерильности.

14. Способ по любому из пп.1-13, отличающийся тем, что упомянутое (генетически) мужское стерильное растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность содержит мутацию в гене *ms1* и/или *ms5*.

15. Применение генетически мужского стерильного растения или растительной популяции, линии, сорта или разновидности, или рода *Triticum* для оценки гетерозиса или общей/специфической комбинационной способности, или для анализирующего скрещивания гибридов растений, отличающееся тем, что упомянутое растение или растительная популяция, линия, сорт или разновидность посажена или высеяна, как определено по любому из пп.2-14.



Фиг. 1

C

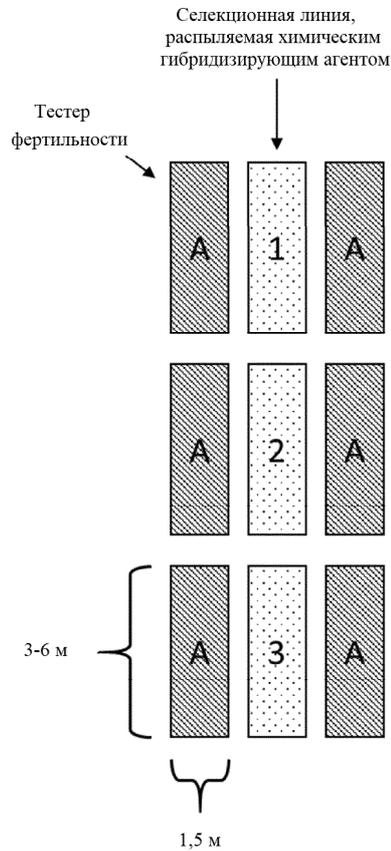


D

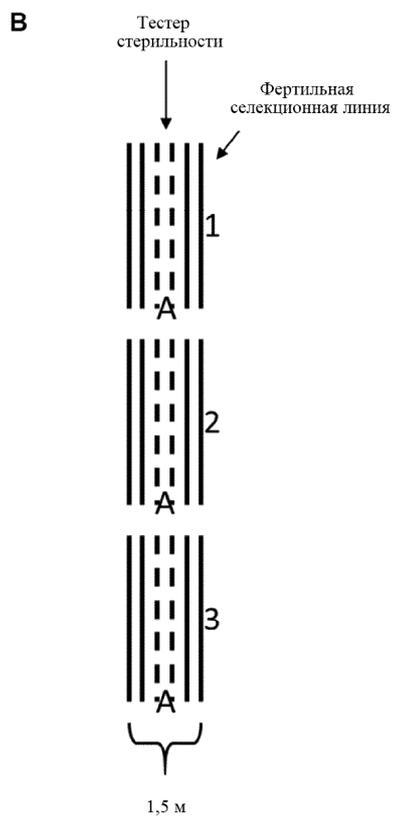


Фиг. 1 (продолжение)

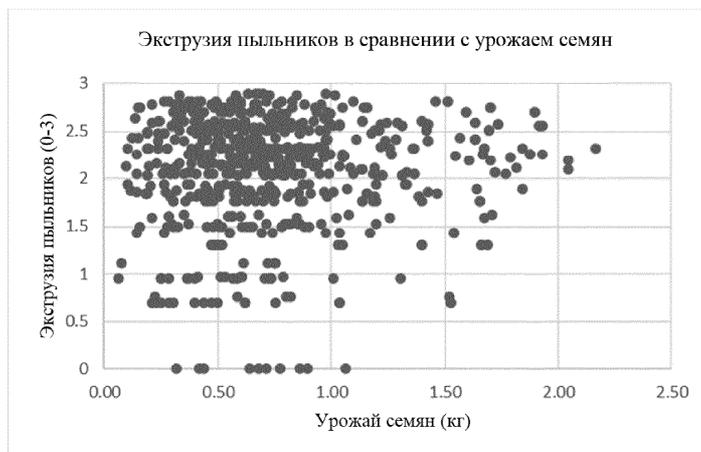
A



Фиг. 2



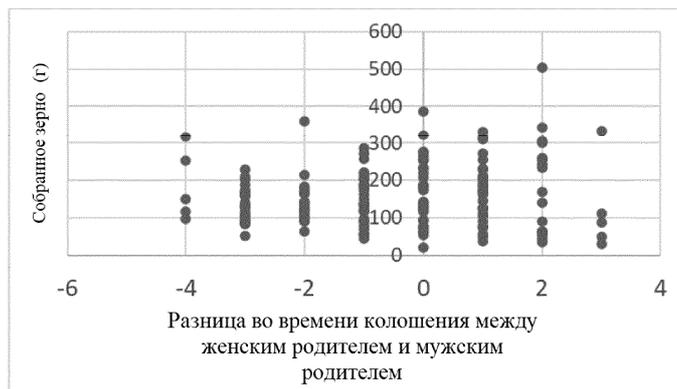
Фиг. 2 (продолжение)



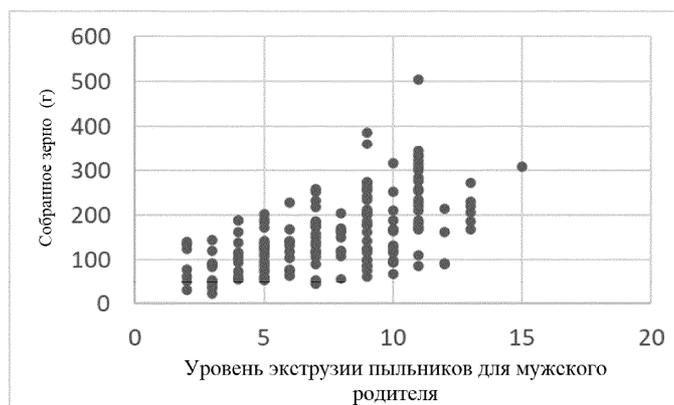
Фиг. 3



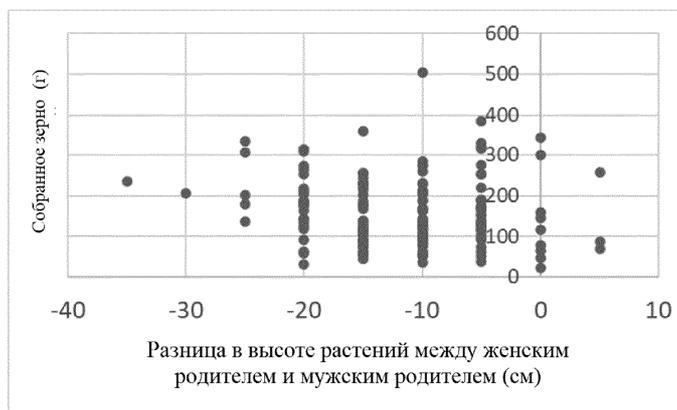
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7

