



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) A4 (11) 25207  
(51) A01H 1/00 (2010.01)

КОМИТЕТ ПО ПРАВАМ  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ИННОВАЦИОННОМУ ПАТЕНТУ

(21) 2011/0439.1

(22) 22.04.2011

(45) 20.12.2011, бюл. № 12

(72) Хайленко Нина Александровна; Алтаева  
Назира Алтайқызы

(73) Республиканское государственное предприятие  
на праве хозяйственного ведения "Институт  
биологии и биотехнологии растений" Комитета  
науки Министерства образования и науки  
Республики Казахстан

(74) Алчимбаева Раушан Темирхановна; Бавлакова  
Анна Вячеславовна

(56) RU 2370948 C1, кл. A01H 1/04, 2009

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И ОТБОРА  
СТЕРИЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ В ПОЛЕВЫХ  
УСЛОВИЯХ

(57) Изобретение относится к биотехнологии и  
генетике, в частности к способам получения  
стерильных растений.

Достижимый результат - снижение трудозатрат.

Для этого в способе получения и отбора  
стерильных растений в полевых условиях  
скрещивают дикорастущие злаки, несущие гены  
хозяйственно - ценных признаков, с культурными  
видами или сортами пшеницы, производят отбор  
стерильных генотипов с высокими показателями  
структуры урожая, скрещивают стерильные формы  
с помощью изоляции стерильных колосьев  
индивидуальными изоляторами и последующим их  
опылением отцовским сортом пшеницы для  
получения второго поколения ( $F_2$ ) и  $BC_1$ .

Часть колосьев оставляют на свободное  
опыление, а часть закрывают на самоопыление.

Осуществляют отбор и сохранение генотипов с  
признаком цитоплазматической мужской  
стерильности по маркерным признакам «ласточкин  
хвост» и «прозрачный колос» и закрепляют  
стерильность.

(19) KZ (13) A4 (11) 25207

Изобретение относится к биотехнологии и генетике, в частности к способам получения стерильных растений.

Известен способ получения растений с цитоплазмической мужской стерильностью, включающий обработку частей растений водным раствором стрептомицина в течение 24 часов, выращивание из них зрелых растений и отборе среди них мужских стерильных форм. В качестве частей растений для обработки используют морфогенные каллусные культуры мужских фертильных растений, с последующим получением из них растений-регенерантов, при этом концентрация стрептомицина составляет 0,5-1,0 мг/мл (заявка РФ на изобретение № 95101713, кл. А01Н 1/06, 1996).

Использование лекарственного препарата стрептомицина может негативно отразиться на генетических параметрах растения.

Известен способ получения и отбора генетически чистых семян материнской формы на принципе временной изоляции посевов в фазу их цветения от переопыления с другими формами, включающий посев семян в ранний по отношению к оптимальному для данного региона срок и выращивание растений сначала в защищенных по сравнению с естественными для данного срока условиях, а затем в открытом грунте, при этом осуществляют посев семян стерильного аналога и закрепителя стерильности материнской формы гибрида в наполненные почвой рассадные горшочки, выращивают в них рассаду в отапливаемой теплице до фазы 2-х пар настоящих листьев, а затем ее высаживают в открытый грунт по схеме 6:2, где 6 рядов стерильного аналога чередуются с 2 рядами закрепителя стерильности, и выращивают в естественных условиях. Выращивают рассаду в теплице при температуре 25-35°C. Перед высадкой рассады в открытый грунт ее предварительно закаляют, постепенно снижая температуру и влажность воздуха в теплице. Непосредственно при высадке рассады в открытый грунт проводят легкий полив растений (патент РФ № 2370948, кл. А01Н 1/04, 2009).

Недостатком данного способа является его значительная трудоемкость, так как необходимо сначала вырастить рассаду в горшочках, а затем пересаживать ее в открытый грунт.

Задачей изобретения является разработка способа получения и отбора стерильных растений злаковых культур.

Достижимый результат - снижение трудозатрат.

Для этого в способе получения и отбора стерильных растений в полевых условиях скрещивают дикорастущие злаки, несущие гены хозяйственно - ценных признаков, с культурными видами или сортами пшеницы, производят отбор стерильных генотипов с высокими показателями структуры урожая, скрещивают стерильные формы с помощью изоляции стерильных колосьев индивидуальными изоляторами и последующим их опылением отцовским сортом пшеницы для получения второго поколения ( $F_2$ ) и  $BC_1$ .

Часть колосьев оставляют на свободное опыление, а часть закрывают на самоопыление.

Осуществляют отбор и сохранение генотипов с признаком цитоплазмической мужской стерильности по маркерным признакам «ласточкин хвост» и «прозрачный колос» и закрепляют стерильность.

Изобретение поясняется рисунками, где на фиг. 1 представлено изображение пыльников в форме «ласточкин хвост» у гибридного растения  $F_1$ ; комбинации *T. kiharae* Dorof . et Migusch . x Саратовская - 29; на фиг. 2 - маркерный признак цитоплазмической мужской стерильности «ласточкин хвост» у стерильных растений  $F_1$  комбинации *T. kiharae* Dorof . et Migusch . x Ленинградка; на фиг. 3 - маркерный признак «прозрачный колос» у гибридного растения  $F_1$  комбинации *T. kiharae* Dorof et Migusch . x Ленинградка; на фиг. 4 - «прозрачный колос» у растения, полученного из 30 - суточного зародыша вида *T. kiharae* Dorof . et Migusch .

Способ осуществляют следующим образом.

Скрещивают дикорастущие злаки, несущие гены хозяйственно-ценных признаков, в частности, признака цитоплазмической мужской стерильности, с культурными видами или сортами пшеницы, затем производят поиск в популяциях гибридов  $F_1 - F_n$  генотипов с высокими показателями по структуре урожая. Отбирают стерильные генотипы с высокими показателями структуры урожая.

Скрещивают фертильные формы с помощью кастрации и принудительного опыления под индивидуальными пергаментными изоляторами с тем же отцовским сортом пшеницы для получения  $F_2, BC_1, F_n$ . Часть колосьев оставляют на свободное опыление, а часть колосьев закрывают индивидуальными пергаментными изоляторами и оставляют на самоопыление, с тем, чтобы можно было получить как можно большее количество расщепляющихся форм, а также, возможно, и форм - восстановителей фертильности. Производят отбор и изучение форм-восстановителей фертильности среди фертильных и стерильных аналогов  $F_2 - F_n$ ;

Осуществляют получение и отбор стерильных растений  $F_4$  и  $BC_3$  у стерильных форм, создают стерильные аналоги районированных сортов яровой пшеницы  $BC_1 - BC_8 - BC_n$ ;

Получают и отбирают гибридные растения - восстановители фертильности из  $F_3$  и  $BC_2$  у фертильных форм. Часть колосьев снова оставляют на свободное опыление и часть - на самоопыление;

Производят получение и отбор полуфертильных и стерильных  $F_3$  и  $BC_2$  у фертильных форм. Часть колосьев оставляют на свободное опыление и часть на самоопыление.

Создают коллекции аллоплазматических, беккроссированных и гибридных линий пшеницы  $F_1-F_n, BC_1 - BC_n$ , с тем, чтобы пополнять линии-стерильные аналоги и линии-восстановители фертильности; получают и отбирают гибридные растения  $F_4$  и  $BC_3$  у фертильных форм. Часть колосьев оставляют на свободное опыление и часть - на самоопыление, получают и отбирают  $F_4$  и  $BC_3$  у

полуфертильных форм. Отбирают стерильные формы из популяции полуфертильных растений.

Проводят предварительные скрещивания стерильный аналог - восстановитель фертильности, для изучения комбинационной способности генотипов растений, взятых для эксперимента; отбирают и изучают формы, восстановившие фертильность.

Отбирают и размножают стерильные аналоги в производственных масштабах, отбирают и размножают линии-восстановители фертильности в производственных масштабах.

Обеспечивают производство гибридной пшеницы в промышленных масштабах.

Скрещивание дикорастущих и культурных форм проводят по общепринятым методам с некоторыми модификациями. Кастрируют и опыляют по 5-10 колосьев каждой комбинации. Цветки кастрируют, осторожно раздвигая цветочные чешуи, с помощью пинцета удаляют незрелые зеленые пыльники на колосьях, вышедших на 2/3 из влагалища листьев. После кастрации на колос надевают пергаментный изолятор. Колосья стерильных растений всех гибридных поколений опыляют без кастрации. Для этого на большую часть колосьев надевают индивидуальные пергаментные изоляторы по мере выхода 2/3 колоса из влагалища листа.

Опыляют с помощью твел-метода; с подрезанием или без подрезания чешуи колосьев материнских сортов. Опыление проводят по мере созревания рылец в цветках, 2-3 раза, в течение 10-15 дней. Перед опылением проверяют фертильность пыльников и их способность к выбросу пыльцы, и фертильность пыльцы в цветках гибридных фертильных, гибридных полуфертильных и гибридных стерильных растений.

Фертильность пыльников и их способность к выбросу пыльцы у фертильных, полуфертильных и стерильных растений определяют визуально в момент интенсивного цветения свободно стоящих колосьев и в колосьях под индивидуальными пергаментными изоляторами. Маркерными признаками проявления мужской стерильности и цитоплазмической мужской стерильности являются признаки «ласточкин хвост» и «прозрачный колос». Если пыльники имеют форму «ласточкин хвост» (фиг. 1, 2), а растения имеют «прозрачный колос» (фиг. 3, 4), то пыльцевые зерна в них на 98% являются стерильными, а растения с такими признаками обладают цитоплазмической мужской стерильностью и дальнейшая работа с ними должна идти по пути обнаружения линий-закрепителей стерильности, среди сортов, видов, гибридов пшеницы и эгилопсов, с тем, чтобы в конечном итоге создать стерильный аналог районированного сорта. У фертильных растений изучают интенсивность цветения и количество выбрасываемой в воздух при цветении пыльцы, с

тем, чтобы найти восстановители фертильности для стерильных аналогов.

Фертильность пыльцы у фертильных, полуфертильных и стерильных растений определяют ацетокарминовым методом (Хайленко Н.А. Генетические основы создания форм пшеницы методами отдаленной гибридизации и эмбриокультуры, их изучение в свете теории эпигенеза// Госрегистрация № 0109РК00296, Алматы, 2010, с. 73), при этом учитывают размеры и степень окраски пыльцевых зерен и их расположение в пыльниках, морфологическую структуру пыльцы.

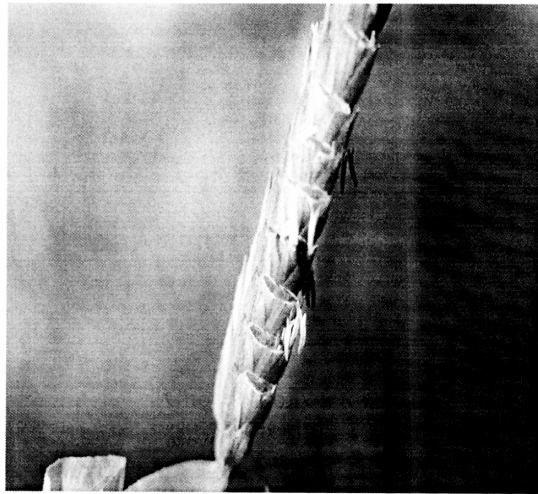
Структурный анализ элементов урожая проводят с помощью общепринятых генетико-статистических методов. После уборки урожая проводят разборку снопового материала, как родительских форм (контроль), так и гибридных популяций, семей и отдельных линий. Учитывают следующие показатели: высоту растений; продуктивную кустистость; длину главного колоса; количество колосков, цветков и зерен в главном колосе; количество колосков, цветков и зерен в колосьях, закрытых на самоопыление и аналогичные показатели в колосьях, закрытых на принудительное опыление (при получении беккроссов). Все показатели после разборки обрабатывают статистически по Удольской (Удольская Н.Л. Введение в вариационную статистику - Алма-Ата: Наука, 1976, с. 87) и Рокицкому (Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика - Минск: Вышайшая школа, 1974, с. 328). Семьи и растения, показавшие высокий уровень структуры урожая отбирают и исследуют на признаки МС и ЦМС и на признак восстановления фертильности.

## **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ получения и отбора стерильных растений в полевых условиях, *отличающийся* тем, что скрещивают дикорастущие злаки, несущие гены хозяйственно-ценных признаков, с культурными видами или сортами пшеницы, производят отбор стерильных генотипов с высокими показателями структуры урожая, скрещивают стерильные формы с помощью изоляции стерильных колосьев индивидуальными изоляторами и последующим их опылением отцовским сортом пшеницы для получения второго поколения ( $F_2$ ) и  $BC_1$

2. Способ по п. 1, *отличающийся* тем, что часть колосьев оставляют на свободное опыление, а часть закрывают на самоопыление.

3. Способ по п.п. 1 или 2, *отличающийся* тем, что осуществляют отбор и сохранение генотипов с признаком цитоплазматической мужской стерильности по маркерным признакам «ласточкин хвост» и «прозрачный колос» и закрепляют стерильность.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

Верстка Уваева Г.С.  
Корректор Мадеева П.А.