



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103118532 A

(43) 申请公布日 2013. 05. 22

(21) 申请号 201180045091. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011. 09. 16

A01H 1/04 (2006. 01)

(30) 优先权数据

B07C 5/34 (2006. 01)

1015791. 5 2010. 09. 20 GB

G01N 21/35 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013. 03. 20

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2011/066136 2011. 09. 16

(87) PCT申请的公布数据

W02012/038350 EN 2012. 03. 29

(71) 申请人 辛根塔有限公司

地址 英国萨里郡

申请人 先正达参股股份有限公司

(72) 发明人 J · C · B · 本斯雷 – 布罗米洛

R · F · 布伦斯 B · A · 马丁

K · 纽弗

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 刘晓东

权利要求书2页 说明书11页

(54) 发明名称

用于获得实质上纯的杂种谷类种子的改进的
方法及用于其的机器

(57) 摘要

本发明涉及用于获得实质上纯的杂种谷类种子的方法及用于其的机器。具体地本发明描述了用于基于通过使用近红外光可检测出的差异, 从近交大麦种子以及杂种大麦种子的混合群体中分离出杂种大麦种子的方法。

1. 一种用于将近交种子从近交与杂种种子的混合群体中分离出的方法,该方法包括:
(a) 提供一个近交与杂种种子的混合群体;并且 (b) 将所述种子经受一个设备,该设备将所述混合群体分为 (i) 一个实质上是近交种子的群体以及 (ii) 一个实质上是杂种种子的群体,其特征在于所述种子是谷类种子并且所述设备基于通过使用近红外光可检测出的差异来分离所述近交种子。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述设备将该种子分离为使得所得到的分离出的实质上是杂种种子的群体包含不超过大约 5% 的近交种子。

3. 根据权利要求 1 或权利要求 2 所述的方法,其中所述谷类种子是大麦。

4. 根据权利要求 1 或权利要求 2 所述的方法,其中所述种子是小麦。

5. 根据前述权利要求的任一项所述的方法,其中所述设备利用一种算法来区分所述近交与所述杂种种子的近红外光谱数据,它然后允许该种子基于所述光谱数据进行分选。

6. 根据前述权利要求的任一项所述的方法,其中所述设备包括:

(a) 一个用于在该混合群体之内对每个种子进行取样的装置;以及

(b) 一个用于获得每个种子的近红外光谱数据的装置;以及

(c) 一个用于基于所述光谱数据识别每个种子为近交或杂种种子的装置;以及

(d) 一个用于基于所述数据分离每个种子的装置;以及

(e) 一个用于收集由此分离的种子的装置。

7. 根据前述权利要求的任一项所述的方法,其中所述差异是一种基因型差异。

8. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述差异与该种子中的一种以下化合物的量相关,这些化合物选自:葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖、阿拉伯糖或其组合。

9. 一种获得实质上纯的 F_1 杂种种子以及实质上纯的近交种子的方法,所述方法包括:

(a) 将一个亲本植物的群体套种在一个大田中,其中所述群体包含雄性和雌性亲本,其中所述雌性至少是部分雄性不育的;并且

(b) 提供所述雄性的自花受精以及所述雌性的异花受精;并且

(c) 收获该得到的受精种子;并且

(d) 基于所述杂种与所述近交种子之间的差异分离所述种子以获得 (i) F_1 杂种种子以及 (ii) 近交种子,其特征在于所述植物是一种谷类植物,所述植物是以提供实质上所述雌性植物的大部分的传粉的比率套种的并且其中所述种子基于通过使用近红外光可检测出的差异来进行分离。

10. 根据权利要求 9 所述的方法,其中所述比率提供了所述雌性植株的实质上大部分授粉,同时使得自花受精的雄性植株的数量最小化,由此使得所述大田的总种子产量内的杂种种子产量最大化。

11. 根据权利要求 9 或 10 所述的方法,其中所述比率提供了用于达到所述雌性植株实质上大部分授粉所要求的最小数量的雄性植株,由此使得所述大田的总种子产量内的杂种种子产量最大化。

12. 根据权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中所述雌性亲本是完全雄性不育的。

13. 根据权利要求 9 至 12 中任一项所述的方法,其中所述比率提供了所述雌性植株至少大约 95% 的授粉。

14. 一种用于收获并分离实质上纯的 F_1 杂种谷类种子以及实质上纯的近交谷类种子的收获机,该收获机包括一个用于从成熟的谷类植物上收获谷类种子的装置以及用于一个基于所述杂种与所述近交之间的差异分离所述种子的装置,以获得 (i) F_1 杂种谷类种子以及 (ii) 近交谷类种子,其中所述种子基于通过使用近红外光可检测出的差异进行分离。

15. 根据权利要求 14 所述的机器,其中所述谷类种子是大麦种子。

16. 一种种子分离设备在杂种谷类种子以及近交谷类种子的分离中的用途,其中所述分离是基于所述杂种与所述近交之间的差异,其中通过近红外光的使用可检测出所述差异。

17. 根据权利要求 16 所述的用途,其中所述谷类种子是大麦种子。

18. 根据权利要求 16 所述的用途,其中所述谷类种子是小麦种子。

用于获得实质上纯的杂种谷类种子的改进的方法及用于其的机器

[0001] 本发明涉及用于生产 F_1 杂种种子的群体并且然后基于所述 F_1 杂种与所述近交种子之间的差异对所述种子进行分选的方法。具体地,这个方法可应用于谷类种子,特别是小麦种子、大麦种子、小黑麦种子以及黑麦种子的分选。

[0002] 谷类作物种植于世界各地的大部分国家并且是蛋白质、碳水化合物、矿物质、维生素、油类以及脂肪的丰富来源。术语谷类典型地包括来自称作禾本科(Poaceae 或 Gramineae)植物的单子叶植物各科的禾本科植物(grass)。其中特别感兴趣的是谷类作物小麦与大麦。

[0003] 小麦是一种关键的全球性粮食作物;它是食物中植物性蛋白质的主要来源且是首要的国际性贸易的粮食作物。小麦谷粒用于生产不同的食品(包括:面包;饼干;干面片;早餐谷类;动物饲料)并且可以将其发酵以用于酿造或用于生物燃料的生产。此外,可以将小麦植株的其他部分用作建筑材料如茅草。出人意料地,全球小麦生产每年增加至少超过1%,但是一些原始资料表明需求每年增长1.5%。随着世界人口的增加,需要形成甚至更加有效的方法以使来自世界的日益有价值且珍贵的土地的输出最大化。

[0004] 大麦是源自大麦(*Hordeum vulgare*)的谷类谷粒。已有报道表明它被种植在全世界的超过100个国家中并且它的谷粒被主要用作一种食物。更确切地说,通常将大麦用于动物饲料中,然而,还将其用于麦芽制造以产生啤酒以及威士忌酒中的关键香味成分。还将大麦用于其他粮食以及其他酒精或非酒精饮料的生产中。

[0005] 很久以前就已经认识到了高产量的杂种植物的益处。杂种品种将经常展示出相对于它们的近交亲本的非常均一的表型。来自这些亲本的组合性状的杂种益处导致增强的抗病性以及活力,它们进而可以转变为增加的产量。杂种还提供了一个简单的育种机会以组合可能很难以其他方式组合的特性或性状,并且通常给予对生长因子如水及肥料更高的回报单位。

[0006] 经由雄性不育的受精产生 F_1 杂种,雌株具有来自供体雄株的花粉。因此,杂种生产的一个关键方面是确保雌株保持能育性的同时阻止自花授粉。在该领域中已知多种用于获得雌性亲本的雄性不育的方法和技术。实例包括:机械去除植株的产生雄花粉的部分,如在玉米中进行的“去雄”。

[0007] 用于商业杂种生产的细胞质雄性不育(CMS)的使用需要稳定的雄性不育细胞质以及花粉源。雄性不育的细胞质-遗传系统需要用于杂种生产的三种类型的系的存在,A系(细胞质雄性不育系)、B系(雄性能育的保持系)以及R系(具有恢复者基因的雄性能育系)。用这个系统产生的杂交包括:三个系的保持与生产;近交的A系与B系,用以增加在最终的杂交生产中使用的、处于A系状态的雌性组分的种子以及包含单个或多个恢复基因的雄性能育的R系,用作最终的杂交生产的雄性组分。

[0008] 还可以通过使用抑制有活力的花粉形成的化学药品来生产杂种种子。使用这些化学药品,称作去雄剂,给予雄性不育的瞬变。

[0009] 可以进一步经由分子生物学技术的使用来产生杂种。一般而言,可以对雌性亲本

进行设计以便于丧失花粉生产能力,从而获得雄性不育。此类技术也已经被广泛报道并且是普通技术人员所熟知的。此类技术的较新的优化包括化学雄性不育系统,该系统基于除草剂草丁膦的无活性的D-对映异构体(D-草丁膦)转变为植物毒性的L-对映异构体(L-草丁膦),该转换定位于花药。无植物毒性的D-草丁膦转变为植物毒性的L-草丁膦,导致花药的高度定位的破坏,由此赋予该植物雄性不育。这种转变受在花药中特异性表达的激活酶(D-氨基酸氧化酶的改良型)的影响。这个系统进一步描述于W02005/005641中。

[0010] 传统杂种种子生产系统的主要缺点在于需要将雄性与雌性亲本系种植在分隔开的行、条或块中。例如,相对于小麦杂种生产,有时候将其称作区-种植系统(bay-planting system)。该区-种植系统的一个区别特征在于将雄性与雌性植株在不同的区中分隔开。雄性区包括雄性传粉者植物并且将其与包括雄性不育的雌性的雌性区完全分隔开。将这些区分隔到这样一种程度以致于整个雌性区可以理论上安全地收获:由于雄性存在于一个分隔开的区中,因此雌性区不包含任何雄性近交种子。存在用于大麦杂种生产的类似的系统,其中这些植物以雄性与雌性条状种植。在这里低效率的传粉是作物物种(如小麦与大麦)中尤其严重的问题,释放出的少量花粉在风力下传播不远并且仅在非常短的时间期内保持活力。在此类作物中,多达两个/三个这样的杂种生产田需要专用的花粉供体雄株并且然后杂交的种子生产因此变得不经济。

[0011] 为了在小麦以及大麦作物中获得更加经济的种子生产,需要将雄性与雌性植株彼此靠近地移动以便于更有效的花粉传递;最有效地,通过在相同的行中将雄性与雌性在彼此几厘米之内进行套种。然而,在这样一种系统中只收获来自(雄性不育)雌性亲本的种子是不实际的。

[0012] 此外,在大麦杂种可以经由套种系统生产的同时,由于收获的种子包含杂种以及近交种,并且在收获的种子内对近交种“污染”的耐受性相当低,因此存在这样做的受限制的实用范围。由于在套种技术之内使用的雄性的数量只能很少以维持存在于经由该技术获得的杂种种子的总体收获之内的近交种子的低百分数的严格限制,套种技术具有的一个问题涉及杂种生产的总体效率。使用的雄性的低数量意味着,考虑到上文提及的低传粉效率,一部分雌性植株将未被传粉并且因此将根本不生产任何谷粒。这影响了对大田总产量并且增加雄性的数量以提高传粉效率将无法克服这一问题,因为这将会增加总产量中近交种子的数量,使得总收获内获得的近交百分数超过该耐受性限制。这代表影响套种杂种系统的效率的显著障碍。此外,需要提供一个系统,由此可以容易地检查杂种种子产量以确保近交种子的百分数在批准限制之内。此外,需要提供一个系统,该系统可以确保收获的杂种种子之内存在的近交种子满足此类限制,必要时,去除任何过量的近交种子以满足官方规定。

[0013] 以经济上可行的方式生产杂种谷类如小麦与大麦依然是一个问题。如在上文所述的,分隔开的区种植/条种植方法是高花费的方法并且花费较低的套种系统在最低限度的低杂种种子产量内依然是不实用的。

[0014] 考虑到这些问题,存在发展用于增加小麦与大麦的产量的方法并且提供一种机械(由此能以商业上可接受的方式收获小麦与大麦)的需要。本发明针对解决目前用于杂种小麦以及杂种大麦,特别是杂种大麦生产的方法中存在的多种问题。此外,随着渐增的世界人口对食物需求的不断增加,仍然存在着对更加有效的方法的需求,这些方法用于生产高质量作物如杂种大麦与小麦并且使有限的可用农业用地的用途最大化,此外还用于减少由杂

种生产中未授粉的雌性植株引起的浪费。

[0015] 根据本发明,提供了用于将近交种子从近交与杂种种子的混合群体中分离出的方法,该方法包括:(a) 提供近交与杂种种子的混合群体;并且(b) 将所述种子置于一个设备中,该设备将所述混合群体其分为(i) 实质上是近交种子的群体以及(ii) 实质上是杂种种子的群体,其特征不在于所述种子是谷类种子并且所述设备基于通过近红外光的使用可检测出的差异来分离所述近交种子。还可以使用根据本发明的方法将杂种种子从近交种子中分离出。本发明方法的净效应是提供已经从其混合群体中分离出的一组近交种子与一组杂种种子。该设备将典型地包含用于在该群体内取样每个种子的装置,这个装置将典型地包括以这样一种方式分离这些种子以使得每个种子个体都可以被取样。所述取样将包括使用近红外光检测每个种子的反射和/或吸光度特征。例如,可以将该种子通过预定义光谱的光进行照明并且测量反射光的光谱特性。对于经由透射的检测,这样放置检测仪以使得它测量通过该种子透射的光,并且因此测量通过该种子透射的光的光谱特性。一旦获得这一数据,当与该设备识别的对照标准进行比较时,基于获取自该种子测量值,该设备将识别该种子为近交或杂种。典型地,将通过对从该种子接收到的与预编程的标准数据进行计算机化的比较来执行这一操作,以便于识别该种子为基于近交或杂种。一旦分析并且识别为近交或杂种,该设备将提供用于将该种子分离到收集区域中的装置,该收集区域包含已经经历相同分析并且获得相同结果的种子。经由这个设备的操作,多个种子的混合群体因此被分为近交组分以及杂种部分。可以依照本发明的方法使用的设备的实例包括在EP1401589以及EP1578544中描述的那些。

[0016] 在该说明书中,根据本发明的方法以及设备的杂种与近交种子之间的区别还可以经由太赫兹辐射影像、电磁辐射;声波;紫外线;红外线、荧光;超声波;微波;核磁共振的单独或组合使用被检测出。此类检测方法还可以有利地与近红外组合。

[0017] 根据本发明,无需破坏或不利地影响种子即可有利地区分该杂种与近交种子。此外,近红外的使用提供杂种与近交种子之间的区分,而无需基于蛋白质含量、油含量或颜色的分选,该分选是通常已知的通常在现有技术中用于区分种子的方法。本发明的方法因此提供了基于种子特性的杂种与近交种子之间进行区分的方法,该方法不受生长环境的典型地/显著地影响。

[0018] 本发明仍进一步提供了根据前述权利要求的任一项所述的方法,其中所述设备包括:(a) 用于在该混合群体之内对每个种子进行取样的装置;以及(b) 用于获得每个种子的近红外光谱数据的装置;以及(c) 用于基于所述光谱数据识别每个种子为近交或杂种种子的装置;以及(d) 用于基于所述数据分离每个种子的装置;以及(e) 用于收集由此分离的种子的装置。依照这个方法,可以通过将每个样本接收的光谱数据与杂种以及近交的对照样本的光谱数据进行比较来识别该种子。

[0019] 本发明仍进一步提供了一种如在上文所述的方法,其中所述设备分离该种子以使得分离出的实质上是杂种种子的所得的群体包含不超过大约5%的近交种子。通过任何过量的分离,可以利用本发明的方法来确保存在于收集的、用于随后播种的杂种种子之内的近交种子的量处于任何批准的限制之内。例如,产生的用于随后播种的杂种种子群体之内的近交种子的批准限制是5%,可以使用本发明的方法来确保所选择的用于随后播种的种子包含不超过5%的近交种子。优选地使用本发明的方法来实质上分离所有的近交种子,然

而,仍可以操作该方法来确保所选择的用于随后播种的种子符合与允许存在于该杂种群体中的近交种子的量相关的任何规则。在本发明的又一个实施例中,可以使用该方法来确保所选择的用于随后播种的种子包含近交种子的量不超过选自 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15% 以及高于 15% 的百分数。在本发明的一个具体实施例中,将该方法用于大麦种子以确保所选择的用于随后播种的种子包含不超过 10% 的近交种子。在本发明的又一个实施例中,将该方法用于小黑麦种子以确保所选择的用于随后播种的种子包含不超过 5% 的近交种子。

[0020] 本发明又进一步提供了一种如在上文所述的方法,其中所述谷类种子是大麦或小麦。在本发明的一个具体实施例中,利用如在该说明书中所述的方法以及机器来分选大麦种子。

[0021] 本发明又进一步提供了一种如在上文所述的方法,其中所述设备利用一种算法来区分所述近交与所述杂种种子的近红外光谱数据,然后允许该种子基于所述光谱数据进行分选。在进行本发明的方法之前,可以检验对照种子以确定进行杂种和近交种子选择的光谱数据、反射和 / 或透射数据。一旦产生这个数据,可以利用该数据来产生用于区别这两种种子的算法。然后可以将它用于该设备,如在上文所述的,该设备包含用于检验该一般群体中的每一个种子的装置并且然后基于与标准进行比较的结果,选择用于近交与杂种的相关分类的种子并且相应地进行分离。普通技术人员能够生成用于该设备的适当的算法,如在该说明书中所述的,该算法基于要分选的种子的光谱数据的识别。

[0022] 本发明仍进一步提供了根据前述权利要求的任一项所述的方法,其中所述差异是基因型差异。

[0023] 本发明仍进一步提供了一种根据前述权利要求的任一项所述的方法,其中所述差异与该种子中的以下化合物的量相关,这些化合物选自:葡萄糖、木糖、甘露糖、半乳糖、阿拉伯糖或其组合。

[0024] 在本发明的又一个方面中,提供了获得实质上纯的 F_1 杂种种子以及实质上纯的近交种子的方法,所述方法包括:(a) 将亲本植物的群体套种在一个大田中,其中所述群体包含雄性和雌性亲本,其中所述雌性至少是部分雄性不育的;并且(b) 提供所述雄性的自花受精以及所述雌性的异花受精;并且(c) 收获得到的受精种子;并且(d) 基于所述杂种与所述近交种子之间的差异分离所述种子以获得(i) F_1 杂种种子以及(ii) 近交种子,其特征在于所述植物是谷类植物,所述植物是以提供实质上所述雌性植物的大部分的传粉的比率套种的并且其中所述种子基于通过近红外光的使用可检测出的差异来分离。

[0025] 术语“杂种”等同于“ F_1 杂种”。术语“杂种”等同于“ F_1 杂种”。术语“种子”与术语“谷粒”是可互换的。术语“套种”是指将雄性与雌性植株相对靠近地种植以使得收获时,种子将包含杂种种子与近交种子的混合物。因此,套种将阻碍纯的杂种种子本身的收获,这是因为由于在包含雌性的大田内的雄性植株的靠近,将不可避免地收获雄性近交种子。在该雌性群体中,可以将雄性传粉者植株以行或其他模式种植在该雌性群体内的特定位点。然而,套种将使得不可能收获大田而不将杂种与近交种子混合在一起。普通技术人员对“套种”原则通常很熟悉。当用于种子时,术语“分离”等同于“分选”。

[0026] 可以经由大量本领域的普通技术人员所熟知的以及上文提及的技术产生在本发明中使用的雄性不育植株。在一个具体实施例中,经由细胞质雄性不育(CMS)的方法产生雄

性不育植株。此外,这种方法还描述于:(威尔逊和罗斯,“小麦 *Triticum aestivum* L 中的杂交育种:I. 在具有卵穗山羊草细胞质的杂种小麦中的花粉恢复性状频率”,《植物科学》(Wilson, J. A., and W. M. Ross. 1961. Cross-breeding in wheat, *Triticum aestivum* L:I. Frequency of the pollen-restoring character in hybrid wheats having *Aegilops ovata* cytoplasm; Crop Sci. 1:191-193);威尔逊和罗斯,“小麦 *Triticum aestivum* L 中的杂交育种:II. 细胞质雄性不育的冬小麦复合材料的异花授粉的杂交种子”,《植物科学》(Wilson, J. A., and W. M. Ross. 1962. Cross-breeding in wheat, *Triticum aestivum* L:II. Hybrid seed set on a cytoplasmic male-sterile winter wheat composite subjected to cross-pollination. Crop Sci. 2:415-417);陈,“改进的用于提莫菲维小麦细胞质的普通小麦的雄性能育性恢复”,《植物育种》(Chen. 2003. Improving male fertility restoration of common wheat for *Triticum timopheevii* cytoplasm. Plant Breeding 122, pp401-404);以及柯蒂斯、拉贾拉姆和戈麦斯,《面包小麦 - 改进与生产》, (Bread Wheat-Improvement and Production 2002 Edited by Curtis, Rajaram and Gomez Macpherson ISBN:9251048096), 尤其是思嘉和库柏的“杂种小麦”部分(“Hybrid Wheat” section by G. Cisar and D. B. Cooper)。本领域的普通技术人员将认识到上文通用的杂种生产原则对杂种大麦的生产也是适用的。用于大麦的 CMS 系统已经由胡卡思等人进行了广泛描述(胡卡思,“大麦中的细胞质雄性不育 III. msml 细胞质中的不育性的保持以及能育性的恢复”,《荷兰植物育种杂志》(Ahokas, H. 1979. Cytoplasmic male sterility in barley. III. Maintenance of sterility and restoration of fertility in the msml cytoplasm. Euphytica 28:409-419);胡卡思,“大麦中的细胞质雄性不育 VII. 用于恢复的核基因”,《遗传学应用理论》(Ahokas, H. 1980. Cytoplasmic male sterility in barley. VII. Nuclear genes for restoration. Theor. Appl. Genet. 57:193-202);胡卡思,“大麦中的细胞质雄性不育 XI. msml2 细胞质”,《遗传学》(Ahokas, H. 1982. Cytoplasmic male sterility in barley. XI. The msml2 cytoplasm. Genetics 102:285-295);胡卡思和霍凯特,“细胞质雄性不育的大麦在两种不同纬度的性能试验”,《作物科学》(Ahokas, H., and E. A. Hockett. 1981. Performance tests of cytoplasmic male-sterile barley at two different latitudes. Crop Sci. 21:607-611)) 并且已经将它用于大麦杂种的生产(在弗兰克尔著的《杂种优势:理论与应用的再评价》(遗传学理论与应用专论第 6 卷)中的拉梅奇,“大麦中的杂种优势和杂种种子生产”,施普林格出版社,柏林海德尔堡纽约 (Ramage RT(1983) Heterosis and hybrid seed production in barley. In: Frankel R(ed) Heterosis: reappraisal of theory and practice. (Monogr Theor Appl Genet vol6). Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 71-93)), 随后它已经发展成为一个商业系统。

[0027] 在一个进一步的实施例中,经由化学使用遗传改性的方法如在 W02005/005641 中进一步描述的系统产生雄性不育的植株。

[0028] 还应当牢记在心的是本发明的方法有利地允许雄性与雌性亲本套种而无需在雌性亲本授粉之后从该群体中去除雄性不育供体亲本。因此这个方法排除了与授粉后从该群体中化学或机械地去除雄性有关的需要以及花费。甚至更有利地是,根据本发明的方法克服了与如在上文描述的区 - 种植系统相关联的问题及花费。此外,本发明的方法允许商业利用杂交种子以及近交种子两者。

[0029] 术语“至少部分雄性不育”是指雌性亲本能够与来自分隔的雄性亲本的花粉异花授粉或者能够在一定的条件下自花授粉。对于杂种植物的生产而言,雌性亲本将经由来自分隔的、与雌性套种的雄性亲本的花粉进行授粉。

[0030] 普通技术人员将理解雄性植株应当与雌性以这样的方式套种以使得大田内花粉传递到雌性上的机会最大化。这一般涉及雄性植株在整个大田中的均匀分布,以使得所有的雌性与雄性植株在一小段距离处靠近,这个距离是普通技术人员公认的作为用于达到授粉可接受的距离。基于大田的大小与性状设计套种田计划正在普通技术人员的范围内。

[0031] 本发明又提供了一种如在上文所述的方法,其中所述比率提供了所述雌性植株的实质上大部分授粉,同时使得自花受精的雄性植株的数量最小化,由此使得所述大田的种子总产量内的杂种种子产量最大化。在本发明的一个具体实施例中,所述比率提供了用于达到所述雌性植株实质上大部分授粉所需的最小数量的雄性植株,由此使得所述大田的种子总产量内的杂种种子产量最大化。

[0032] 本发明又进一步提供了一种如在上文所述的方法,其中所述雌性亲本是完全雄性不育的。

[0033] 术语“完全雄性不育”是指雌性亲本不能够自花授粉并且因此只能与来自分隔的、与雌性套种的雄性亲本的花粉进行异花授粉。术语“完全雄性不育”与术语“雄性不育”也是可互换的。

[0034] 本发明又进一步提供了一种如在上文所述的方法,其中所述比率提供了所述雌性植株至少大约 80% 的授粉。在本发明的又一个实施例中,所述比率提供了所述雌性植株高于 80% 的授粉。在本发明的又另一个实施例中,所述比率提供了所述雌性植株高于 85% 的授粉。在本发明的又另一个实施例中,所述比率提供了所述雌性植株至少大约 90% 的授粉。在本发明的又一个实施例中,所述比率提供了所述雌性植株高于 90% 的授粉。在本发明的又另一个实施例中,所述比率提供了所述雌性植株至少大约 95% 的授粉。在本发明的又一个实施例中,所述比率提供了所述雌性植株高于 90% 的授粉。在本发明的又一个实施例中,所述比率提供了实质上大部分所述雌性植株的授粉。如以上提及的,理想地是使得大田杂种产量最大化的同时使得自花受精的雄性植株的数量最小化,由此使得所述大田的种子总产量内的杂种种子产量最大化。这可以经由下面表示典型的杂种生产结果的表 A 进行数字上的证明:

[0035] 表 A

[0036]

(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)
%套种雌性 A 系	%套种雄性 R 系	%雌性 A 系的授粉	%总大田产量占正常产量的百分数	%收获的大田中得到 F1 种子的雌性	%收获的大田中的雄性种子	杂种产量占正常产量的百分数
100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
99%	1%	13%	14%	93%	7%	13%
98%	2%	26%	27%	93%	7%	25%
97%	3%	39%	41%	93%	7%	38%
96%	4%	52%	54%	93%	7%	50%
95%	5%	65%	67%	93%	7%	62%
94%	6%	67%	69%	91%	9%	63%
93%	7%	68%	70%	90%	10%	63%
92%	8%	70%	72%	89%	11%	64%
91%	9%	71%	74%	88%	12%	65%
90%	10%	73%	75%	87%	13%	65%
89%	11%	74%	77%	86%	14%	66%
88%	12%	76%	78%	85%	15%	66%

[0037]

(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)
%套种雌性 A 系	%套种雄性 R 系	%雌性 A 系的授粉	%总大田产量占正常产量的百分数	%收获的大田中得到 F1 种子的雌性	%收获的大田中的雄性种子	杂种产量占正常产量的百分数
87%	13%	77%	80%	84%	16%	67%
86%	14%	79%	82%	83%	17%	68%
85%	15%	80%	83%	82%	18%	68%
84%	16%	82%	84%	81%	19%	68%
83%	17%	83%	86%	80%	20%	69%
82%	18%	85%	87%	79%	21%	69%
81%	19%	86%	89%	79%	21%	70%
80%	20%	88%	90%	78%	22%	70%
79%	21%	89%	91%	77%	23%	70%
78%	22%	91%	93%	76%	24%	71%
77%	23%	92%	94%	75%	25%	71%
76%	24%	94%	95%	75%	25%	71%
75%	25%	95%	96%	74%	26%	71%
74%	26%	95%	96%	73%	27%	70%
73%	27%	95%	97%	72%	28%	70%
72%	28%	96%	97%	71%	29%	69%
71%	29%	96%	97%	70%	30%	68%
70%	30%	96%	97%	69%	31%	67%
69%	31%	96%	97%	68%	32%	66%
68%	32%	96%	98%	67%	33%	66%
67%	33%	97%	98%	66%	34%	65%
66%	34%	97%	98%	65%	35%	64%
65%	35%	97%	98%	64%	36%	63%
64%	36%	97%	98%	63%	37%	62%
63%	37%	97%	98%	62%	38%	61%
62%	38%	98%	99%	61%	39%	61%
61%	39%	98%	99%	60%	40%	60%
60%	40%	98%	99%	60%	40%	59%
59%	41%	98%	99%	59%	41%	58%
58%	42%	98%	99%	58%	42%	57%
57%	43%	99%	99%	57%	43%	56%
56%	44%	99%	99%	56%	44%	55%
55%	45%	99%	99%	55%	45%	54%
54%	46%	99%	100%	54%	46%	54%
53%	47%	99%	100%	53%	47%	53%
52%	48%	100%	100%	52%	48%	52%
51%	49%	100%	100%	51%	49%	51%
50%	50%	100%	100%	50%	50%	50%

[0038] 由此遵循具有 25% 雄性组分以及 75% 雌性组分的生产大田将提供大田 74% 的杂种产量以及 26% 的雄性自花授粉产量。雄性 / 雌性的这种分布提供了正常完全能育产量的最

高杂种产量百分数(71%)。依照本发明,然后将这个群体分选为分别 74% 杂种种子以及 26% 雄性近交种子以允许纯杂种种子的出售并且将雄性种子用于进一步的生产或者销售到已知的谷粒渠道中。本领域的普通技术人员能够选择适当的雄性:雌性比率以使得该大田的种子总产量内的杂种产量最大化。普通技术人员还将理解由于与雌性感受性以及雄性花粉潜能的遗传控制相关联的结实能力的差异,每个个体雄性/雌性的遗传组成可能具有它们自己的最适混合百分比。

[0039] 能够迅速地进行分离也是本发明的一个方面。在一个具体实施例中,可以将种子以大约 10 帝国吨(全部种子)每小时的比率进行分离。在又一个实施例中,可以将这些种子以大约 30 帝国吨每小时的比率进行分离。在又一个实施例中,可以将这些种子以超过 55 帝国吨每小时的比率进行分离。整个说明书中,术语“吨”以“帝国吨”表示。

[0040] 在本发明的又一个方面中,提供了用于收获并分离实质上纯的 F_1 杂种谷类种子以及实质上纯的近交谷类种子的收获机器,这个机器包括用于从成熟的谷类植物上收获谷类种子的装置以及用于基于所述杂种与所述近交之间的差异分离所述种子的装置,以获得 (i) F_1 杂种谷类种子以及 (ii) 近交谷类种子其中所述种子基于通过近红外光的使用可检测出的差异进行分离。在本发明的一个具体实施例中,所述谷类种子是大麦种子。

[0041] 在本发明的又一个方面中,提供了种子分离设备在杂种谷类种子以及近交谷类种子的分离中的用途,其中基于所述杂种与所述近交之间的差异进行所述分离,其中所述差异通过近红外光的使用可检测出。在所述用途的一个具体实施例中,所述谷类种子是大麦种子。在所述用途的一个替代性实施例中,所述谷类种子是小麦种子。

[0042] 该说明书中所述的这些方法可以适用于其中从近交亲本种子中分离杂种种子是有利的其他谷类植物。具体地,可以利用上文所述的这些方法来产生实质上纯的杂种大麦种子以及实质上纯的近交大麦种子。此外,可以利用上文所述的这些方法来产生实质上纯的杂种小麦种子以及实质上纯的近交小麦种子。此外,可以利用上文所述的这些方法来产生实质上纯的杂种黑麦种子以及实质上纯的近交黑麦种子。此外,可以利用上文所述的这些方法来产生实质上纯的杂种小黑麦种子以及实质上纯的近交小黑麦种子。

[0043] 在本发明的又一个方面中,提供了一种方法、机器以及如在整个该说明书中所述的用途,其中术语“大麦”被“小麦”取代。在本发明的又一个方面中,提供了一种方法、机器以及如在整个该说明书中所述的用途,其中术语“大麦”被“黑麦”取代。在本发明的又一个方面中,提供了一种方法、机器以及如在整个该说明书中所述的用途,其中术语“大麦”被“小黑麦”取代。

[0044] 现在将通过下列非限制性实例说明本发明:

[0045] 实例

[0046] 用于单个种子 NIR 测量的实验计划

[0047] 现今,在市场上有许多可用的光学分选技术,这些技术基于单个种子的基础进行分选。测量每个种子并且将其光谱特性与预定值进行比较。基于这种比较,可以对该种子进行分类并且将其分选为不同的部分,每个部分展示不同的种子质量。使用近红外光谱,已经发展了以下方法以便于从近交雄性系中分离杂种谷类种子。通过 NIR 分析七(7)个大麦育种样本(表 1&2)的反射(NIRS)&透射模式(NITS),并且使用得到的光谱数据来形成分类模式。这些结果表明当使用标准化的光谱时,完整个体种子之间的光谱无显著差异;可以将

这些测量值进行平均以产生每一个品种一个光谱。然而,出于该研究的目的,每一个种子使用一个单个光谱,而不是每一个品种的平均光谱进行分类。发现杂种 & 雄性近交种子的标准化信号在其中不同的光谱区。对于所选择的样本集,分布部分重叠,然而,在不同的类之间可能形成一个数学模型进行区分。可以使用一种有效的分选方法来确保该收获的杂种种子满足近交“污染”的耐受水平—即,将存在于该杂种种子的群体中的近交种子的数量限制为一个特定的百分数。

[0048] 表 1:反射测量:样本集 1

[0049]

品种	类型	测量的种子的数量	总样本量
RE 07	雄性近交系	12	72
RE 11		24	
RE 15		24	
RE 18		12	
Fm 37-9	雌性近交系	48	48
10-1500	杂种	48	108
10-1517		60	

[0050] 表 2:透射测量:样本集 2

[0051]

品种	类型	测量的种子的数量	总样本量
RE 11	雄性近交系	12	24
RE 15		12	
Fm 37-97	雌性近交系	24	24
10-1500	杂种	11	23
10-1517		12	

[0052] 通用方法:NIR 仪 & 光谱采集

[0053] 该仪器包括一个 Bruker MPA 多用途 FT-NIR 分析仪类型的 NIR 光谱仪(<http://www.brukeroptics.com/ft-nir.html?&L=1>)。装备详细说明展示于表 3 中。

[0054] 表 3:技术规格:

[0055]

	反射	透射
检测器类型	PbS (硫化铅)	InGaAs (铟镓砷化物)
波数范围	12500-3600 cm ⁻¹	12500-5800 cm ⁻¹
波长范围	800-2780 nm	800-1720 nm
扫描次数	32	32
光谱分辨率	4 cm ⁻¹	4 cm ⁻¹

[0056] 在反射模式中,可以将个体种子通过预定义光谱的光进行照明并且测量反射光的光谱特性。这些光以不同的波长间隔被部分吸收,取决于不同的种子特性。通过检测器捕获并分析从该种子回来的光。一个一个地手动测量这些种子。这意味着将每个个体种子用手放置于一个小金属片上,并将其定于该板中心的一个直径 2mm 的孔的上方。将该板放置于该仪器的玻璃窗上方 2cm 处,并且将光聚焦以照到该种子上的一个小点上。记录任何反射回到积分球上的光并且将所得的光谱通过计算机捕获并且储存到硬盘上。在透射模式中,可以将检测器对着该光源放置以测量通过个体种子的吸光度。

[0057] 在每一个实验开始时,允许该仪器加热至它的操作条件,保持至少一(1)小时,并且然后使用金表面记录本底光谱。每 12 个样本之后,记录新的本底光谱。将每一个种子扫描三十二(32)次并且记录包含 2307 (反射)或 1737 (透射)个数据点的平均光谱。由于测量值是基于单个种子的,给予每一个光谱一个唯一的、属于该测量的种子的代码。出于鉴别的目的,然后将这些种子储存在 96 孔板的一个孔中。我们发现当使用标准化的光谱时,相同品种的个体种子之间的光谱无显著差异;可以将这些测量值进行平均以产生每一个品种一个光谱。

[0058] 数据处理

[0059] 将光谱数据载入 R (统计程序, <http://cran.r-project.org/>) 中,每一个具有唯一的代码并且每一个属于三类:雄性、雌性或杂种中的一类。将不同的近交雄性种子的光谱数据结合到该分类模式中以提供相对应于一般雄性种子的数据集。同样,将来自这两个杂种样本的光谱数据结合到其中。在不同类之间使用 PLS-DA (偏最小二乘-判别分析法) 进行区分。在每一类(表 1&2)的总样本中随机选择百分之六十七(67)个用于校准集并且将剩余的百分之三十三(33)用于确认集。将这个过程用不同的确认及练习(校准)集重复十(10)次。为了优化该分类,对该光谱的不同区域进行了调查和不同的预处理,例如应用:第一和第二导数;进行或不进行乘法散射校正。最终,第一导数以及 MSC 处理给出的预测表格展示于表 4&5 中。

[0060] 结果

[0061] 发现杂种 & 雄性近交种子的标准化信号在其中不同的光谱区。对于所选择的样本集,并且给出:样本被分为两类,分布部分重叠。然而,在不同的类之间可能形成一个数学模型进行区分。这些结果示于表 4&5 中并且表示该数学模型重复十(10)次之后的平均分类准确度,从而对每一个种子类进行正确地预测并且分配该确认集与校准集。

[0062] 表 4 反射模式中的预测结果:确认集中正确地分类的个体种子的平均百分数

[0063]

		真实的		
		杂种	雌性	雄性
通过 NIR 预测的	杂种	85	14	5
	雌性	7	85	1
	雄性	8	1	94

[0064] 表 5 透射模式中的预测结果:确认集中正确地分类的个体种子的平均百分数

[0065]

		真实的		
		杂种	雌性	雄性
通过 NIR 预测的	杂种	74	22	11
	雌性	20	78	0
	雄性	7	0	89

[0066] 总之,在这个实例中发展的 NIRS&NITS 校准模式允许将杂种大麦样本的无损的单个种子从它们各自的雄性近交种子中分选出。