



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104285776 B

(45) 授权公告日 2016.01.13

(21) 申请号 201310751112.6

(22) 申请日 2013.12.31

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 8657 2013.12.25

(73) 专利权人 北京市农林科学院

地址 100097 北京市海淀区曙光花园中路9号

(72) 发明人 赵久然 宋伟 邢锦丰 王元东

王风格 段民孝 李瑞媛

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

11245

代理人 关畅

(51) Int. Cl.

A01H 1/02(2006.01)

A01H 1/04(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1736166 A, 2006.02.22, 全文.

罗红兵等. 不同类型玉米细胞质雄性不育

系恢复系选育. 《湖南农业大学学报(自然科学版)》. 2006, 第28卷(第3期), 第202-205页.

卢彩霞等. 玉米骨干自交系对S型细胞质雄性不育系的育性恢复特点及基因分析. 《河南农业科学》. 2004, (第12期), 第3-6页.

审查员 胡可

权利要求书1页 说明书8页
序列表22页

(54) 发明名称

玉米雄性不育系的选育方法

(57) 摘要

本发明公开了玉米雄性不育系的选育方法。本发明提供了一种玉米雄性不育系的选育方法,为以玉米S型细胞质雄性不育系MD32CGMCC No. 8657为供体、玉米自交系为受体,进行回交转育,得到所述玉米自交系的雄性不育系。本发明的实验证明,本发明具有如下优势:1、利用分子标记辅助选择技术与回交转育技术结合,加快不育系的转育速度,仅需回交三代即获得了京724不育系S京724。2、本发明选用的S型不育系MD32在多种遗传背景下不育性表现稳定彻底,在已报道的玉米杂交种雄性不育化制种研究中未见使用。

1. 一种玉米雄性不育系的选育方法,其特征在于:以保藏编号为 CGMCC No. 8657 的玉米 S 型细胞质雄性不育系 MD32 为供体、玉米自交系为受体,进行回交转育,得到所述玉米自交系的雄性不育系。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述玉米自交系为玉米自交系京 724,得到的雄性不育系为京 724 的雄性不育系 S 京 724。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法,其特征在于:所述回交次数为 3 次。

4. 根据权利要求 2 所述的方法,其特征在于:所述回交转育包括如下步骤:

1) 以玉米雄性不育系 MD32CGMCC No. 8657 为供体、玉米自交系京 724 为受体,杂交,得到雄性不育杂交子代 F_1 ;

2) 以雄性不育杂交子代 F_1 为母本、与京 724 回交,得到雄性不育 BC_1 代群体;

3) 以雄性不育 BC_1 代单株为母本、与京 724 继续回交,得到雄性不育 BC_2 代群体;

4) 以雄性不育 BC_2 代单株为母本、与京 724 继续回交,得到京 724 的雄性不育系 S 京 724。

5. 根据权利要求 4 所述的方法,其特征在于:在步骤 2) 和步骤 3) 之间,还包括如下步骤:从所述雄性不育 BC_1 代群体中选取与所述玉米京 724 遗传相似度在 92.5-95% 的雄性不育 BC_1 代单株。

6. 根据权利要求 5 所述的方法,其特征在于:在步骤 3) 和步骤 4) 之间,还包括如下步骤:从所述雄性不育 BC_2 代群体中选取与所述玉米京 724 遗传相似度在 98.75% -100% 的雄性不育 BC_2 代单株。

7. 保藏编号为 CGMCC No. 8657 的玉米 S 型细胞质雄性不育系 MD32 在选育玉米雄性不育系中的应用。

玉米雄性不育系的选育方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,尤其涉及一种玉米雄性不育系的选育方法。

背景技术

[0002] 强优势杂交种的选育和推广是提高玉米产量的重要途径。利用常规的制种方法配制杂交种需要对母本进行人工去雄,不仅耗费大量的劳动力,增加种子生产成本,且存在由于去雄不及时、不彻底影响种子质量的潜在风险。利用雄性不育系制种是保证种子纯度提高玉米产量的一种有效方法。

[0003] 早在上世纪五六十年代,国内外就开始了对玉米不育化制种的研究。细胞质雄性不育由于容易实现不育系、保持系和恢复系的三系配套,是玉米育种中利用的主要途径。细胞质雄性不育系可划分为 T、C 和 S 型三大类。60 年代初, T 型不育系引入我国。由于对玉米小斑病“T 小种”专化性侵染, T 型不育系的应用受到严重限制。70 年代,我国育种工作者从国外引进 C 型、S 型不育系。C 型不育系虽然不育性较稳定、彻底,但是在特殊的基因型背景中表现育性的推迟回复突变,而且其恢复系通常需要重新转育,周期长且步骤繁琐,导致该型不育系在实践中难以普及应用。S 型不育系是 3 种类型中最大的一个组,已有研究证明昌 7-2 等黄改系材料是其天然强恢复系。但 S 型不育系的育性因基因型背景的不同而有较大差异,在特定的遗传背景下育性高度稳定。国内优良玉米杂交种的父本多属黄改种质,因此为省去恢复系的转育工作,发掘和创制新的不育性彻底、遗传稳定、综合性状优良的 S 型不育系是快速不育化制种研究和应用的关键。

[0004] 实现玉米细胞质雄性不育化制种的关键是不育系、保持系和恢复系的选育。选育不育系最常用的方法是回交转育法,即用稳定的不育系作非轮回亲本,选择优良自交系作轮回亲本,进行多代回交,育成不育性稳定的优良不育自交系,而原轮回亲本便是该不育系的保持系。但仅仅利用传统的回交转育方法,一般需回交 5-6 代,转育周期较长,延缓了不育化制种技术在玉米杂交种上的应用。因此,如何加快不育系的选育速度是目前雄性不育化制种技术亟需解决的问题。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种玉米雄性不育系的选育方法。

[0006] 本发明提供的方法,为以玉米 S 型细胞质雄性不育系 MD32CGMCC No. 8657 为供体、玉米自交系为受体,进行回交转育,得到所述玉米自交系的雄性不育系。

[0007] 上述方法中,所述玉米自交系为玉米自交系京 724,得到的雄性不育系为京 724 的雄性不育系 S 京 724。

[0008] 上述方法中,所述回交次数为 3 次。

[0009] 上述方法中,所述回交转育包括如下步骤:

[0010] 1) 以玉米 S 型细胞质雄性不育系 MD32CGMCC No. 8657 为供体、玉米自交系京 724 为受体,杂交,得到雄性不育杂交子代 F₁;

- [0011] 2) 以雄性不育杂交子代 F_1 为母本、与京 724 回交, 得到雄性不育 BC_1 代群体;
- [0012] 3) 以雄性不育 BC_1 代单株为母本、与京 724 继续回交, 得到雄性不育 BC_2 代群体;
- [0013] 4) 以雄性不育 BC_2 代单株为母本、与京 724 继续回交, 得到京 724 的雄性不育系 S 京 724。

[0014] 上述方法中, 在步骤 2) 和步骤 3) 之间, 还包括如下步骤: 从所述雄性不育 BC_1 代群体中选取与所述玉米自交系京 724 遗传相似度在 92.5-95% 的雄性不育 BC_1 代单株;

[0015] 上述方法中, 所述从所述雄性不育 BC_1 代群体中选取与所述玉米京 724 遗传相似度在 92.5-95% 的雄性不育 BC_1 代单株的方法包括如下步骤: 用 40 对 SSR 核心引物分别对雄性不育 BC_1 代单株和玉米自交系京 724 进行 PCR 扩增, 得到 SSR 谱带, 通过比较 BC_1 代单株和玉米自交系京 724 的 SSR 图谱, 计算遗传相似度;

[0016] 所述遗传相似度计算公式: $[1 - (\text{差异等位基因数} / (2 \times \text{比较总位点数}))] \times 100\%$

[0017] 所述差异等位基因数为用 SSR 核心引物扩增得到的所述雄性不育 BC_1 代单株 SSR 谱带带型与所述玉米自交系京 724 的 SSR 谱带带型不一致的等位基因数目; 所述比较总位点数为 40。

[0018] 上述 40 对 SSR 核心引物中各个引物的序列分别为序列表中序列 1-80 所示, 具体见实施例的表 2。

[0019] 上述方法中, 在步骤 3) 和步骤 4) 之间, 还包括如下步骤: 从所述雄性不育 BC_2 代群体中选取与所述玉米自交系京 724 遗传相似度在 98.75%-100% 的雄性不育 BC_2 代单株。

[0020] 所述从所述雄性不育 BC_2 代群体中选取与所述玉米自交系京 724 遗传相似度在 98.75%-100% 的雄性不育 BC_2 代单株的方法包括如下步骤: 用引物 A 分别对雄性不育 BC_2 代单株和玉米自交系京 724 进行 PCR 扩增, 得到 SSR 谱带, 通过比较 BC_2 代单株和玉米自交系京 724 的 SSR 图谱, 计算遗传相似度;

[0021] 所述引物 A 为 BC_2 代单株对应的母本 BC_1 代与京 724 相比扩增带型不同的 SSR 引物;

[0022] 所述遗传相似度计算公式: $[1 - (\text{差异等位基因数} / (2 \times \text{比较总位点数}))] \times 100\%$

[0023] 所述差异等位基因数为用引物 A 扩增得到的所述雄性不育 BC_2 代单株 SSR 谱带带型与所述玉米自交系京 724 的 SSR 谱带带型不一致的等位基因数目;

[0024] 所述比较总位点数为 40。

[0025] 玉米 S 型细胞质雄性不育系 MD32CGMCC No. 8657 在选育玉米雄性不育系中的应用也是本发明保护的范围。

[0026] 玉米不育系 MD32 于 2013 年 12 月 25 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(简称 CGMCC, 地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号, 中国科学院微生物研究所, 邮编 100101), 保藏号为 CGMCC No. 8657, 该植株分类命名为玉米 (*Zea mays*)。

[0027] 本发明的实验证明, 本发明具有如下优势:

[0028] 1、利用分子标记辅助选择技术与回交转育技术结合, 加快不育系的转育速度, 仅需回交三代即获得了京 724 不育系 S 京 724。

[0029] 2、本发明选用的 S 型细胞质雄性不育系 MD32 在多种遗传背景下不育性表现稳定彻底, 在已报道的玉米杂交种雄性不育化制种研究中未见使用。

具体实施方式

[0030] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。

[0031] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0032] 实施例 1、雄性不育系 S 京 724 的选育

[0033] 一、不育系供体 MD32 细胞质雄性不育类型的确定

[0034] 1、玉米不育系 MD32

[0035] 玉米不育系 MD32 选育过程:利用构建的 X 系群体(以 X1132 为基础)进行“高大严”选系,从中选择优良 S5 高代系与外引杂交种构建新的选系基础群体。在自交后代中发现不育株,雄穗花药不外露,无花粉,选择同穗行表型相近的姊妹株对其进行成对授粉。杂交后代全部表现彻底不育,植株表型也趋向基本一致。遂将该材料命名为玉米雄性不育系 MD32。

[0036] 玉米不育系 MD32 不育性彻底:花药不外露,无花粉;

[0037] 玉米不育系 MD32 不育性稳定:在多种遗传背景下,不育性表现彻底;

[0038] 玉米不育系 MD32 综合性状优良:种子芽势旺盛,出苗力强,幼苗叶鞘色紫色,叶片宽大,叶色浓绿,株型半紧凑,果穗筒型,粒型半硬粒型,综合抗性好。

[0039] 玉米不育系 MD32 于 2013 年 12 月 25 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(简称 CGMCC,地址:北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号,中国科学院微生物研究所,邮编 100101),保藏号为 CGMCC No. 8657,该植株分类命名为玉米(*Zea mays*)。

[0040] 2、不育系 MD32 细胞质雄性不育类型的确定

[0041] 提取玉米不育系 MD32 幼苗的 DNA 作为模板,用如下表 1 的引物进行 PCR 扩增,得到扩增产物在 Agarose 凝胶上,90V 电泳 1 小时 30 分钟。根据扩增片段图谱鉴别玉米 MD32 胞质不育类型。

[0042] 结果,利用 C、T 型引物对 MD32 的 DNA 进行 PCR 扩增时,均未检测到扩增产物;利用 S 型引物对其进行检测时,PCR 产物片段大小为 885bp。因此确定 MD32 为 S 型细胞质雄性不育系。

[0043] 表 1 为鉴定胞质类型的引物

[0044]

胞质类型	引物序列
C-1	TGAAAGGGTGGTGAATA
C-2	GAGCCAAAGTAATGAGAAAA
S-1	GATGCTATGCTAAGCGAGAT
S-2	CCGCTAACCCACTCTTCT
T-1	GTCGTGTCCTGGTAGCCT
T-2	CCTCCTTCATTCCGTTGT

[0045] 二、玉米雄性不育系 S 京 724 的选育

[0046] 1、雄性不育杂交子代 F1 的获得

[0047] 第一年夏,以玉米雄性不育系 MD32 (非轮回亲本) 做供体、京 724 (北京市农林科学院玉米研究中心,品种权申请公告号为 CNA007811E) (轮回亲本) 做受体杂交组配 F_1 代,收获 F_1 代的种子。

[0048] 同年冬海南第一代,种植 F_1 代的种子,得到 127 株 F_1 代玉米植株。

[0049] 127 株 F_1 代玉米植株花药均不外露,无花粉,不育性表现彻底。

[0050] 2、回交一次 BC_1 代的获得

[0051] 1) 回交

[0052] 以 F_1 代植株做母本,继续与轮回亲本京 724 回交,收获 BC_1 代群体的种子。

[0053] 同年冬海南第二代,种植 BC_1 代群体的种子,得到 BC_1 代群体。

[0054] BC_1 代群体花药均不外露,无花粉,不育性表现彻底。

[0055] 2) 分子标记筛选

[0056] 从种植的 2000 株 BC_1 代群体中选择雄花完全不育、植株性状(株高、穗位高、株型、雄穗分枝数和果穗性状)与京 724 接近的 616 个 BC_1 代单株挂牌标记;提取 616 个 BC_1 代单株叶片的 DNA 作为模板,利用 40 对 SSR 核心引物(表 2) 分别对每一株进行 PCR 扩增;以京 724 为对照。每对 SSR 核心引物对应一个位点;每个位点有 2 个等位基因。

[0057] 表 2 为 40 对 SSR 核心引物

[0058]

序号	引物名称	上游引物 (5' -3') // 下游引物(5' -3')
1	bnlg439w1	AGTTGACATCGCCATCTTGGTGAC (序列 1) // GAACAAGCCCTTAGCGGGTTGTC (序列 2)
2	umc1335y5	CCTCGTTACGGTTACGCTGCTG (序列 3) // GATGACCCCGTTACTTCGTTTATG (序列 4)
3	umc2007y4	TTACACAACGCAACACGAGGC (序列 5) // GCTATAGGCCGTAGCTTGGTAGACAC (序列 6)
4	bnlg1940k7	CGTTTAAGAACGGTTGATTGCATTCC (序列 7) // GCCTTTATTTCTCCCTTGCTTGCC (序列 8)
5	umc2105k3	GAAGGGCAATGAATAGAGCCATGAG (序列 9) // ATGGACTCTGTGCGACTTGTACCG (序列 10)
6	phi053k2	CCCTGCCTCTCAGATTCAGAGATTG (序列 11) // TAGGCTGGCTGGAAGTTTGTGC (序列 12)
7	phi072k4	GCTCGTCTCCTCCAGGTCAGG (序列 13) // CGTTGCCCATACATCATGCCTC (序列 14)
8	bnlg2291k4	GCACACCCGTAGTAGCTGAGACTTG (序列 15) // CATAACCTTGCTCCCAAACCC (序列 16)
9	umc1705w1	GGAGGTCGTCAGATGGAGTTCG (序列 17) // CACGTACGGCAATGCAGACAAG (序列 18)
10	bnlg2305k4	CCCCTCTTCTCAGCACCTTG (序列 19) // CGTCTTGTCTCCGTECGTGTG (序列 20)
11	bnlg161k8	TCTCAGCTCCTGCTTATTGCTTTCG (序列 21) // GATGGATGGAGCATGAGCTTGC (序列 22)
12	bnlg1702k1	GATCCGCATTGTCAAATGACCAC (序列 23) // AGGACACGCCATCGTCATCA (序列 24)
13	umc1545y2	AATGCCGTTATCATGCGATGC (序列 25) // GCTTGCTGCTTCTTGAATTGCGT (序列 26)
14	umc1125y3	GGATGATGGCGAGGATGATGTC (序列 27) // CCACCAACCCATACCCATACCAG (序列 28)
15	bnlg240k1	GCAGGTGTCCGGGATTTTCTC (序列 29) // GBAACTGAAGAACAGAAGGCATTGATAC (序列 30)
16	phi080k15	TGAACCACCCGATGCAACTTG (序列 31) // TTGATGGGCACGATCTCGTAGTC (序列 32)
17	phi065k9	CGCCTTCAAGAATATCCTTGTGCC (序列 33) // GGAECCAGACCAGGTTCCACC (序列 34)
18	umc1492y13	GCGGAAGAGTAGTCGTAGGGCTAGTGTAG (序列 35) // AACCAAGTTCTTCAGACGCTTCAGG (序列 36)
19	umc1432y6	GAGAAATCAAGAGGTGCGAGCATC (序列 37) // GGCCATGATACAGCAAGAAATGATAAGC (序列 38)
20	umc1506k12	GAGGAATGATGTCCGCGAAGAAG (序列 39) // TTCAGTCGAGCGCCCAACAC (序列 40)
21	umc1147y4	AAGAACAGGACTACATGAGGTGCGATAC (序列 41) // GTTTCCTATGGTACAGTTCTCCCTCGC (序列 42)
22	bnlg1671y17	CCCACACCTGAGTTGACCTG (序列 43) // CTGGAGGGTGAACAAGAGCAATG (序列 44)
23	phi96100y1	TTTTGCACGAGCCATCGTATAACG (序列 45) // CCATCTGCTGATCCGAATACCC (序列 46)

[0059]

序号	引物名称	上游引物 (5' -3') // 下游引物(5' -3')
24	umc1536k9	TGATAGGTAGTTAGCATATCCCTGGTATCG (序 列 47) // AGCATAGAAAAAGTTGAGGTTAATATGGAGC (序列 48)
25	bnlg1520K1	CACTCTCCCTCTAAAATATCAGACAACACC (序列 49) // GCTCTGCTGCTGTTTTGTTCTTG (序列 50)
26	umc1489y3	GCTACCCGCAACCAAGAACTCTTC (序列 51) // GCCTACTCTTGCCGTTTTACTCCTGT (序列 52)
27	bnlg490y4	GGTGTTGGAGTCGCTGGGAAAG (序列 53) // TTCTCAGCCAGTGCCAGCTCTTATTA (序列 54)
28	umc1999y3	GGCCAGGTTATGCTCATTGTC (序列 55) // GCAACAACAAATGGGATCTCCG (序列 56)
29	umc2115k3	GCACTGGCAACTGTACCCATCG (序列 57) // GGGTTTCACCAACGGGGATAGG (序列 58)
30	umc1429y7	CTTCTCCTCGGCATCATCCAAAC (序列 59) // GGTGGCCCTGTTAATCCTCATCTG (序列 60)
31	bnlg249k2	GGCAACGGCAATAATCCACAAG (序列 61) // CATCGGCGTTGATTCGTCAG (序列 62)
32	phi299852y2	AGCAAGCAGTAGGTGGAGGAAGG (序列 63) // AGCTGTTGTGGCTCTTGCCTGT (序列 64)
33	umc2160k3	TCATTCCCAGAGTGCCTTAACTG (序列 65) // CTGTGCTCGTGCTTCTCTCTGAGTATT (序列 66)
34	umc1936k4	GCTTGAGGCGGTTGAGGTATGAG (序列 67) // TGCACAGAATAAACATAGGTAGGTCAGGTC (序列 68)
35	bnlg2235y5	CGCACGGCACGATAGAGGTG (序列 69) // AACTGCTTGCCACTGGTACGGTCT (序列 70)
36	phi233376y1	CCGGCAGTCGATTACTCCAGC (序列 71) // CAGTAGCCCTCAAGCAAACATTC (序列 72)
37	umc2084w2	ACTGATCGCGACGAGTTAATTCAAAC (序列 73) // TACCGAAGAACAACGTCATTCAGC (序列 74)
38	umc1231k4	ACAGAGGAACGACGGGACCAAT (序列 75) // GGCACCTCAGCAAAGAGCCAAATTC (序列 76)
39	phi041y6	CAGCGCCGCAAACCTTGGTT (序列 77) // TGGACGCGAACCAGAAACAGAC (序列 78)
40	umc2163w3	CAAGCGGAATCTGAATCTTTGTTG (序列 79) // CTTCGTACCATCTTCCCTACTTCATTGC (序列 80)

[0060] 每个 BC₁代单株得到 40 个位点对应的 PCR 扩增图谱,与京 724 得到的 40 个位点对应的 PCR 扩增图谱进行比较,PCR 扩增图谱谱带不一致的等位基因数目为差异等位基因数;比较总位点数为 40。

[0061] 遗传相似度计算公式:[1- (差异等位基因数 / (2× 比较总位点数))]×100%

[0062] 根据扩增结果,选取与京 724 差异等位基因数最少的前 30 个单株作为下一轮回交

的母本,且经过遗传相似度计算,前 30 个单株与京 724 间的遗传相似度均在 92.5-95% 之间。

[0063] 3、回交二次 BC₂代的获得

[0064] 1) 回交

[0065] 以上述 2 选取的与京 724 遗传相似度在 92.5-95% 之间的 BC₁代单株做母本,继续与轮回亲本京 724 回交,收获 BC₂代群体的种子。

[0066] 次年夏,种植 BC₂代群体的种子,按穗行田间种植,每个穗行种植 50 株,共计 1500 株。

[0067] 2) 分子标记筛选

[0068] 选择雄花完全不育、植株性状与京 724 接近的 300 个 BC₂代单株挂牌标记,分别提取 300 个 BC₂代单株叶片的 DNA 作为模板,利用 BC₂代单株对应的母本 BC₁代与京 724 扩增带型不同的 SSR 引物对其进行 PCR 扩增;以京 724 为对照。

[0069] 按照上述方法,计算遗传相似度,其中,差异等位基因数为雄性不育 BC₂代单株 SSR 谱带带型与所述玉米自交系京 724 的 SSR 谱带带型不一致的等位基因数目,BC₂代群体的单株 SSR 谱带为用 BC₂代单株对应的母本 BC₁代与京 724 相比扩增带型不一致的 SSR 引物进行扩增得到的谱带;比较总位点数为 40。

[0070] 选取遗传相似度为 98.75%-100% (与京 724 差异等位基因数最少的前 30 个单株) 作为下一轮回交的母本。

[0071] 4、回交 3 次不育系 S 京 724 的获得

[0072] 以上述 3 选取的与京 724 遗传相似度在 98.75%-100% 之间的 BC₂代单株做母本,继续与轮回亲本京 724 回交,收获 BC₃代群体,即为不育系 S 京 724。

[0073] 不育系 S 京 724 花药不外露,无花粉,不育性表现彻底。

[0074] 三、常规转育与本发明方法的比较

[0075] 常规转育与上述二的方法基本相同,不同的是不进行分子标记筛选,结果回交 6 代,才能获得遗传背景回复到轮回亲本的不育系(遗传背景回复率见表 3 所示)。

[0076] 计算遗传背景回复率 $G(g)=[L+X(g)]/2L$;其中,g 指回交世代数,G(g) 指在 g 代的遗传背景回复率;X(g) 指在回交 g 代表现为受体亲本带型的分子标记数量;L 指所参与分析的分子标记数量。

[0077] 表 3 为本发明方法与常规育种的背景回复率

[0078]

回交世代	背景回复率	
	常规育种	本发明方法
BC ₁	75%	92.50%
BC ₂	87.50%	98.75%
BC ₃	93.75%	100.00%
BC ₄	96.88%	
BC ₅	98.44%	
BC ₆	99.22%	

[0079] 从上述看出,本发明的方法利用分子标记辅助背景选择与回交转育相结合,只需要回交 3 代即获得了遗传背景回复到轮回亲本的不育系。

[0001]

序列表

<110>北京市农林科学院

<120>玉米雄性不育系的选育方法

<160> 80

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 1

agttgacatc gccatcttgg tgac

24

<210> 2

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 2

gaacaagccc ttagcggggtt gtc

23

<210> 3

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 3

cctegttacg gttacgetgc tg

22

<210> 4

[0002]

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 4

gatgaccccg cttacttcgt ttaig

25

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 5

ttacacaacg caacacgagg c

21

<210> 6

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 6

gctatagccc gtagcttggt agacac

26

<210> 7

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 7

[0003]

cgtttaagaa cggttgattg cattcc

26

<210> 8

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 8

gcctttattt ctcccttgct tgcc

24

<210> 9

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 9

gaagggcaat gaatagagcc atgag

25

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 10

atggactctg tgcgacttgt accg

24

<210> 11

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

[0004]

<220>		
<223>		
<400>	11	
cctgcctct cagattcaga gattg		25
<210>	12	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>		
<400>	12	
taggctggct ggaagtttgt tgc		23
<210>	13	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>		
<400>	13	
getcgtctcc tecagtcag g		21
<210>	14	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>		
<400>	14	
cgttgcccat acatcatgcc tc		22
<210>	15	
[0005]		

<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>		
<400>	15	
	gcacacccgt agtagctgag acttg	25
<210>	16	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>		
<400>	16	
	cataaccttg cctcccaaac cc	22
<210>	17	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>		
<400>	17	
	ggaggtcgtc agatggagtt cg	22
<210>	18	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>		
<400>	18	

[0006]

cacgtacggc aatgcagaca ag

22

<210> 19

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 19

ccccctttcc tcagcacctt g

21

<210> 20

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 20

egttttgtct cegtcctgtt g

21

<210> 21

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 21

tctcagctcc tgcttattgc ttctg

25

<210> 22

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

[0007]

<220>

<223>

<400> 22

gatggatgga gcatgagcctt gc

22

<210> 23

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 23

gatccgcatt gtcaaafgac cac

23

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 24

aggacacgcc atcgtcatca

20

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 25

aatgccgtta tcatgcgatg c

21

<210> 26

[0008]

<211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223>
 <400> 26
 gettgcctgct tcttgaattg cgt 23

<210> 27
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223>
 <400> 27
 ggatgatggc gaggatgatg tc 22

<210> 28
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223>
 <400> 28
 ccaccaaccc ataccatac cag 23

<210> 29
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223>
 <400> 29

[0009]

gcagggtgctg gggattttct c	21
<210> 30	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223>	
<400> 30	
ggaactgaag aacagaaggc attgatac	28
<210> 31	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223>	
<400> 31	
tgaaccaccc gatgcaactt g	21
<210> 32	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223>	
<400> 32	
ttgatgggca cgatctcgta gtc	23
<210> 33	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

[0010]

<220>

<223>

<400> 33

egcettcaag aatatecttg tgee

24

<210> 34

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 34

ggaccagac caggttccac c

21

<210> 35

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 35

gcggaagagt agtcgtaggg ctagttag

29

<210> 36

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 36

aaccaagttc ttcagacgct tcagg

25

<210> 37

[0011]

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 37

gagaaatcaa gaggtgcgag catc 24

<210> 38

<211> 28

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 38

ggccatgata cagcaagaaa tgataagc 28

<210> 39

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 39

gaggaatgat gtccgcaag aag 23

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 40

[0012]

ttcagtcgag cgcccaacac	20
<210> 41	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223>	
<400> 41	
aagaacagga ctacatgagg tgcgatac	28
<210> 42	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223>	
<400> 42	
gtttcctatg gtacagttct ccctcgc	27
<210> 43	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223>	
<400> 43	
cccgacacct gagttgacct g	21
<210> 44	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

[0013]

<220>

<223>

<400> 44

ctggagggtg aaacaagagc aatg

24

<210> 45

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 45

ttttgcacga gccatcgtat aacg

24

<210> 46

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 46

ccatctgctg atccgaatac cc

22

<210> 47

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 47

tgataggtag ttagcatatc cctggtatcg

30

<210> 48

[0014]

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 48

agcatagaaa aagttgaggt taatatggag c

31

<210> 49

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 49

cactctcect ctaaaatate agacaacacc

30

<210> 50

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 50

gcttctgctg ctgttttggt cttg

24

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 51

[0015]

gctaccgcga accaagaact ctte

24

<210> 52

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 52

gcctactctt gccgttttac tcctgt

26

<210> 53

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 53

ggtgttggag tcgetgggaa ag

22

<210> 54

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 54

ttctcagcca gtgccagctc ttatta

26

<210> 55

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

[0016]

<220>

<223>

<400> 55

ggccacgtta ttgctcattt gc

22

<210> 56

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 56

gcaacaacaa atgggatctc cg

22

<210> 57

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 57

gcactggcaa ctgtacceat cg

22

<210> 58

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 58

gggtttcacc aacggggata gg

22

<210> 59

[0017]

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 59

cttctcctcg gcatcatcca aac

23

<210> 60

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 60

ggtggccctg ttaatcctca tctg

24

<210> 61

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 61

ggcaacggca ataatecaca ag

22

<210> 62

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 62

[0018]

catcggcgtt gatttctca g

21

<210> 63

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 63

agcaagcagt aggtggagga agg

23

<210> 64

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 64

agctgttctg getctttgcc tgt

23

<210> 65

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 65

tcattcccag agtgccttaa cactg

25

<210> 66

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

[0019]

<220>

<223>

<400> 66

ctgtgctcgt gcttcctctct gagtatt

27

<210> 67

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 67

gcttgaggcg gttgaggtat gag

23

<210> 68

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 68

tgcacagaat aaacataggt aggtcaggtc

30

<210> 69

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 69

cgcacggcac gatagaggtg

20

<210> 70

[0020]

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 70

aactgcttgc cactggtacg gtct

24

<210> 71

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 71

ccggcagteg attactccac g

21

<210> 72

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 72

cagtagcccc tcaagcaaaa catte

25

<210> 73

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 73

[0021]

actgatcgcg acgagttaat tcaaac

26

<210> 74

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 74

taccgaagaa caacgtcatt tcagc

25

<210> 75

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 75

acagaggaac gacgggacca at

22

<210> 76

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 76

ggcactcagc aaagagccaa attc

24

<210> 77

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

[0022]

<220>

<223>

<400> 77

cagcgcgcga aacttggtt

19

<210> 78

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 78

tggacgcgaa ccagaaacag ac

22

<210> 79

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 79

caagcgggaa tctgaatctt tgttc

25

<210> 80

<211> 28

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 80

cttcgtacca tcttcctac ttcattgc

28