



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117617110 A

(43) 申请公布日 2024. 03. 01

(21) 申请号 202311596272.8

(22) 申请日 2023.11.28

(71) 申请人 上海市农业科学院

地址 201403 上海市奉贤区金齐路1000号
11号楼作物所

(72) 发明人 朱吉风 周熙荣 雷蕾 王伟荣
孟宪敏

(74) 专利代理机构 深圳国联专利代理事务所
(特殊普通合伙) 44465

专利代理人 苗星星

(51) Int. Cl.

A01H 1/02 (2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图3页

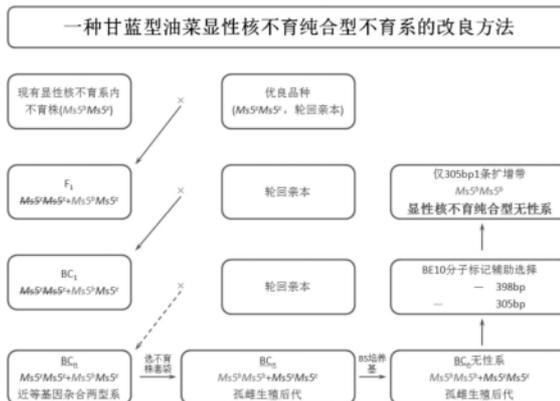
(54) 发明名称

一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法

(57) 摘要

本发明涉及一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法,基于甘蓝型油菜显性核不育遗传特性,以现有显性核不育系内不育株(基因型 $Ms5^aMs5^a$)为母本,优良品种(基因型 $Ms5^cMs5^c$,轮回亲本)为父本,通过杂交和连续回交,培育与轮回亲本近等基因的杂合两型系;然后直接对所培育的杂合两型系内不育株(基因型 $Ms5^bMs5^c$)进行套袋进行诱导孤雌生殖建立无性系;最后借助分子标记辅助选择,筛选出与轮回亲本近等基因的纯合型不育无性系(基因型 $Ms5^bMs5^b$),减少了回交等工作量。

一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型不育系的改良方法



1. 一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法,其特征在于:包括以下步骤:

步骤1.1、与轮回亲本近等基因的杂合两型系的选育:

步骤1.1.1、基于甘蓝型油菜显性核不育遗传特性,以现有显性核不育系内的不育株为母本,轮回亲本为父本杂交, F_1 群体不育株和可育株各占50%,其基因型分别为 $Ms5^bMs5^c$ 和 $Ms5^cMs5^c$;

步骤1.1.2、以 $Ms5^bMs5^c$ 的不育株为母本,与轮回亲本回交, BC_1 群体不育株和可育株各占50%,基因型分别为 $Ms5^bMs5^c$ 和 $Ms5^cMs5^c$;按照此方法连续做3次回交,培育与轮回亲本近等基因的杂合两型系;

步骤1.2、基于孤雌生殖获得纯合型无性系:

步骤1.2.1、以步骤1.1.2所培育的与轮回亲本近等基因的杂合两型系中的不育株为材料,花期用无纺布袋对顶部3-4个花序做套袋自交,成熟后剪下被套袋的主序或分枝,脱粒后收集种子;

步骤1.2.2、将所收种子经消毒后置于B5培养基发芽,出苗后按单株编号取样,建立无性系,基因型包括 $Ms5^bMs5^b$ 和 $Ms5^cMs5^c$;

步骤1.3、基于分子标记辅助选择显性核不育纯合型无性系:

步骤1.3.1、提取步骤1.2.2中所取叶片DNA,借助用分子标记BE10进行扩增检测,扩增带型为2种:398bp或305bp扩增带,其中305bp扩增带对应基因型为 $Ms5^bMs5^b$;

步骤1.3.1、筛选并保留305bp扩增带的单株进行扩繁,所得单株的显性核不育纯合型无性系,基因型为 $Ms5^bMs5^b$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法,其特征在于:所述步骤1.1.2所培育的与轮回亲本近等基因的杂合两型系中的不育株和可育株各占50%,基因型分别为 $Ms5^bMs5^c$ 和 $Ms5^cMs5^c$ 。

一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法

技术领域

[0001] 本发明涉及甘蓝型油菜育种技术领域,具体涉及一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法。

背景技术

[0002] 甘蓝型油菜作为世界重要油料作物,其杂种优势利用是提高其产量和品质、增强其抗逆性的有效途径。甘蓝型油菜显性核不育三系制种法是基于复等位基因(即野生型基因 $Ms5^c$,不育基因 $Ms5^b$,使不育基因恢复可育的基因 $Ms5^a$,三者的显隐性关系为 $Ms5^a > Ms5^b > Ms5^c$)控制的遗传模式,利用纯合两型系、临保系和恢复系三系配套来生产油菜杂交种子的一种方法。在制种过程中首先选用纯合两型系中的不育株(基因型 $Ms5^b Ms5^b$)和临保系(基因型 $Ms5^c Ms5^c$)杂交生产全不育系,次年再以全不育系为母本、恢复系(基因型 $Ms5^a Ms5^a$)为父本在自然隔离条件下生产杂交种子。

[0003] 一般在育种中,培育杂交种所用纯合型不育系主要通过以下步骤获取:

[0004] (1) 与轮回亲本近等基因的杂合两型系选育:以现有显性核不育系内不育株(基因型 $Ms5b Ms5c$)为母本,优良品种(基因型 $Ms5c Ms5c$,轮回亲本)为父本,通过杂交和连续回交,培育与轮回亲本近等基因的杂合两型系(基因型 $Ms5b Ms5c + Ms5c Ms5c$);

[0005] (2) 与轮回亲本近等基因的恢复系选育:以现有显性核不育恢复系(基因型 $Ms5a Ms5a$)为母本,以(1)所述轮回亲本为父本,开展杂交和连续回交。在回交过程中,以纯合型不育株(基因型 $Ms5b Ms5b$)为母本,对回交后代进行测交。选择育性有分离的测交组合相对应的回交后代,以轮回亲本继续回交。回交3次后,在与育性有分离的测交组合相对应的回交后代选株自交和测交,培育与(1)所述轮回亲本近等基因的恢复系(基因型 $Ms5^a Ms5^a$)。

[0006] (3) 纯合型不育系的选育:以(1)培育的杂合两型系内不育株(基因型 $Ms5b Ms5c$)与(2)所培育的恢复系(基因型 $Ms5a Ms5a$)杂交,并从其F1群体(基因型 $Ms5a Ms5b + Ms5a Ms5c$)中选株自交,自交后代出现育性分离的群体就是纯合型不育系(基因型 $1Ms5a Ms5a + 2Ms5a Ms5b + 1Ms5b Ms5b$)。

[0007] 目前现有技术存在以下缺点:回交转育工作量大,即必须分别以基因 $Ms5^a$ 和 $Ms5^b$ 为目标基因开展回交转育;基因型鉴定工作量大,因以基因 $Ms5^a$ 为目标开展回交转育时,回交后代必须与纯合型不育株做测交鉴定,以鉴定携带 $Ms5^a$ 的个体;需把 $Ms5^a$ 和 $Ms5^b$ 融入同一群体,即完成回交育种后,要把所培育的与轮回亲本近等基因的杂合两型系和恢复系再次杂交,将 $Ms5^a$ 和 $Ms5^b$ 融入同一后代群体后,再通过自交,最后筛选出纯合型不育系,其回交等工作量大。

发明内容

[0008] 本发明提供一种采用孤雌生殖结合分子标记辅助育种对甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系进行直接改良的方法,有效减少回交转育与基因型鉴定工作量,缩短育种年

限,能大幅度提高育种效率。

[0009] 一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法,具体操作步骤如下:

[0010] 步骤1.1与轮回亲本近等基因的杂合两型系的选育:

[0011] 步骤1.1.1基于甘蓝型油菜显性核不育遗传特性,以现有显性核不育系内的不育株(基因型 $Ms5^bMs5^c$)为母本,优良品种(基因型 $Ms5^cMs5^c$,轮回亲本)为父本杂交, F_1 群体不育株和可育株各占50%,其基因型分别为 $Ms5^bMs5^c$ 和 $Ms5^cMs5^c$;

[0012] 步骤1.1.2以 F_1 群体中基因型为 $Ms5^bMs5^c$ 的不育株为母本,与轮回亲本回交, BC_1 群体不育株和可育株各占50%,基因型分别为 $Ms5^bMs5^c$ 和 $Ms5^cMs5^c$ 。按照此方法连续做3次回交,培育与轮回亲本近等基因的杂合两型系;

[0013] 上述所培育的与轮回亲本近等基因的杂合两型系中的不育株和可育株各占50%,基因型分别为 $Ms5^bMs5^c$ 和 $Ms5^cMs5^c$;

[0014] 步骤1.2基于孤雌生殖获得纯合型无性系:

[0015] 步骤1.2.1以步骤1.1.2所培育的与轮回亲本近等基因的杂合两型系中的不育株为材料,花期用无纺布袋对顶部3-4个花序做套袋自交,成熟后剪下被套袋的主序或分枝,脱粒后收集种子;

[0016] 步骤1.2.2将步骤1.2.1所收种子经消毒后置于B5培养基发芽,出苗后按单株编号取样,建立无性系,理论基因型包括 $Ms5^bMs5^b$ 和 $Ms5^cMs5^c$;

[0017] 步骤1.3基于分子标记辅助选择显性核不育纯合型无性系:

[0018] 步骤1.3.1提取1.2.2中所取叶片DNA,借助用分子标记BE10进行扩增检测,扩增带型有2种:398bp或305bp扩增带,其中305bp扩增带对应基因型为 $Ms5^bMs5^b$;

[0019] 步骤1.3.1筛选并保留305bp扩增带的单株进行扩繁,所得单株(无性系)即本发明方法的显性核不育纯合型无性系,基因型为 $Ms5^bMs5^b$ 。

[0020] 本发明具有如下优点:

[0021] 无需以 $Ms5^a$ 为目标基因开展回交转育,也不需对回交其后代进行基因型鉴定;无需把基因 $Ms5^a$ 和 $Ms5^b$ 融入在同一群体,而是通过孤雌生殖后代的无性系直接获得纯合型不育无性系(基因型 $Ms5^bMs5^b$);

[0022] 综上本发明以现有杂合型不育株(基因型 $Ms5^bMs5^c$)为 $Ms5^b$ 供体,与优良品种(野生型 $Ms5^cMs5^c$,并作为轮回亲本)杂交和回交,培育与优良品种近等基因的杂合型不育系,其不育株率为50%。而在开花期对培育的杂合型不育系内不育株(基因型 $Ms5^bMs5^c$)进行套袋,通过诱导孤雌生殖后,将孤雌生殖获得的种子建立无性系,然后借助显性核不育基因 $Ms5$ 的分子标记BE10开展辅助选择,筛选出与轮回亲本近等基因的纯合型不育无性系(基因型 $Ms5^bMs5^b$),减少了回交等工作量。

附图说明

[0023] 图1是现有技术以基因 $Ms5^b$ 为目标回交转育与轮回亲本近等基因的杂合两型系的示意图。

[0024] 图2是现有技术以基因 $Ms5^a$ 为目标回交转育与轮回亲本近等基因的恢复系的示意图。

[0025] 图3是现有技术将基因 $Ms5^a$ 和 $Ms5^b$ 融入同一后代群体筛选纯合型不育系的示意图。

[0026] 图4是本发明一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法示意图。

具体实施方式

[0027] 下面结合附图对本发明做进一步的详细说明。

[0028] 结合附图4,一种甘蓝型油菜显性核不育纯合型无性系的改良方法,包括以下步骤:

[0029] 步骤1.1以基因Ms5^b为目标回交转育与轮回亲本近等基因的杂合两型系的选育:

[0030] 步骤1.1.1以现有显性核不育系内的不育株(基因型Ms5^bMs5^c)为母本,优良品种(基因型Ms5^cMs5^c,轮回亲本)为父本杂交,F₁群体不育株和可育株各占50%,其基因型分别为Ms5^bMs5^c和Ms5^cMs5^c;

[0031] 步骤1.1.2以1.1.1所述F₁群体中基因型为Ms5^bMs5^c的不育株为母本,与轮回亲本回交,BC₁群体不育株和可育株各占50%,基因型分别为Ms5^bMs5^c和Ms5^cMs5^c。按照此方法连续做3次回交,培育与轮回亲本近等基因的杂合两型系;

[0032] 上述所培育的与轮回亲本近等基因的杂合两型系中的不育株和可育株各占50%,基因型分别为Ms5^bMs5^c和Ms5^cMs5^c;

[0033] 步骤1.2基于孤雌生殖获得纯合型无性系:

[0034] 步骤1.2.1以1.1.2所培育的与轮回亲本近等基因的杂合两型系中的不育株为材料,花期用无纺布袋对顶部3-4个花序做套袋自交,成熟后剪下被套袋的主序或分枝,脱粒后收集种子;

[0035] 步骤1.2.2将1.2.1所收种子经消毒后置于B5培养基发芽,出苗后按单株编号取样,建立无性系,理论基因型包括Ms5^bMs5^b和Ms5^cMs5^c;

[0036] 步骤1.3基于分子标记辅助选择显性核不育纯合型无性系:

[0037] 步骤1.3.1提取1.2.2中所取叶片DNA,借助用分子标记BE10进行扩增检测,扩增带有2种:398bp或305bp扩增带,其中305bp扩增带对应基因型为Ms5^bMs5^b;

[0038] 步骤1.3.1筛选并保留305bp扩增带的单株进行扩繁,所得单株(无性系)即本案发明的显性核不育纯合型无性系(基因型为Ms5^bMs5^b)。

[0039] 本发明在具体实施时,本发明以现有杂合型不育株(基因型Ms5^bMs5^c)为Ms5^b供体,与优良品种(野生型Ms5^cMs5^c,并作为轮回亲本)杂交和回交,培育与优良品种近等基因的杂合型不育系,然后在开花期对培育的杂合型不育系内不育株(基因型Ms5^bMs5^c)进行套袋,利用诱导孤雌生殖后获得的种子建立无性系,然后借助显性核不育基因Ms5的分子标记BE10开展辅助选择,筛选出与轮回亲本近等基因的纯合型不育无性系(基因型Ms5^bMs5^b)。

[0040] 现有技术:参考图1-2,须针对基因Ms5^b和Ms5^a开展回交转育,以获取与轮回亲本近等基因的杂合两型系和恢复系,此外,对获得的与轮回亲本近等基因的恢复系必须与纯合型不育株做测交鉴定,以鉴定携带Ms5^a的个体,其回交转育和基因型鉴定的工作量大。参考图3,最后需将图1与图2获得的2个近等基因系再次杂交、自交后,才能筛选出纯合型不育系,工作年限及工作量较大。

[0041] 本发明的优点:以现有显性核不育系内不育株(基因型Ms5^bMs5^c)为母本,优良品种(基因型Ms5^cMs5^c,轮回亲本)为父本,通过杂交和连续回交,培育与轮回亲本近等基因的杂合两型系;然后直接对所培育的杂合两型系内不育株(基因型Ms5^bMs5^c)进行套袋进行诱导

孤雌生殖建立无性系;最后借助分子标记辅助选择,筛选出与轮回亲本近等基因的纯合型不育无性系(基因型 $Ms5^bMs5^b$)。

[0042] 本发明实施例:

[0043] 2017年以全不育系4166CA为母本,从贵州省油菜研究所的双低杂交种‘D4818’中选育的黄籽自交系‘16-3111’为父本,杂交。

[0044] 2018年以杂交 F_1 代‘17-3278’中的不育株为母本,黄籽自交系‘16-3111’为轮回亲本,回交。

[0045] 2019年以 BC_1 群体‘18-3308’中的不育株为母本,黄籽自交系‘16-3111’为轮回亲本,回交。播种前挑除黑褐色种子,仅选播褐黄色种子。

[0046] 2020年以 BC_2 群体‘19-3243’中的不育株为母本,黄籽自交系‘16-3111’为轮回亲本,回交,种子为褐黄色。

[0047] 2021年以 BC_3 群体‘20-3225’中选不育株套袋后获得 BC_3F_2 褐黄色种子5粒。

[0048] 2021年以 BC_3F_2 种子‘210347’为供体,建立无性系,以分子标记BE10对5个无性系进行分子标记辅助选择。经鉴定,无性系‘210347-2’和‘210347-5’仅有305bp扩增带,表明这2个无性系的基因型为 $Ms5^bMs5^b$ 。

[0049] 无性系‘210347-5’经扩繁后,定植在选种圃,2022年与黄籽自交系‘16-3111’测交。测交后代‘22-3207’花期育性鉴定显示,12个单株全部为雄性不育株。

[0050] 以上对本发明及其实施方式进行了描述,这种描述没有限制性,实际的结构并不局限于此。总而言之如果本领域的普通技术人员受其启示,在不脱离本发明创造宗旨的情况下,不经创造性的设计出与该技术方案相似的结构方式及实施例,均应属于本发明的保护范围。

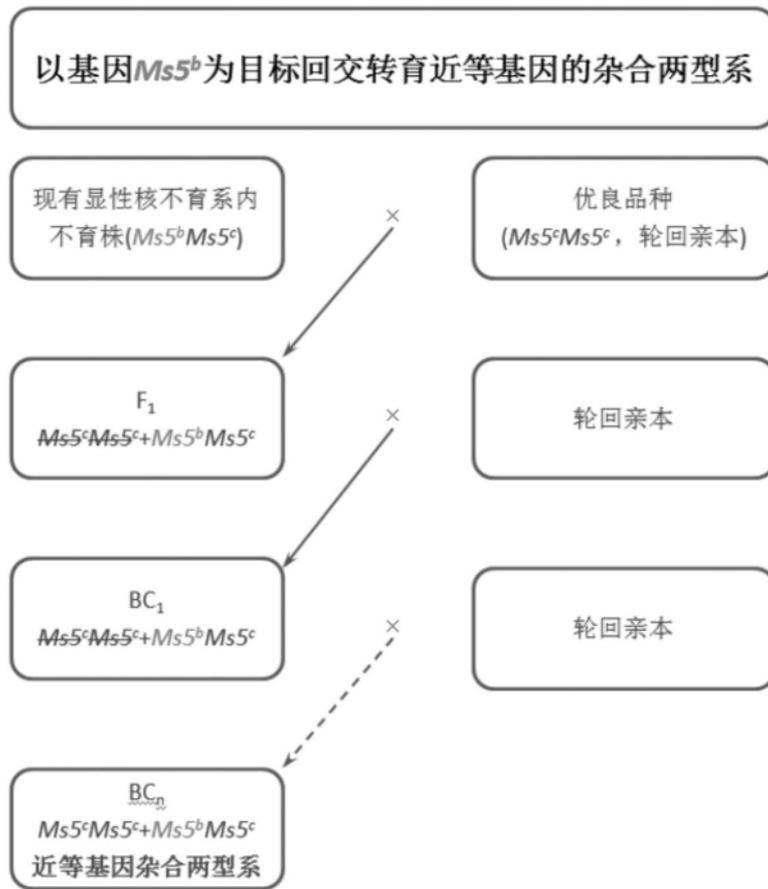


图1

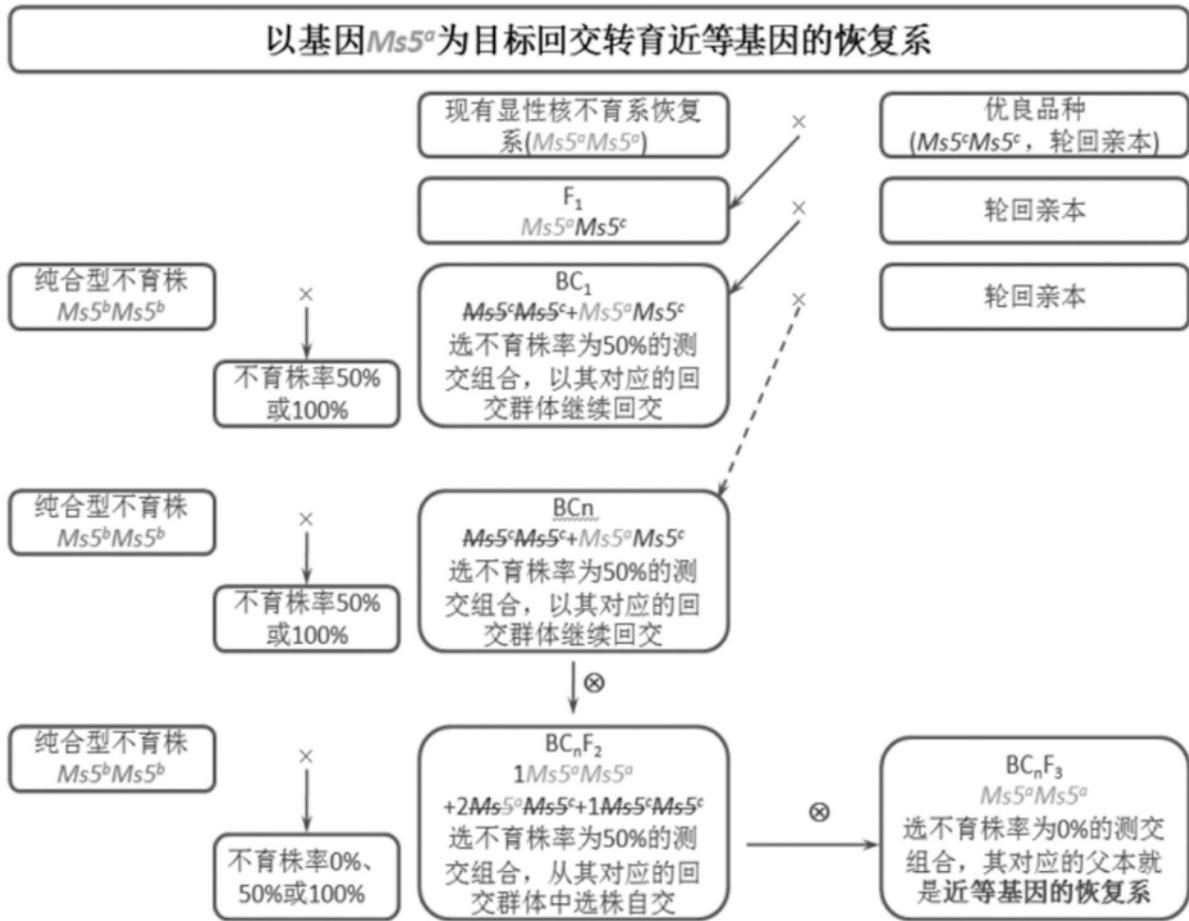


图2

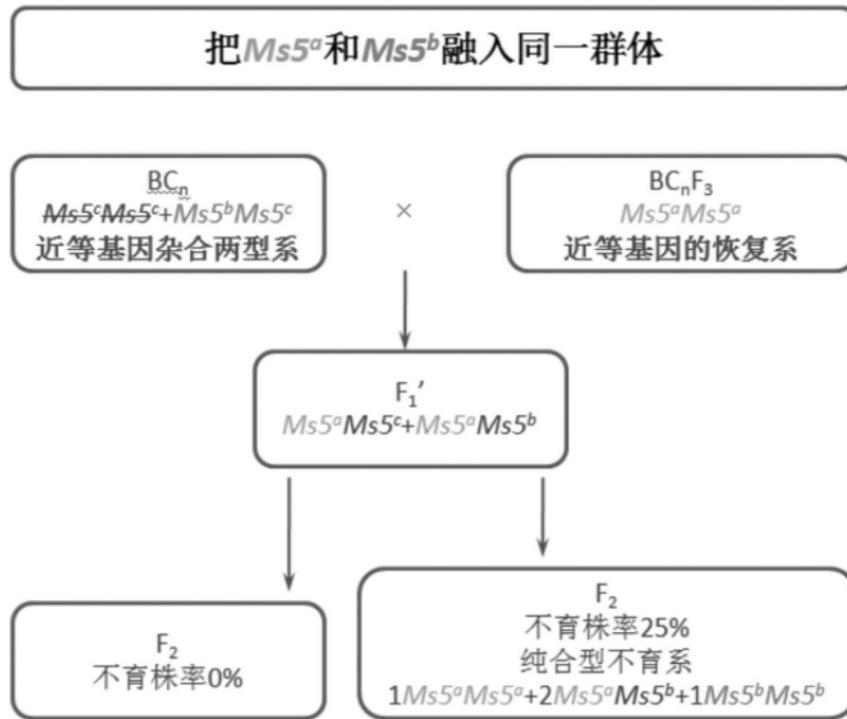


图3

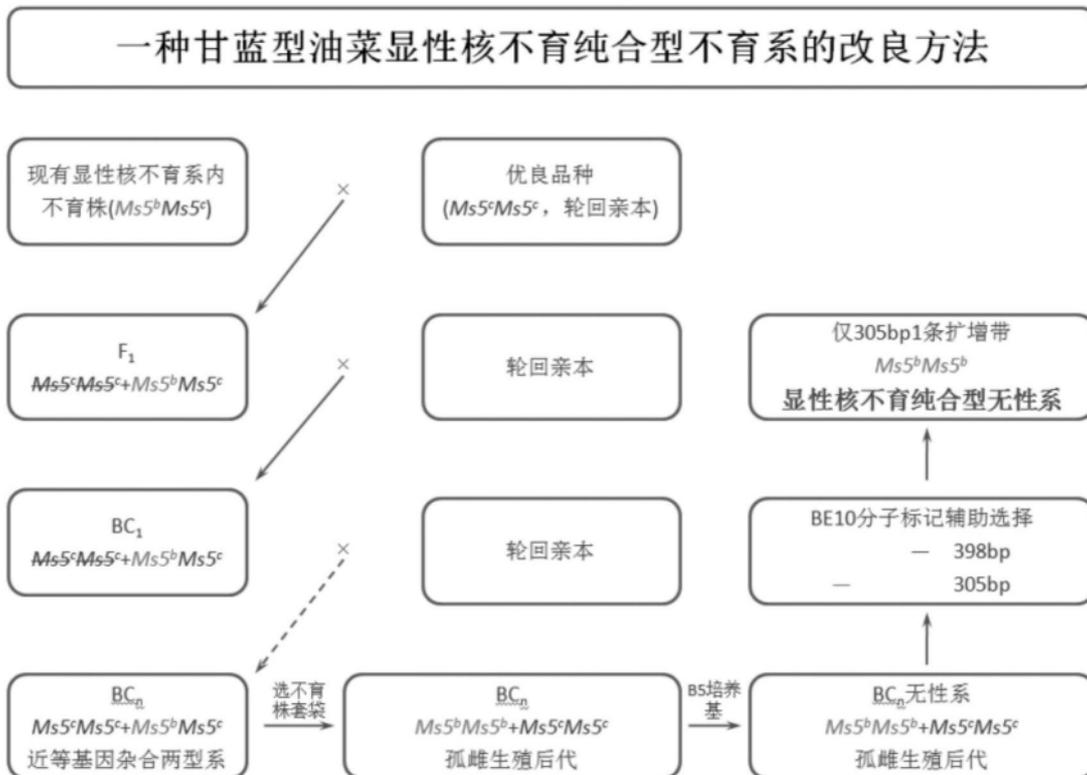


图4