

水稻台中 65 与其花粉不育近等基因系的杂种 F₁ 的裂药性研究

张志胜, 卢永根*, 冯九焕, 刘向东, 张桂权

(华南农业大学广东省植物分子育种重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 以台中 65 及其 7 个 F₁ 花粉不育近等基因系为材料, 对水稻亚种间杂种 F₁ 裂药性及其与小穗育性的关系进行了研究。结果表明, 杂种 F₁ 的裂药性受花粉不育基因互作控制。不同杂合座位内等位花粉不育基因互作导致杂种 F₁ 花药不开裂的程度不同, *S-b* 座位导致杂种 F₁ 部分花药不开裂; 不同杂合座位间非等位花粉不育基因互作明显降低杂种 F₁ 的裂药程度; 杂种 F₁ 中含杂合花粉不育基因座位数越多, 其裂药指数越小, 裂药程度越低, 含三个杂合花粉不育基因座位的杂种 F₁ 裂药指数为 2.27, 35.3% 的花药不开裂。杂种 F₁ 花药不开裂的原因随其所含的杂合花粉不育基因座位种类和数目不同而异。杂种 F₁ 裂药程度的下降显著减少落在其柱头上的花粉总数和萌发的花粉数。杂种 F₁ 裂药指数和结实率呈极显著的正相关关系。

关键词: 水稻; 花粉不育基因; 亚种间杂种; 裂药性; 基因互作

中图分类号: S511.01

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395 (2004) 06-0521-07

Studies on the Anther Dehiscence in F₁ of Hybrids between Taichung 65 and Its F₁ Pollen Sterility Near Isogenic Lines

ZHANG Zhi-sheng, LU Yong-gen*, FENG Jiu-huan, LIU Xiang-dong, ZHANG Gui-quan
(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Japonica rice cultivar, Taichung 65, and its seven F₁ pollen sterility near isogenic lines were employed to study the impact of pollen sterility locus on anther dehiscence in hybrid F₁ using the anther dehiscence index as indicator. The results showed that the anther dehiscence trait was controlled by genic interaction of pollen sterility loci. Allelic interaction at different pollen sterility loci resulted in different degree of anther indehiscence in hybrid F₁. Allelic interaction at *S-b* locus resulted in part of anther indehiscence in hybrid F₁. Genic interaction between pollen sterility loci obviously decreased the anther dehiscence ability. The more heterozygous pollen sterility loci the hybrid F₁ had, the worse anther dehiscence the hybrid F₁ was. The hybrid of T65×TISL245 had three heterozygous pollen sterility loci, its anther dehiscence index was only 2.27 and the anther dehiscence ability was worst. The main causes resulting in poor anther dehiscence in hybrid F₁ were different with the kind and the number of heterozygous pollen sterility loci. The anther dehiscence markedly decreased the total number of pollen grains and the number of pollen grains germinated on stigma. The positive correlation between anther dehiscence index and spikelet fertility was extremely significant.

Key words: *Oryza sativa*; Pollen sterility gene; Intersubspecific hybrid; Anther dehiscence; Gene interaction

水稻籼粳亚种间杂种 F₁ 具有强大的杂种优势, 但 F₁ 普遍存在的杂种半不育性限制了杂种优势的

直接利用。为了更有效地利用籼粳杂种优势, 进一步提高水稻产量, 国内外对水稻亚种间杂种不育性

收稿日期: 2003-12-09 接受日期: 2004-06-16

基金项目: 国家自然科学基金(39970048); 广东省自然科学基金(00018); 霍英东教育基金(71021)资助

* 通讯作者 Corresponding author

进行了大量研究。结果表明,籼粳亚种间杂种不育性是一个复杂的遗传现象,由多个基因控制^[1]。杂种不育性可表现为雌性不育、雄性不育、花药不开裂和雌雄异熟等多种类型^[2]。

Kitamura^[3]首先报道了因花药不开裂而引起水稻杂种 F₁ 结实率低的现象(转引自 Kaul^[4])。随后的研究表明,籼粳亚种间杂种 F₁ 普遍存在花药开裂不正常的现象^[5-10],花药不开裂可能是导致籼粳亚种间杂种 F₁ 不育的一个重要原因^[2,8,10]。但以往研究均以品种为材料,无法消除遗传背景的影响,同时,对导致杂种 F₁ 花药不开裂的遗传及其细胞学原因缺乏深入的研究。

张桂权、卢永根等^[1,11,12]利用粳稻品种台中 65 及其 F₁ 花粉不育近等基因系进行的研究认为,杂种不育性主要表现为花粉不育,花粉育性至少由 6 个 F₁ 花粉不育基因座位(*S-a*, *S-b*, *S-c*, *S-d*, *S-e*, *S-f*)控制,其中 *S-a* 座位引起 32.9% 的花粉败育,*S-b* 和 *S-c* 座位分别引起 77.2% 和 47.1% 的花粉败育。这些座位间的花粉不育基因互作进一步降低了杂种 F₁ 的花粉育性和小穗育性。尔后,他们又培育出以台中 65 为遗传背景的分别携带有 *S-a*、*S-b* 和 *S-c* 等不同基因座位的花粉不育近等基因系,并进行了分子定位^[13-15]。本研究以台中 65 及其花粉不育近等基因系为材料,对其杂种 F₁ 裂药性以及与小穗育性的关系进行研究,以揭示籼粳亚种间杂种 F₁ 中普遍存在的花药开裂不正常现象的遗传学和细胞学原因,为最终克服栽培稻亚种间杂种不育性提供指导。

1 材料和方法

材料 以粳稻品种台中 65 (Taichung 65, T65) [在 *S-a*、*S-b* 和 *S-c* 座位上携带等位基因 *S'S'*] 为母本,台中 65 为遗传背景的花粉不育近等基因系 TISL2 (在 *S-b* 座位上携带 *S'S'*)、TISL4 (在 *S-a* 座位上携带 *S'S'*)、TISL5 (在 *S-c* 座位上携带 *S'S'*)、TISL24 (在 *S-a* 和 *S-b* 座位上携带 *S'S'*)、TISL25 (在 *S-b* 和 *S-c* 座位上携带 *S'S'*)、TISL45 (在 *S-a* 和 *S-c* 座位上携带 *S'S'*) 和 TISL245 (在 *S-a*、*S-b* 和 *S-c* 座位上携带 *S'S'*) 为父本,采用离体穗杂交法杂交获得 F₁ 种子,以籼稻品种广陆矮 4 号 (Guangluai4) 作对照。台中 65、近等基因系、杂种 F₁ 和广陆矮 4 号于 2000 和 2001 年春种植于华南农业大学教学实验农场,常规方法管理。

裂药性观察 水稻刚刚闭颖时采集花药,在

双目解剖镜下观察花药开裂情况,按下列标准进行分级:5 级—花药完全开裂,散粉彻底,散粉后花药呈白色(图 1A);4 级—花药上下孔裂,孔裂大,散粉基本彻底,散粉后花药呈白色(图 1B);3 级—花药上下孔裂,孔裂小或两个药室只有一个开裂,部分散粉,散粉后花药呈黄白色(图 1C);2 级—花药端部开裂,裂孔很小,少量散粉,散粉后花药呈浅黄色(图 1D);1 级—花药不开裂,不散粉,花药黄色(图 1E);并将各级别的花药数和相对应的级别数乘积除以调查的花药总数,所得到的值定义为裂药指数 (Dehiscence index)。其计算公式如下:

$$\text{裂药指数} = \frac{\sum(\text{级别} \times \text{该级别花药数})}{\text{调查花药总数}}$$

裂药指数的最大值为 5,最小值为 1,裂药指数的值越大,表示裂药性越好。

裂药性细胞学观察 取即将开花的小穗切掉稃端和小枝梗,投入 3% 戊二醛 + 1.5% 聚甲醛混合固定液中 (PHEM 缓冲液 pH7.0) 固定, PHEM 缓冲液冲洗 3 次后,乙醇系列脱水,然后用新型塑料包埋剂 7022 Leica Histo-resin 进行渗透包埋,室温下聚合。包埋好的材料用玻璃刀切片,厚度为 4 μm,切片用 0.01% 的甲苯氨兰 (1% 四硼酸钠溶液配制) 在 45℃ 下染色 5 min,冲洗凉干后在 Leica DMRXA 自动显微镜下观察和拍照^[16]。花粉育性观察采用 I₂-KI 染色法。

柱头花粉粒数目和花粉萌发观察 参考胡适宜^[17]的方法。取当天开花的小穗固定于 FAA 溶液中,经 50%、30%、15% 乙醇系列复水后,去除外稃,将雌蕊和内稃置于 5 mol/L NaOH 溶液中透明 5 h,蒸馏水冲洗 3 次后去除内稃,将雌蕊放在滴有 0.05% 脱色苯胺兰 (anline) 溶液的载玻片上染色压片,然后在 Leica DMRXA 自动荧光显微镜下观察和拍照。

2 结果分析

2.1 杂种 F₁ 裂药性及其遗传基础

观察台中 65 及其 F₁ 花粉不育近等基因系、杂种 F₁ 和广陆矮 4 号的花药开裂情况发现,在晴朗无风的天气下,水稻开花半小时后用手轻弹广陆矮 4 号、台中 65 及其 F₁ 花粉不育近等基因系的开花植株均有大量的花粉散出,广陆矮 4 号散粉情况比台中 65 好;T65×TISL2、T65×TISL4 和 T65×TISL5 的杂种 F₁ 也均有大量花粉散出;T65×TISL24、T65×

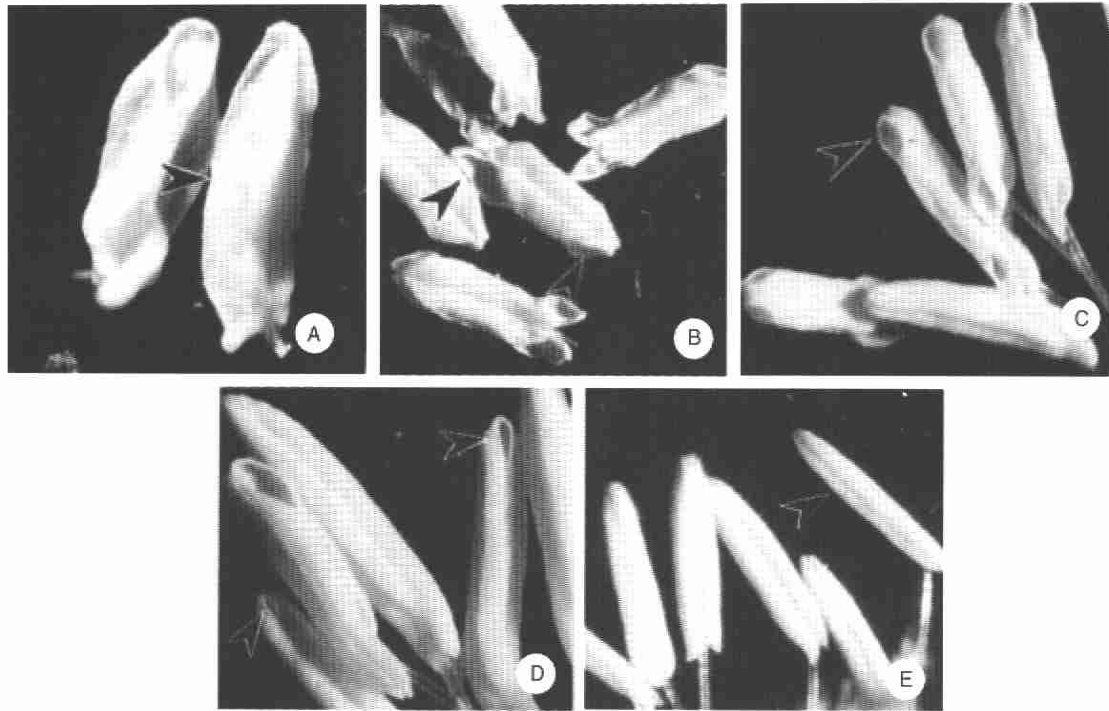


图 1 水稻花药开裂分级

Fig. 1 Classification of anther dehiscence in rice

A: 完全开裂的花药(箭头); 5 级 ×100; B: 上下孔裂的花药(箭头); 4 级 ×75; C: 孔裂小的花药(箭头); 3 级 ×50; D: 孔裂很小的花药(箭头); 2 级 ×112.5; E: 不开裂的花药(箭头); 1 级 ×62.5. A: Completely dehiscent anthers (arrowhead), grade 5×100; B: Anther with a large hole on both end (arrowhead), grade 4×75; C: Anther with a small hole on one or both end (arrowhead), grade 3×50; D: Anther with a very small hole on one or both end (arrowhead), grade 2×112.5; E: Indehiscent anthers (arrowhead), grade 1×62.5.

TISL25 和 T65×TISL45 有部分花粉散出; 而 T65×TISL245 只有少量花粉散出。表明不同杂交组合的杂种 F₁ 及其亲本的花药开裂情况不同。亲本的花药开裂比杂种 F₁ 好。

双目解剖镜下观察广陆矮 4 号、台中 65 和各杂种 F₁ 刚刚闭颖时的花药, 统计其各级别花药数, 并计算裂药指数(表 1)。结果表明, 台中 65 花药散

粉彻底, 裂药指数为 4。杂种 F₁ 的裂药指数一般均小于 4, 存在不同程度花药开裂不正常现象。广陆矮 4 号裂药指数为 4.28, 裂药性最好。这一结果和手弹观察散粉结果一致。

杂种 F₁ 花药开裂不正常是由 F₁ 花粉不育基因互作控制的(表 1)。不同座位等位花粉不育基因互作导致杂种 F₁ 花药不开裂的程度不同, S-b 座位等

表 1 花粉不育基因互作对杂种 F₁ 裂药性的影响

Table 1 Influence of pollen sterility gene interaction on anther dehiscence in hybrid F₁

材料 Materials*	花药总数 Total number of anthers observed	花药开裂级数 Grades of anther dehiscence					裂药指数 Anther dehiscence index
		1	2	3	4	5	
T65	204	0	0	0	204	0	4.00
T65×TISL2 (S-b)	204	12	0	6	186	0	3.79
T65×TISL4 (S-a)	204	0	0	7	197	0	3.97
T65×TISL5 (S-c)	204	0	0	0	204	0	4.00
T65×TISL24 (S-a, S-b)	204	9	9	47	139	0	3.55
T65×TISL25 (S-b, S-c)	204	27	7	46	124	0	3.31
T65×TISL45 (S-a, S-c)	204	19	0	16	169	0	3.64
T65×TISL245 (S-a, S-b, S-c)	204	72	34	69	29	0	2.27
广陆矮 4 号 Guangluai 4	192	0	0	0	139	53	4.28

* 括号内基因座位为杂合 F₁ 花粉不育基因座位。Gene loci in parentheses are heterozygous pollen sterility loci in hybrid F₁.

位花粉不育基因互作导致杂种 F_1 部分花药不开裂, 裂药指数为 3.79; $S-a$ 、 $S-c$ 座位对杂种 F_1 裂药性没有影响。不同座位间花粉不育基因互作明显降低了杂种 F_1 裂药指数; 杂种 F_1 中含杂合花粉不育基因座位数越多, 其裂药指数越小, 裂药程度越低; 含三个杂合花粉不育基因座位的杂种 F_1 的裂药指数为 2.27, 其花药开裂情况复杂, 1-4 级均有, 35.3% 的花药完全不开裂。不同座位花粉不育基因互作对杂种 F_1 裂药性影响程度不同, $S-b$ 、 $S-c$ 座位互作对杂种 F_1 裂药性影响最大, 明显提高不开裂花药数。

2.2 杂种 F_1 裂药性的细胞学观察

从表 2 可以看出, 不同杂交组合花药不开裂的原因不一样。T65×TISL2 的 F_1 花药的药室退化率和无裂腔药室率分别为 6.67% 和 16.67%, 明显比 T65 高。这表明裂药性差主要是由药室退化(图 2A)、花药缺乏裂腔(图 2B)或形成的裂腔小(图 2C)引起的; T65×TISL2 的 F_1 药室中存在大量的败育花粉, 其花粉育性为 23.05%, 说明大量败育花粉的产生也可能是引起该组合杂种 F_1 花药不开裂的原因之一。T65×TISL24 和 T65×TISL25 的 F_1 花药的畸形药室率分别为 65.00% 和 66.67%, 明显高于 T65, 其花粉育性分别为 16.93% 和 12.13%, 明显低于 T65。表明, 这两个组合花药不开裂主要是由药室严重畸形(图 2D; 表 2)和花粉败育程度高引起的。此外, 形成的“弹簧”弱(图 2E)也是引起这两个组合杂种 F_1 花药不开裂的原因之一。虽然台中 65 的药室畸形率也很高, 但它的药室畸形并不严重(图 2F), 同时, 正常发育的花粉(图 2G)和弹簧(图 2H)使花药开裂时有足够的弹力, 保证正常开裂。T65×TISL45 和 T65×TISL245 的 F_1 花药无裂腔药室率分别为 36.36% 和 34.48%, 而对照仅为 4.55%, 表明花药缺

乏裂腔或形成的裂腔小是导致这两个组合花药不开裂的主要原因; 此外药室畸形、形成的“弹簧”弱及花粉败育程度高也是引起杂种 F_1 花药不开裂的原因。在 T65×TISL4 和 T65×TISL5 的杂种 F_1 花药中存在较高比例的药室合并现象(图 2I), 但这两个组合花药开裂基本正常, 表明药室合并可能不是花药不开裂的主要原因。

2.3 柱头上附着花粉量与裂药性和杂种结实率的关系

自然和人工辅助授正常花粉条件下散落在柱头上的花粉总数和花粉萌发数见表 3。在人工辅助授正常花粉条件下, 杂种 F_1 和台中 65 的柱头一样能够正常接受花粉, 花粉在杂种 F_1 柱头上的萌发率比在台中 65 的高。表明杂种 F_1 柱头发育正常, 不受花粉不育基因互作的影响, 推测杂种 F_1 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数的差异不是由柱头引起的。

从表 3 可见, 在自然授粉条件下花粉不育基因互作显著降低杂种 F_1 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数。含单个杂合花粉不育基因座位的杂种 T65×TISL4 ($S-a$)、T65×TISL2 ($S-b$) 和 T65×TISL5 ($S-c$) 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数没有显著差异; 不同座位间花粉不育基因互作进一步降低了 F_1 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数, 含杂合 $S-a$ 和 $S-c$ 座位的 T65×TISL45 杂种 F_1 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数显著高于 T65×TISL24 (杂合座位为 $S-a$ 和 $S-b$) 和 T65×TISL25 杂种 (杂合座位为 $S-b$ 和 $S-c$); 含 3 个杂合花粉不育基因座位的 T65×TISL245 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数显著低于含 2 个杂合花粉不育基因座位的。说明杂种 F_1 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数显著低于台中 65 是由于 F_1 的裂药性差引起的。裂药指数和自然授粉条件下杂种 F_1 柱头上的花粉总数、萌发的花粉数和

表 2 杂种 F_1 花药不开裂的细胞学观察
Table 2 Cytological data for anther indehiscence in hybrid F_1

材料 Materials	药室总数 Total number of AL observed	畸形药室率 Malformed AL (%)	合并药室率 Merged AL (%)	退化药室率 Degenerated AL (%)	无裂腔药室率 AL without dehiscent cavity (%)	花粉育性 Pollen fertility (%)
T65	168	48.21	0.00	0.60	4.55	95.83±2.46
T65×TISL2	120	16.67	3.33	6.67	16.67	23.05±1.18
T65×TISL4	192	8.33	5.73	7.81	12.07	52.03±0.91
T65×TISL5	144	34.72	2.78	2.08	6.25	45.34±2.92
T65×TISL24	120	65.00	0.00	0.00	5.45	16.93±2.57
T65×TISL25	144	66.67	1.39	0.69	4.11	12.13±2.88
T65×TISL45	156	35.90	1.92	2.56	36.36	20.15±3.42
T65×TISL245	132	40.15	0.00	0.00	34.48	5.30±1.28

AL=Anther locule

杂种 F₁ 结实率的相关系数分别为 0.8087($t=3.0738$)、0.7957($t=2.7376$)和 0.9478($t=6.6488$), 均达显著水平。自然授粉情况下杂种 F₁ 柱头上的花粉总数、萌发的花粉数与杂种 F₁ 结实率的相关系数分别为

0.8105($t=3.0937$)和 0.8596($t=3.7611$), 达显著水平。这说明杂种 F₁ 裂药性的降低导致落到 F₁ 柱头上的花粉总数和萌发的花粉数明显减少, 从而引起杂种 F₁ 结实率降低。

表 3 自然和人工辅助授粉条件下落在柱头上的花粉量和结实率

Table 3 Number of pollen grains on stigma and seed setting percentage by natural and artificial pollinations

材料 Materials	自然授粉 Natural pollination			人工辅助授粉 Artificial pollination	
	花粉总数 Total number of pollen grains on stigma	萌发花粉数 Number of germinated pollen grains on stigma	结实率 Seed set (%)	花粉总数 Total number of pollen grains on stigma	花粉萌发率 Pollen germination rate (%)
T65	70.22a ¹⁾	27.89a	91.30	82.41	33.62
T65×TISL2	30.46b	16.54b	85.19	95.48	51.76
T65×TISL4	30.65b	13.16bc	89.02	105.81	52.19
T65×TISL5	30.55b	16.81b	86.27	81.63	47.31
T65×TISL24	5.13d	3.91de	75.70	55.61	37.27
T65×TISL25	7.58d	7.00d	56.73	105.20	64.23
T65×TISL45	20.66c	12.00c	80.84	92.62	52.94
T65×TISL245	1.60d	2.40e	43.43	64.32	44.50

1) $t_{0.05,5}=2.571$, $t_{0.01,5}=4.032$; 同一栏中字母相同的两平均数间差异不显著 Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at $\alpha=0.05$ level.

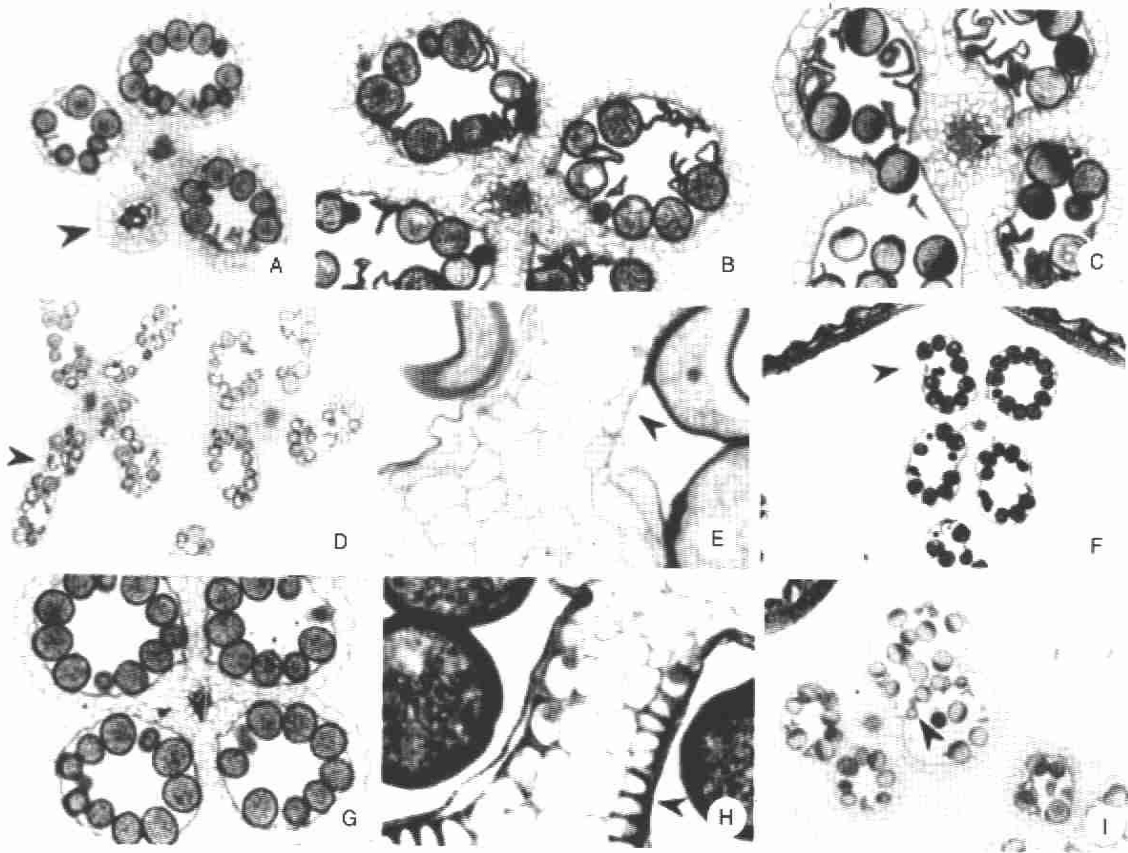


图 2 水稻花药不开裂的细胞学观察

Fig. 2 Cytological observation of anther indehiscence

A: 药室退化(箭头)×100; B: 无裂腔(箭头)×200; C: 裂腔小(箭头)×200; D: 畸形药室(箭头)×100; E: 弱弹簧(箭头)×1000; F: 台中 65 的畸形的药室(箭头)×100; G: 正常药室和裂腔(箭头)×200; H: 正常发育的弹簧(箭头)×1000; I: 合并药室(箭头)×100.
A: Degenerated anther locule(arrowhead)×100; B: Anther locule without dehiscence cavity (arrowhead)×200; C: Anther locule with a small dehiscence cavity (arrowhead)×200; D: Malformed anther locule (arrowhead)×100; E: Weakened spring (arrowhead)×1000; F: Malformed anther locule in T65 (arrowhead)×100; G: Normal anther locules and dehiscence cavity(arrowhead)×200; H: Normal spring (arrowhead)×1000; I: Merged anther locules (arrowhead)×100

3 讨论

杂种不育性是有效利用籼粳亚种资源的最大障碍。已有的研究表明,花药开裂不正常可能是导致栽培稻亚种间杂种 F_1 不育的一个重要原因^[2,8]。本研究结果表明,各杂种 F_1 均存在不同程度的花药开裂不正常现象;杂种 F_1 裂药性的降低显著地减少了落在柱头上的花粉总数和萌发的花粉数,从而导致杂种 F_1 结实率低。杂种 F_1 裂药指数和结实率呈极显著的正相关关系,表明花药开裂不正常是导致杂种 F_1 结实率低的重要原因之一。

Kitamura^[3]的研究结果表明,杂种 F_1 花药不开裂是由细胞质基因引起的。刘永胜等^[2]的研究结果认为,不同遗传型的籼、粳交组合不开裂的药室数存在显著差异,在典型籼、粳杂种 F_1 中不开裂的药室数为 34.5%。Maekawa 等^[9]对由花药不开裂引起的杂种不育性进行了基因分析,结果表明,杂种 F_1 花药不开裂是由三对显性互补基因控制的。本研究结果表明,杂种 F_1 花药不开裂是由花粉不育基因互作控制的。

在多数籼粳亚种间杂交组合中,杂种 F_1 花药不开裂均伴随着花粉败育。结实率、花粉可育率和开花散粉习性之间有较密切的联系^[5]。本研究结果也表明,花药开裂不正常的杂种 F_1 花粉育性也很低,裂药指数和花粉育性之间存在显著的正相关关系($r=0.7764$, $t=2.7547$, $t_{0.05,5}=2.571$)。由于亚种间杂种不育性主要是由核基因控制的,象 Maekawa 等^[9]发现的花粉育性正常,而由于花药不开裂导致杂种 F_1 不育的籼粳杂交组合也不常见,因此,今后只要通过提高杂种 F_1 的花粉育性,便能够解决一般亚种间组合中存在的花药开裂不正常现象。

周善滋^[19]研究了水稻花药开裂过程和不开裂的细胞学机理,认为雄性不育水稻花药不开裂或是由于无“药室间组织间隙”(裂腔)的存在或是由于形成很微弱的“弹簧”。Cheng 和 Huang^[20]研究了由细胞质引起的不育花药的解剖结构,认为中层和表皮的强烈加厚、花粉壁细胞的不同排列和花粉囊外表皮皱缩是引起花药不开裂的原因。王以秀等^[6]认为籼粳亚种杂种 F_1 花药不开裂的原因是花药缺乏裂腔或裂腔小。刘永胜等^[2]报道不开裂花药的表皮细胞形状不规则,膨大也不够充分,开花时存在大量败育花粉粒。本研究结果表明,杂种 F_1 花药不开裂的细胞学原因随其所含的花粉不育基因的种类

和数目不同而异,花药不开裂除了已发现的花药无裂腔或裂腔小、表皮细胞形状不规则和开花时存在大量败育花粉粒的原因外,“弹簧”弱、药室退化和药室畸形也可能是导致杂种 F_1 花药不开裂的重要原因。

参考文献

- [1] Zhang G Q(张桂权), Lu Y G(卢永根), Zhang H(张华), et al. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa*). IV. Genotypes for F_1 pollen sterility [J]. Acta Gen Sin (遗传学报), 1994, 21 (1):35-42. (in Chinese)
- [2] Liu Y S(刘永胜), Sun J S(孙敬三), Zhou K D(周开达), et al. Cytological basis causing spikelet sterility of inter subspecific hybrid in *Oryza sativa* [J]. Acta Biol Exp Sin (实验生物学报), 1997, 30:355-359. (in Chinese)
- [3] Kitamura E. Studies on cytoplasmic sterility of hybrids in distantly related varieties of rice, *Oryza sativa* L. I. Fertility of the F_1 hybrids between strains derived from certain Philippine \times Japanese variety crosses and Japanese varieties [J]. Jpn J Breed, 1962, 12(2):81-84. (in Japanese)
- [4] Kaul M L H. Male Sterility in Higher Plant [M]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. 469-470.
- [5] Li X Q(李新奇). Improvement of spikelet fertility of *indica-japonica* hybrid using wide-compatibility gene in rice (*Oryza sativa*) [J]. Hybrid Rice (杂交水稻), 1988, (3):31-33. (in Chinese)
- [6] Wang Y X(王以秀), Yan J Q(严菊强), Xue Q Z(薛庆中), et al. Cytological studies on partial male sterility of F_1 hybrids between subspecies in rice [J]. Acta Zhejiang Agri Univ (浙江农业大学学报), 1991, 17(4):417-422. (in Chinese)
- [7] Zhu X H(朱晓红), Cao X Z(曹显祖), Zhu Q S(朱庆森), et al. Cytological studies on spikelet sterility of *indica-japonica* hybrids in rice [J]. Chin J Rice Sci (中国水稻科学), 1996, 10(2):71-78. (in Chinese)
- [8] Zhu X H, Cao X Z, Zhu Q S. Investigation on gametophytic sterility and its contribution to spikelet sterility of F_1 plants of *indica-japonica* in rice [J]. Acta Agron Sin, 1998, 24(4):421-430.
- [9] Maekawa M, Inukai T, Shimbashi N, et al. Spikelet sterility in F_1 hybrids between rice varieties Silewah and Hayakogane [J]. Jpn J Breed, 1991, 41:359-363.
- [10] He G H(何光华), Zheng J K(郑家奎), Yin G D(阴国大), et al. Gamete fertility of F_1 between *Indica* and *Japonica* [J]. Chin J Rice Sci (中国水稻科学), 1994, 8(3):177-180. (in Chinese)
- [11] Zhang G Q(张桂权), Lu Y G(卢永根). Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa*). I. Diallel analysis of the hybrid sterility among isogenic F_1 sterile lines [J]. Chin J Rice Sci (中国水稻科学), 1989, 3(3):97-101. (in Chinese)
- [12] Zhang G Q, Lu Y G. Genetics of F_1 pollen sterility in *Oryza sativa*. In: Khush G S. Rice Genetics III. Proceedings of the third International Rice Genetics Symposium [M]. Manila: IRRRI. 1996. 418-422.

- [13] Zhuang C X(庄楚雄), Zhang G Q(张桂权), Mei M T(梅曼彤), et al. Molecular mapping of the *S-a* locus for F₁ pollen sterility in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Acta Gen Sin (遗传学报), 1999, 26:213-218. (in Chinese)
- [14] Zhang Z M(张泽民), Zhang G Q(张桂权). Fine mapping of the *S-c* locus and marker-assisted selection using PCR markers in rice [J]. Acta Agron Sin (作物学报), 2001, 6:704-709. (in Chinese)
- [15] Li W T, Zeng R Z, Zhang Z M, et al. Mapping of *S-b* locus for F₁ pollen sterility in cultivated rice using PCR based Markers [J]. Acta Bot Sin, 2002, 44 (4):463-467.
- [16] Feng J H(冯九焕), Lu Y G(卢永根), Liu X D(刘向东), et al. Pollen development and its stages in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Chin J Rice Sci (中国水稻科学), 2001, 15(1):21-28. (in Chinese)
- [17] Hu S Y(胡适宜). Method of preparation of slides used to examine the pollen germination on the stigma and pollen tube growth in the style [J]. Chin Bull Bot (植物学通报), 1994, 11(2):58-60. (in Chinese)
- [18] Maekawa M, Inukai T, Shinbashi N, et al. Genetic analysis of hybrids sterility caused by anther indehiscence between distantly related rice varieties [J]. Euphytica, 1997, (94):311-318.
- [19] Chou S Z(周善滋). Cytological observations on tissue structure and opening inner factors of anther of male fertile and male sterile lines in rice [J]. Acta Gen Sin (遗传学报), 1978, 5(2):125-132. (in Chinese)
- [20] Cheng Y, Huang C H. Studies on cytoplasmic-genetic male sterility of cultivated rice (*Oryza sativa* L.). I. Effect of different cytoplasm sources on male abnormalities at anthesis [J]. J Agr Assoc China New Series, 1979, 106:1-22.