

水稻光敏核不育系 HN5s 不育性的遗传分析

张再君^{1,2} 梁承邺² 戴绍均¹

(¹湖北农学院农学系 湖北荆州 434103; ²中国科学院华南植物所 广东广州 510650)

摘要 利用 Co^{60} - γ 辐照与 NaN_3 (Sodium azide) 复合处理及成熟胚培养的方法, 诱发不育性稳定的籼型光敏核不育系 HN5s 产生可育突变体, 通过不同突变体的自交, 相互杂交及其与 HN5s 测交, 并在人工控制光温条件下鉴定不育性, 研究 HN5s 不育性的遗传。结果显示: 在人工诱变的条件下, HN5s 可以产生育性恢复和长日高温不育而长日低温可育两类可育突变体, HN5s 的不育性受两对隐性核基因控制, 其中一对不育基因的作用较强, 另一不育基因的作用较弱。当作用强的不育基因突变为作用弱的不育基因时, 光敏不育系转变为温敏不育系。推断光敏核不育性的稳定性与不育系(或品种)对自然诱变因素的敏感性有关。同时本文还讨论了光敏核不育系不育性不稳定的原因及选育稳定的光敏核不育系时应注意的问题。

关键词 光敏核不育; HN5s; 遗传分析

中图分类号: S511 **文献标识码:** A

Genetic Analysis on the Sterility in Indica PGM Rs HN5s

ZHANG ZaiJun^{1,2} LIANG Cheng-Ye² DAI Shao-Jun¹

(¹Hubei Agricultural College, Jingzhou, Hubei 434103; ²South China Institute of Botany, Chinese Academy of Science, Guangzhou 510650, China)

Abstract We obtained the two kinds of fertile mutants from the offsprings of the induced HN5s with the method of the combined treatment of the Co^{60} - γ irradiation, NaN_3 (Sodium azide) and mature embryo culture. The one is the fertile revertant under the natural length-day, high and low temperature. The other one is the male sterile under the natural length-day, high temperature while is fertile revertant under the control length-day, low temperature. To study the genetic behavior of male sterility in the Photoperiod Sensitive Genic Male Sterile Rice (PGM Rs) line HN5s by utilizing the fertile revertants, we made the revertants self-pollinated, test-cross between the HN5s and its fertile mutants and identified the male sterility of the offsprings of the crosses and self-pollenates under the control photo-thermal conditions. It was showed that the male sterility in HN5s was due to the two pairs recessive allele, a pair of male sterile gene with strength-express and a pair of male sterile gene with weak-express. When the strength-express male sterile gene was induced into the weak-express male sterile gene, the PGM Rs was changed into Thermal Sensitive Genic Male Sterile Rice (TGM Rs). The stability of the male sterility of PGM Rs was related with the sensitive of the male sterile to the mutagenic factor. In addition, this paper stresses on the question of the causes of the undulation in male sterility of PGM Rs and how to breed a stable PGM Rs.

Key words Photoperiod sensitive; Genic Male Sterile Rice; HN5s; Genetic analysis

光温敏核不育水稻的发现为我国杂交水稻的研究与利用开辟了新途径, 引起了全世界水稻育种家的高度重视。但是 1989 年盛夏长江中下游地区出现的罕见低温, 使这些两用不育系出现不同程度的可育现象以及其后在研究中发现的光温敏核不育系

的不育起点温度“漂移”现象, 一直困扰着育种家。虽然一些育种家提出了利用光温敏核不育水稻的有关策略, 但不育性的“漂移”问题没有最终解决^[1]。光敏核不育性是一复杂的遗传性状, 不同的不育系中光敏不育基因位点可能很不相同^[2]。经典遗传学

基金项目: 湖北省教委青年科学基金资助项目(批准号: 96C13)

联系方式: E-mail: zj-zhang@scib.ac.cn or zj-zhang@163.net

Received on (收稿日期): 2000-08-29, Accepted on (接受日期): 2001-06-04

的方法研究光敏核不育性存在一定的局限性^[3]。HN 5s 是湖北农学院水稻育种研究室选育的粳型光温敏核不育系, 1992 年通过湖北省专家技术鉴定, 并定名。1993 年通过国家自然科学基金重大项目验收, 该不育系具有不育下限起点温度低(< 23) 的特点^[4], 但在湖北不能繁殖, 自 1992 年以来的多年研究与利用中, HN 5s 的不育性始终保持稳定, 并未出现育性“漂移”, 研究这类不育系的稳定性无疑有助于深入了解光温敏核不育性的遗传本质。本文报道了利用人工诱发突变体研究光敏核不育水稻不育性遗传的结果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

HN 5s(湖北农学院水稻遗传育种研究室选育, 繁殖生产), 珍汕 97A。

1.2 诱变处理方法同前^[5]

1996 年将含水量为 12.8% 的 HN 5s 和珍汕 97A 分别以 150、200、250 和 300 Gy 的 Co^{60} - γ 射线(剂量率为 1.84 Gy/min)处理后, 自来水预浸种子 14h, 滤干, 置于 pH 3.0 的磷酸缓冲液配制的 2.0 mmol/L NaN_3 溶液中, 在摇床上振荡处理 20h(抽风通气), 再用自来水冲洗 30 min。

1.3 成熟胚培养

将经 250 Gy、300 Gy 辐照的 HN 5s, 用 NaN_3 处理后, 将种子烘干, 去壳, 用 70% 酒精表面消毒 1 min, 再用 0.1% HgCl_2 消毒 12~15 min, 同时振荡或搅拌无菌水冲洗 4~5 次, 吸干水分, 接种于诱导培养基上, 接种材料在 26℃ 下暗培养 2~3 周后, 将愈伤组织转移到分化培养基上, 待带根和芽的小苗长出后, 再转移到只含 0.05 mg/L NAA 的培养基上, 使其长成健壮的小植株。诱导培养基: NB^[6] 即 N6 培养基的大量元素, B5 培养基的微量元素和有机物, 附加 CH 300 mg/L + Proline 500 mg/L + 2, 4-D 2 mg/L, pH 5.8, sucrose 60 g/L, Agarose 4 g/L。分化培养基: 基本培养基 NB + KT 2 mg/L + NAA 0.05 mg/L, pH 5.8, Sucrose 30 mg/L + Agarose 4 g/L。生长培养基: 1/2MS 培养基的无机盐, B5 培养基的有机物, NAA 0.05 mg/L, pH 5.8, Sucrose 30 g/L + Agar 6~8 g/L。

1.4 田间种植及突变体的观察

诱变处理后的 HN 5s 5 月 16 日播种, 6 月 10 日单本插秧, 同时将胚培养成苗的植株种植于田

间。抽穗期及割蔸再生抽穗期, 午前 10:30~11:30, 下午 13:00~14:30 田间观察花药颜色, 大小, 散粉状况并辅以镜检。择花粉可育突变体及时与 HN 5s 杂交, 套代自交收种并留两穗考察自然结实率。可育突变体相互杂交。

1.5 遗传分析

种植全部自交及杂交 F_1 。择后代中的可育株镜检花粉育性, 考种自然结实率, 统计株数; 而对不育株则分蔸, 一半置于田间观察再生育性, 一半置于温光室做长日(≥ 13.5 h)、低温 23℃ 处理, 以考察不育性的稳定性, 育性标准参考文献^[7]。

2 结果与分析

2.1 HN 5s 与珍汕 97A 育性回复突变体突变率的比较

经诱变处理后的 HN 5s 和珍汕 97A^[5]表现的育性回复突变的比较(见表 1)。在 150 Gy、200 Gy 时, 珍汕 97A 即产生育性回复突变, 突变率达 3.67×10^{-3} , HN 5s 则无育性恢复突变; 在 250 Gy、300 Gy 时珍汕 97A 可育突变率分别为 2.0×10^{-3} 和 2.5×10^{-3} , 与 HN 5s 的突变率在同一数量级; 另外从突变植株的表现形式看, 珍汕 97A 的整株变异多于非整株变异(仅主穗发生变异, 而分蘖穗不发生变异), 以整株变异为主, 而 HN 5s 则相反, 非整株变异多于整株变异, 以非整株变异为主。由上可见: HN 5s 对诱变处理的敏感性相对较差, 我们推测这可能是在多年的研究和利用中, HN 5s 保持不育性的稳定而不产生“漂移”的原因之一。另外 250 Gy、300 Gy 的 Co^{60} - γ 辐照和 NaN_3 复合处理后的 HN 5s, 经成熟胚培养, 分别得到再生植株 572 株, 491 株(再生诱导率为 25.37%、20.63%)。其中得到的可育变异株分别为 6 株, 5 株, 可育株率分别为 1.05%、1.02%。这一比例远大于经诱变处理后直接播种于田间的表现情况。尽管如此, 这一比例仍远小于范树国等^[7]对农垦 58s 进行幼穗培养的结果, 由此说明农垦 58s 对诱变(培养)相对较敏感, 而 HN 5s 相对钝感, 这样 HN 5s 不育性表现相当稳定也是可以理解的。

2.2 可育突变体的类型及特征

在初步分析中, 参照范树国等^[7]育性划分标准, HN 5s 的育性恢复可育突变体可分为正常可育, 长日低温可育两种类型。但是依据花粉育性和自然结实率的集中分布状况, 正常可育的突变体又可分为

表 1 珍汕 97A 和 HN5s 诱发可育突变的比较
Table 1 The comparison of fertility revertants induced by mutagens in Zhenshan 97A and HN5s

处理 Treatment	不育系 Sterile line	群体株数 No. of plants	育性恢复变异 Variation of fertility revertants				再生可育 No. of fertile plants after ratooning
			整株 Whole plant	非整株 No whole plant	总株数 Total plant	突变率 Rate of mutation	
150 Gy	Zhenshan 97A	3000	8	3	11	3.67×10^{-3}	0
	HN 5s	3000	0	0	0	0	
200 Gy	Zhenshan 97A	3000	6	5	11	3.67×10^{-3}	0
	HN 5s	3000	0	0	0	0	
250 Gy	Zhenshan 97A	3000	3	4	7	2.33×10^{-3}	1
	HN 5s	2000	1	3	4	2.00×10^{-3}	
250 Gy+ Culture	HN 5s	572	6	0	6	1.05×10^{-2}	3
300 Gy	Zhenshan 97A	3000	0	3	3	1.00×10^{-3}	0
	HN 5s	2000	2	3	5	2.50×10^{-3}	
300 Gy+ Culture	HN 5s	491	5	0	5	1.02×10^{-2}	3

为两类: I 类突变体花粉可育率为 56.5%~68.3%, 自然结实率为 61.5%~65.4%, 该类突变体共计 10 株, II 类突变体花粉可育率为 41.7%~48.8%, 自然结实率为 42.3%~45.7%, 该类突变体共计 6 株; 长日低温可育是指在湖北荆州长日自然(夏季)条件下不育, 经长日低温鉴定为可育, 短日自然(秋季)条件下再生可育, 花粉可育率为 33.7%~54.8%, 自然结实率为 37.0%~52.3%。此类称为 III 类突变体, 该类突变体共 7 株。

2.3 HN5s 不育性的遗传

试验中分别选取花粉可育率和自然结实率接近各类突变体平均值的几个突变体的自交种子, 相互杂交种子及与 HN 5s 测交 F₁, 观察后代的花粉育性分离状况(见表 2)。在 I、II 类自交及测交后代中, 虽然可育与不育的比分别符合 3:1 和 1:1 的比

例, 但可育株的花粉可育率和自然结实率的平均值均接近亲代突变体的表现, 说明 I、II 类突变体分别是由 HN 5s 的两个不同不育单基因突变的结果, 而且这两个不育单基因的作用强度不一样, I 类突变体是由作用较强的不育基因突变产生的, 该不育基因的恢复导致高花粉可育性; II 类突变体则是由作用较弱的不育基因突变形成的, 该不育基因的恢复导致相对较低的花粉可育性。同样在 I × II 杂交 T₅ × T₈, T₂ × T₇ 后代中, 虽然可育与不育的比分别符合 3:1, 但在可育群体中, 除了有亲代突变体的可育类型(I, II)外, 还出现了花粉可育率达到 75% 以上, 自然结实率达到 80% 以上的可育株, 这说明该类可育株是两个突变的可育基因同时出现的结果, 进一步证实 HN 5s 是由两对不育基因控制的。III 类突变体的自交后代群体中, 在荆州长日自然条

表 2 I、II、III 类突变体自交及与 HN5s 测交后代长日条件下花粉育性分离表现
Table 2 The segregation of pollen in the test-cross and self-cross in I、II、III mutant under long-day

材料 Line	突变类型 Type of mutation	总株数 No. of plant	自然条件下花粉可育度 Rate of pollen fertility under natural Conditions						人工控制 23℃ 下花粉可育度 Rate of pollen fertility under men-control 23 Centigrade							
			> 50		1~40		30~3		> 50		1~40		30~3			
			1	40	1	50	3	30	1	40	1	50	3	30		
T ₅	I	79	55	2			22	3	1(0.207)	57			22	3	1(0.207)	
T ₅ × HN 5s		63	33				30	1	1(0.064)	33			30	1	1(0.064)	
T ₇	II	47		30	3		14	3	1(0.348)		38	1	8	3	1(1.596)	
T ₇ × HN 5s		52		26	2		24	1	1(0.173)		28	2	22	1	1(0.942)	
T ₉	II	50		35	3		12	3	1(0)	2	34	4	10	3	1(0.427)	
T ₉ × HN 5s		57		28	2		27	1	1(0.070)	3	27	2	25	1	1(0.632)	
T ₁₂	I	85	55	4	1		25	3	1(0.663)	60	3	1	21	3	1(0.004)	
T ₁₂ × HN 5s		57	27	2			28	1	1(0.0)	28	2	1	26	1	1(0.0)	
T ₁₆	I	74	50	3	1		20	3	1(0.072)	54	2	2	16	3	1(0.288)	
T ₁₆ × HN 5s		55	27		2		26	1	1(0.073)	29	1	4	21	1	1(1.818)	
T ₂₂	III	65			2	63				8	30	14	1	12	3	1(0.621)
T ₂₂ × HN 5s		44			1	43				4	16	6	2	16	1	1(1.114)
T ₂₅	III	55				55				1	28	13	2	11	3	1(0.006)
T ₂₅ × HN 5s		47			1	46				2	16	10	3	16	1	1(1.362)
T ₅ × T ₈	I × II	87	54	4	1		27	3	1(1.383)	60	5	2	1	19	3	1(0.096)
T ₂ × T ₇	I × II	77	53		2		22	3	1(0.351)	56	4	1	16	3	1(0.524)	

件下全为不育,而在长日低温(23℃)下可育:不育为3:1;同样在测交后代中,长日自然条件下全为不育,长日低温时,可育:不育为1:1,而且长日低温下的可育植株在短日条件下仍然可育,这类突变体的后代表现说明经诱变处理后HN5s的不育性完全发生了变化,形成了高温敏不育株。但这种高温敏不育株的产生是强烈诱变的结果,而自然界绝无此强烈的诱变环境,可见HN5s的稳定与HN5s对诱变的敏感性密切相关。不仅如此,当我们详细观察这些突变株的自交后代不育株的不育类型时发现,HN5s原属典败不育类型,而诱变后突变体的自交后代出现了圆败和染败的不育类型,但典败不育类型仍是主要的败育类型。这样看来光敏核不育水稻不育起点温度“漂移”是否与自然诱变因素及水稻品种本身对自然诱变因素的敏感性有关是值得进一步研究的。另外从自交后代的分析看,I、II类突变体的自交后代不出现高温敏不育株,而III类突变体的自交后代出现了高温敏不育株,说明I、II类突变体与III类突变体是突变的不同结果。从这些可育突变体的自交、测交试验结果和花粉可育率的程度,结合景润春^[12]的研究推测各类突变体的基因型如表3。表3中ms1为作用较强的隐性不育基因,M s1为相应的显性可育基因,m S1为对应于ms1或M s1作用较弱的不育基因,三者的作用强度顺序是M s1>ms1>m S1;ms2为作用较弱的隐性不育基因,M s2为相应的显性可育。I、II类突变体的基因型和表现型特征容易理解。对于III类突变体,根据张锐等^[11]研究,光敏核不育基因在短日条件下仍然表达,由于水稻是短日植物,短日光周期是其形态建成和育性表达的适宜条件,因此在短日或长日条件下,雄性核不育基因都程度不同地表达,但在适宜育性表达的短日光周期和温度条件下,雄性核不育基因的作用可以最大限度地被抵消,相关的其他育性基因表达得比较充分,致使光

敏核不育系的育性恢复但花粉的可育程度降低。m S1m s1m s2m s2在长日自然(高温)条件下ms1、ms2表达充分,ms1的作用大于m S1,使m S1m s1m s2m s2表现为不育,在长日低温或短日时,ms1、m S1、ms2表达减弱,而其他相关育性基因的充分表达,使m S1m s1m s2m s2可育。在m S1m s1m s2m s2的自交后代中,m s1m s1m s2m s2与HN5s一样,在长日高、低温条件下均不育,只在海南短日低温条件下可育;而m S1m s1m s2m s2则是长日低温可育、短日自然(秋季)条件下再生可育,m S1m S1m s2m s2则在长日自然(高温)下即表现不育,长日低温下可育,属高温敏不育株。

3 讨论

光敏核不育基因的遗传已有多种不同的研究成果,但这些结果均不能很好地解释或说明为什么存在不育性的遗传漂移现象。虽然有学者提出不育性遗传漂移的主要原因是不育系遗传上尚未达到纯合^[1],但很难想象许多多基因控制的农艺性状已经纯合,而不育基因在多代低温选择后仍出现不育性的漂移。HN5s只经几代纯合和两次低温选择便达到纯合稳定而至今尚未出现不育性的漂移。E. D. Earle等^[13]认为细胞质雄性不育CMS需要长期继代培养才能产生可育的恢复突变体,而核基因不发生突变,但范树国等^[7]对农垦58s幼穗培养后发生了育性恢复突变体,而W 6154s并未出现可育突变体,说明核不育基因在培养条件下也可发生育性恢复突变,只是不同的水稻品种存在敏感性的差异。在自然条件下,这种可育突变的机率很低,很难发现,但经过多代自交和杂交的累积,可育的程度增加,比例增大,最终导致育性的“漂移”。本实验仅用150 Gy和200 Gy的Co⁶⁰-γ辐照HN5s均未形成可育突变体,但在高强度的诱变条件下产生长日高温不育、长日低温可育的突变体,说明光敏核不育水稻的不育性的育性“漂移”可能是基因突变后发生自交、相互杂交进一步累积的结果,只是不同的水稻品种对自然和人工诱变因素的敏感性不同,对诱变敏感的核不育系(或品种)容易产生不育性的漂移,而不敏感的品种则不易产生不育性的漂移。

控制光敏核不育性的基因是一对,二对或更为复杂,不同的研究材料获得的实验结果不一致,但是在农垦58s与农垦58的杂交组合中,多数作者取得了一致的结果,即由一对基因控制。这一结果

表3 HN5s及各类突变体的基因型与表现型特征
Table 3 Character of the phenotype and genotype of HN5s and its mutant

突变体 Mutant	基因型 Genotype	表现型特征 Character of phenotype
HN 5s(CK)	m s1m s1m s2m s2	稳定的光敏核不育 stable PGM R s
I M utant	M s1m s1m s2m s2	可育 high fertility
II M utant	m s1m s1M s2m s2	低可育 low fertility
III M utant	m S1m s1m s2m s2	再生可育 fertility under short-day and sterile under long-day



的获得是因为农垦 58 与农垦 58s 只有一对基因的差异。我们在试验中利用 HN 5s 和诱变 HN 5s 获得的不同可育突变体的杂交, 使杂交亲本的遗传差异降低到最小的程度, 而且采用人工控制光温条件鉴定不育性的真实性, 结果认为 HN 5s 是由两对作用强度不同的不育基因控制的, 一对不育基因的作用, 而另一对不育基因的作用较弱, 这与张启发等^[14]以粳型光敏核不育系 32001s 与明恢 63 杂交 F2 为作图群体, 用 RFLP 分子标记分析获得的 pm s1 的效应远大于 pm s2 的结论相同。

从 HN 5s 的选育过程看, HN 5s 的核不育基因最终来源于农垦 58s, 但其直接亲本粳 1s 属温敏不育系, 比较粳 1s 和 HN 5s 说明: 核不育基因在不同的遗传背景中可以有不同的表现。朱英国^[8]、张晓国^[9]、陈雄辉^[10]等认为水稻品种的感光性与光敏不育性之间存在密切的关系, 不育基因在强感光的遗传背景中表达完全, 而在弱感光的遗传背景中表达相对较差。结合本研究的结果, 我们认为, 虽然在理论上光敏核不育基因是由两对基因控制的, 可以通过人工杂交转育到其他品种中去, 但要使不育基因完整地表达并且使不育性稳定表达, 还应考虑受体品种的感光性及其对于诱变因素的敏感性。在育种上要得到不育性稳定并能在湖北秋季繁殖的不育系, 对粳籼稻应区别对待, 由于粳稻对短日光周期反应敏感, 在短日光周期条件下, 有利于水稻发育的形态建成, 粳稻中核不育基因受到其他育性基因的抵消程度更大, 因而导致短日光周期下可育; 而籼稻对短日光周期的反应相对迟钝, 在短日光周期条件下, 籼稻中核不育基因受到其他育性基因的抵消程度较小, 因而导致短日光周期下仍不育, 需要在更短的光照(海南冬季)才能较好地繁殖。HN 5s 是一个不育性非常稳定的粳型光敏不育系, 但在湖北不能繁殖, 试验中我们的初始目的是保持 HN 5s 不育性的稳定改良其繁殖特性, 诱变的结果是可繁殖的突变不育株的不育性不能保持稳定。

References

- [1] Liao F-M (廖伏明), Yuan L-P (袁隆平). A discussion on genetically purifying P(T)GM S rice lines in critical sterility inducing temperature *Hybrid Rice* (杂交水稻), 1996, (6): 1~4
- [2] Mei M-H (梅明华), Chen L (陈亮), Zhang Zh-H (章志宏), Li Z-Y (李子银) et al. Identification of mutagenic gene locus for photoperiod sensitive male sterility in the original mutant Nongken 58s and further mapping in pms3 region *Science in China serial C* (中国科学 C 辑), 1999, 29(3): 310~315
- [3] Sun Z-X (孙宗修), Cheng Sh-H (程式华), Si H-M (斯华敏). Evaluation of the research approaches to inheritance of photoperiod sensitive Genic(aenic?) male sterile rice *Hereditas*(Beijing) (遗传) 15(6): 35~37, 1993
- [4] Ma L-Y (马来运), Dai Sh-J (戴绍均). Breeding of hunong 5s and studies on its Characteristic of Fertility alternation *Hybrid Rice* (杂交水稻), 1996, (1): 3~5
- [5] Zhang Z-J (张再君), Fan Sh-G (范树国), Liu L (刘林), Liang Ch-Y (梁承邨) et al. Mutagenic effects of the combined treatments with ⁶⁰Co- γ rays and sodium azide on the CMS Zhenshan 97A. *Acta Botanica Sinica* (西北植物学报), 2000, 20(2): 229~233
- [6] Tian W-Zh (田文忠). Improvement of plant regeneration frequency in vitro in *indica* rice *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 1994, 21(3): 215~221
- [7] Fan Sh-G (范树国), Liang Ch-Y (梁承邨). An observation on male fertility variation of R1 and R2 generations in somachnes of rice *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 1995, 22(4): 293~301
- [8] Zhu Y-G (朱英国), Yang D-Ch (杨代常), Yu J-H (余金洪), Zhang X-G (张晓国). Studies on genetics and utilization of sterility with Hubei photoperiod-sensitive genic male-sterile rice (HPGMR), *Journal of Wuhan University* (Natural edition) (武汉大学学报). 1992, (2): 112~118
- [9] Zhang X-G (张晓国), Zhu Y-G (朱英国). Studies on genetic polymorphism of sterility of photoperiod sensitive genic male-sterile rice (PGMR), *Journal of Wuhan University* (Natural edition) (武汉大学学报). 1992, (2): 101~105
- [10] Chen X-H (陈雄辉), Wan B-H (万帮惠). Studies on the relationship between photoperiodic response themoperiodic response and photoperiod-temperature sensitive male sterility in rice *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1993, 19(3): 282~287
- [11] Zhang R (张锐), Xue G-X (薛光行), Song J-X (宋家祥). Abnormality in male organ development and fertility of potoperiod sensitive genic male sterile rice plants under short-day condition. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 1999, 41(12): 1317~1322
- [12] Jing R-Ch (景润春). Genetic study on the photoperiod-sensitive genic male fertility of *indica* HPGMR HN 5s Dissertation for Master Degree (Wuhan): Huazhong Agricultural University (硕士学位论文[武汉]: 华中农业大学). 1997
- [13] E. D. Earle, V. E. Best et al. Fertile revertants from S-type male-stem aize grown in vitro *Theor Appl Genet*, 1987, 74: 601~609
- [14] Zhang Q, Shen B Z, Dai X K et al. Using bulked extremes and recessive class to map genes for photoperiod sensitive genic male sterility in rice *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 8675~8679