

野败型育性恢复基因在 AA 基因组野生稻中的分布与遗传

李绍清 杨国华* * 李绍波 朱英国 李阳生*

(武汉大学植物发育生物学教育部重点实验室, 武汉大学生命科学学院, 湖北武汉 430072)

摘要: 分析了野败型恢复基因在 AA 基因组野生稻的分布。结果表明:(1) 在 31 份野生稻中, 有 16 份含有恢复基因, 分布频率达 51.6%。(2) 6 个 AA 基因组野生稻种中有 4 个种存在恢复基因, 但主要集中于 *O. rufipogon* 和 *O. nivara*。(3) 在所鉴定的 16 份野生稻恢复系中, 对野败型花粉育性恢复力大于 80% 和 50%~80% 的各 6 份, 小于 50% 的 4 份; 强恢复源主要来自印度次大陆的一年生野生稻 *O. nivara* 中。(4) 在随机选择的 8 份野生稻中, 除 w15 含双基因外, 其他的都只含有 1 对野败型恢复基因; 对其中的 6 份野生稻的等位性分析表明, 至少涉及 3 个恢复基因位点。

关键词: AA 基因组野生稻; 野败细胞质雄性不育; 恢复基因; 分布与遗传

中图分类号: S511.9

Distribution and Inheritance of the Fertility Restorer Genes for WA-CMS in Wild Rice with AA Genome

LI Shao-Qing, YANG Guo-Hua* *, LI Shao-Bo, ZHU Ying-Guo, LI Yang-Sheng*

(Key Laboratory of Ministry of Education for Plant Developmental Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, Hubei, China)

Abstract: It is very important to research the fertility restorer genes (*Rf*) for cytoplasmic male sterility (CMS) in wild rice for our better understanding the origin of the *Rf*, the interaction between cytoplasm and nuclear, and the development of new restorer lines. For such an end, the distribution and inheritance of the *Rf* for Wild-abortive (WA) CMS in wild rice with AA genome were investigated. The results showed that: (1) Sixteen out of the 31 test-crossed wild rice accessions were identified having *Rf* genes, and the frequency of the *Rf* in wild rice accessions was 51.6%. (2) The wild rice accessions with *Rf* fell into four species of genus *Oryza*, and majority of them belonged to the species of *O. nivara* and *O. rufipogon*. (3) The fertility of the microspores in the spikelets of the hybrid F₁ between Yuetai A and wild rice accessions ranged from 10% - 90%, of which, six wild restorer accessions' F₁ were over 80%, six accessions 50% - 80%, and the other four accessions lower than 50%. Majority of the accessions with complete restoring ability belong to the annual specie of *O. nivara*. (4) The distribution of the wild rice accessions with *Rf* were imbalance in geography, 14 accessions from Asia and two wild rice accessions from Africa carried restorer genes, the wild rice accessions from Oceania and Latin America all contained no *Rf* for WA-CMS. (5) Apart from one out of the randomly selected eight accessions having two pairs of restorer genes, the other seven accessions all possessed only one pair of restorer allele. Further allelic analysis showed that among of the six randomly selected accessions, the *Rf* alleles in w15, w29 and w34 were all unparallel to that of Milyang 23, and whereas the *Rf* between w15 and w34 was also unparallel. Therefore, we speculate that there are at least three restorer alleles in the six tested wild restorer lines.

Key words: Wild rice with AA genome; WA-CMS; Fertility restorer gene; Distribution and inheritance

稻属共有 24 个种, 但栽培稻种只有亚洲栽培稻和非洲栽培稻 2 个种, 其余都是野生稻。根据基因

组型的不同, 野生稻可分为 AA、BB、CC、DD、BBCC、CCDD、EE、FF、GG、HHIJ 等组型, 除 BBCC、CCDD 组

*基金项目: 国家“973”项目(2001CB108806)和国家自然科学基金项目(30270149)资助。

作者简介: 李绍清(1966-), 男, 博士, 主要从事植物发育遗传研究。* *与第一作者有同等贡献。*通讯作者: 李阳生。E-mail: lysh21cn@163.com

Received(收稿日期): 2004-02-06, Accepted(接受日期): 2004-03-10.

型为四倍体外,其余都是二倍体^[1]。野生稻有许多经过长期自然选择进化而来的有利基因,开发利用这些有利基因对于促进水稻产量、品质、抗性的提高,满足人类生活需要、缓解日益增长的人口压力具有重要意义^[2]。稻属AA基因组野生稻与栽培稻的亲缘关系最近,其中野生稻族 *O. rufipogon*/*O. nivara* 是亚洲栽培稻的祖先,*O. breviligulata* 是非洲栽培稻 *O. glaberrima* 的祖先,彼此间最具杂交亲和性。所以AA基因组中的有利基因最便于发掘利用,对AA基因组野生稻的研究也一直是野生稻资源研究利用的重点。目前,野生稻中的许多有利基因已被转移到栽培稻,并在生产中发挥着重要作用,如抗白叶枯病基因^[3,4]、抗稻瘟病基因^[5]、抗稻飞虱基因^[6]、耐寒基因^[7]等。但这些只是野生稻基因资源库中的点滴,绝大部分重要的农艺性状基因资源还有待进一步的认识和发掘,如在普通野生稻中发现的增产基因^[8]以及最近在非洲栽培稻的祖先 *Oryza breviligulata* 的基部茎节中发现共生固氮菌^[9]等,将这些基因转入栽培稻不仅可提高产量而且还可减少氮肥施用。

水稻细胞质雄性不育基因和育性恢复基因(fertility restorer gene, 简称 *Rf*)的开发利用使杂交水稻在我国得以大面积推广。根据已有的遗传分析,目前常用的野败型恢复系一般含有两对主效恢复基因,少数含1对恢复基因。这些恢复基因一般来源于我国长江流域农家品种和国际稻系列,国际稻系列中的恢复基因则来源于印度尼西亚的农家品种 Peta 和中国的农家品种 C₁na^[10]。但是,这并没有从源头上真正认识恢复基因。大量研究表明,在天然的植物群落中,普遍存在细胞质雄性不育,它是植物系统进化趋势的必然产物^[11]。而自然条件下,恢复基因总是与细胞质雄性不育相伴随,它是不育胞质因子在群体中保存、传递的前提^[12]。我国杂交水稻生产中应用的雄性不育细胞质来源于野生稻,可以推测野生稻中也必然存在相应的恢复基因。探讨野生稻中恢复基因的分布与遗传不仅有助于我们正确理解恢复基因的起源,以及细胞质雄性不育因子与恢复基因之间的关系;也有利于寻找新的恢复基因源,丰富杂交水稻恢复基因的遗传多样性,促进水稻杂交优势的利用。

1 材料和方法

1.1 材料

包括AA基因组6个种中的31份野生稻(来自

国际水稻所,IRRI,表1),野败型不育系珍汕97A、保持系珍汕97B、栽培稻恢复系密阳23。

于2001-2003年,以珍汕97A为母本分别与野生稻测交,收获的杂交种子经40~42连续烘干48h,打破休眠。野生稻、杂种F₁及衍生群体冬季种植在海南岛;夏季在武汉地区种植,分蘖盛期后,进行10h的短日照处理(8:00~18:00),直至幼穗二次枝梗分化。

1.2 杂种F₁及其衍生子代的育性分析

杂交子代育性的划分标准,以抽穗时镜检单株花粉育性结合成熟时考察每个单株有代表性的小穗育性,在1% I₂-KI 溶液中着色花粉粒的比例在1%以下,并且自然结实率小于5%、套袋结实率为0的植株为不育;反之为可育。在遗传分析中,如果花粉的育性大于80%、自然结实率大于70%、套袋结实率大于60%则为完全恢复。

1.3 恢复基因的遗传分析和等位性分析

先将保持系珍汕97B与含恢复基因的野生稻分别杂交,然后用其F₁与不育系杂交配制回交组合BC₁,用于遗传分析。等位性分析则以栽培稻恢复系密阳23作母本分别与野生稻杂交,然后以杂种F₁作父本,与珍汕97A测交,考察测交群体中各个单株的小穗育性。

1.4 检验假设

如果两个恢复系中的恢复基因 *Rf* 和 *Rf* 不等位,那么二者杂交时由于基因间重组交换,其杂种F₁的花药中应当出现不携带恢复基因的小孢子,从而导致杂种F₁与不育系测交后代的群体中出现不育株。否则就认为两恢复基因等位。

2 结果与分析

2.1 恢复基因在野生稻中的分布

将6个种(包括非洲栽培稻)31份生态型野生稻与野败不育系珍汕97A测交,发现其中16份含有恢复基因,频率为51.6%。恢复基因的分布有3个特点。(1)6个AA基因组野生稻种中只有4个种存在恢复基因,且主要集中于 *O. rufipogon* 和 *O. nivara* 两个种, *O. glumaepatula* 和 *O. meridionalis* 各只有1个生态型携带恢复基因(表2)。(2)恢复基因对野败型不育细胞质的恢复能力并不一致。在鉴定出的16份野生稻恢复系中,F₁花粉育性大于80%和介于50%~80%的各6份,50%以下的4份。强恢复源主要来源于印度次大陆的一年生野生稻 *O. nivara*,

而 *O. rufipogon* 中较少(表 1)。(3) 恢复基因的地理分化极端明显,恢复基因主要集中于亚洲野生稻;非

洲的 10 份野生稻仅 2 份含恢复基因,而大洋洲和拉丁美洲的 5 份野生稻都不含恢复基因(表 3)。

表 1 野生稻与珍汕 97A 测恢杂种 F₁ 的育性

Table 1 Fertility of the hybrids F₁ between Zhenshan 97A and wild rice(%)

系列号 Series number	材料编号 Accession number	种名 Specie	可育花粉 Fertile pollen	套袋结实率 Bagged seed-setting rate	自然结实率 Natural seed-setting rate
w06	101255	<i>O. rufipogon</i>	53.3 ±3.7	55.2 ±4.1	67.3 ±4.4
w07	100219	<i>O. glumaepatula</i>	0	0	0
w10	100968	<i>O. barthii</i>	0	0	0
w12	101791	<i>O. glaberrima</i>	0	0	0
w13	101855	<i>O. glaberrima</i>	52.7 ±2.6	0.1 ±0.01	0.5 ±0.02
w14	101959	<i>O. barthii</i>	98.4 ±1.4	60.4 ±2.9	74.7 ±3.3
w15	101971	<i>O. nivara</i>	99.1 ±0.5	23.7 ±1.1	57.3 ±1.5
w17	102452	<i>O. glumaepatula</i>	0	0	0
w18	102641	<i>O. glumaepatula</i>	0	0	0
w19	103580	<i>O. barthii</i>	0	0	0
w20	103836	<i>O. nivara</i>	8.6 ±0.7	0.6 ±0.02	1.6 ±0.02
w22	104081	<i>O. barthii</i>	0	0	0
w23	104085	<i>O. meridionalis</i>	0	0	0
w26	104540	<i>O. glaberrima</i>	0	0	0
w28	104680	<i>O. nivara</i>	86.7 ±4.7	50.3 ±1.4	81 ±2.1
w29	104705	<i>O. nivara</i>	98.6 ±0.8	37.4 ±1.3	82.2 ±3.3
w32	105293	<i>O. meridionalis</i>	0	0	0
w34	105419	<i>O. nivara</i>	44 ±1.6	0.1 ±0	4.8 ±0.3
w35	105561	<i>O. glumaepatula</i>	0	0	0
w36	105661	<i>O. glumaepatula</i>	0	0	0
w37	105704	<i>O. nivara</i>	0	0	0
w38	105736	<i>O. nivara</i>	50.4 ±2.5	14.7 ±2.3	32.5 ±1.8
w39	105887	<i>O. rufipogon</i>	51.0 ±4.4	55.8 ±3.6	69.9 ±4.0
w41	106083	<i>O. rufipogon</i>	97.7 ±1.7	40.2 ±2.8	46 ±2.3
w42	106158	<i>O. rufipogon</i>	71.4 ±2.5	37.9 ±3.9	52.6 ±2.4
w43	106194	<i>O. barthii</i>	0	0	0
w45	106309	<i>O. nivara</i>	98 ±0.4	79.3 ±3.8	77.1 ±3.3
w46	106321	<i>O. rufipogon</i>	0	0	0
桂林		<i>O. rufipogon</i>	48 ±1.5	11.4 ±0.7	38.6 ±2.1
东乡-1		<i>O. rufipogon</i>	62.8 ±2.0	22.7 ±1.1	53.4 ±0.9
东乡-2		<i>O. rufipogon</i>	31.6 ±2.7	19.6 ±0.4	40.7 ±1.1

注:所有数据为 3 次重复的平均值 ±标准差。Note: All the values are means of triplicates ±SD.

表 2 含野败恢复基因的野生稻在 AA 基因组野生稻种间的分布

Table 2 Distribution of wild rice with Rf gene in

AA genome species of genus *Oryza*

种名 Species	测恢株系数 No. of test-crossed accessions	含恢复基因的株系数 No. of accessions with Rf
<i>O. barthii</i>	5	1
<i>O. glaberrima</i>	3	1
<i>O. glumaepatula</i>	5	0
<i>O. meridionalis</i>	2	0
<i>O. nivara</i>	8	7
<i>O. rufipogon</i>	8	7

表 3 含野败恢复基因野生稻在地理上的分布

Table 3 Geographical distribution of the Rf gene

for WA-CMS in wild rice

地区 Region	测恢株系数 No. of test- crossed wild rice accession	含恢复基因株系数 No. of wild rice accessions with Rf	恢复基因频率 Frequency of Rf in wild rice accession(%)
亚洲 Asian	16	14	87.5
非洲 Africa	10	2	20
大洋洲 Oceania	2	0	0
拉丁美洲 Latin American	2	0	0

2.2 野生稻中恢复基因的遗传

选择 8 份野生稻构建了共 10 个育性分离群体(8 个回交群体和 2 个 F₂ 代)进行遗传分析;其中桂林和 w34 两份野生稻同时分析了回交 1 代和 F₂ 代群体,其他 6 份野生稻只分析了回交 1 代群体的育

性。从分析结果(表 4)看,桂林和 w34 两份野生稻回交一代不育株和可育株之比接近 1:1,而 F₂ 代中不育株、部分可育株和完全可育株也符合 1:2:1 的比例,说明 BC₁F₁ 和 F₂ 代的育性结果基本一致,符合单基因作用模式。而 w15 BC₁F₁ 中不育株为 25

株,可育株 104 株,二者比值接近 1:3,符合双基因

表 4 野生稻与珍汕 97 回交 BC₁F₁ 组合中的育性分离

Table 4 Fertility segregation of the BC₁F₁ crosses derived from Zhenshan97 and wild rice

回交组合 Backcross	可育株 Fertile plant	不育株 sterile plant	期望比 Expected ratio	χ^2 值 χ^2 value
珍汕 97A/ 珍汕 97B/w 桂林	86	71	1:1	1.433
珍汕 97A/w 桂林 (F ₂)	74	131	1:2:1	2.488
珍汕 97A// 珍汕 97B/w6	55	48	1:1	0.746
珍汕 97A// 珍汕 97B/w15	104	25	3:1	1.811
珍汕 97A// 珍汕 97B/w29	58	50	1:1	0.64
珍汕 97A// 珍汕 97B/w34	60	71	1:1	0.924
珍汕 97A/w34 (F ₂)	59	98	1:2:1	3.367
珍汕 97A// 珍汕 97B/w38	88	79	1:1	0.485
珍汕 97A// 珍汕 97B/w41	115	96	1:1	1.711
珍汕 97A// 珍汕 97B/w45	80	69	1:1	0.812

表 5 野生稻野败型恢复基因的等位性分析

Table 5 Allelism analysis of the fertility restorer gene for WA CMS in wild rice

测交组合 Test cross	不育株 Sterile plant	群体大小 Population size	重组交换率 Recombination frequency (%)	等位性 Allelism
珍汕 97A/ 密阳 23/ 东乡-2	0	138	0	等位 Allelic
珍汕 97A/ 密阳 23/w15	3	109	5.50	不等位 Unallelic
珍汕 97A/ 密阳 23/w29	9	95	18.95	不等位 Unallelic
珍汕 97A/ 密阳 23/w34	5	126	7.94	不等位 Unallelic
珍汕 97A/ 密阳 23/w38	0	146	0	等位 Allelic
珍汕 97A/ 密阳 23/w41	0	142	0	等位 Allelic
珍汕 97A/ w34/w15	7	133	10.52	不等位 Unallelic

3 讨论

3.1 恢复基因分布的广泛性与不均衡性

本研究的测恢材料包括 AA 基因组野生稻的 6 个种 31 个生态型,地理来源涉及亚洲、非洲、大洋洲和拉丁美洲,具有一定的代表性。测恢结果表明,在 6 个野生稻种中,发现 4 个种有恢复基因,说明恢复基因在野生稻中分布比较广泛。而进一步比较表明,恢复基因的频率在种间差异明显(表 2),主要集中于 *O. rufipogon* 和 *O. nivara* 两个种;除个别株系外,几乎所有测交株系都含有恢复基因;而 *O. barthii* 和 *O. glaberrima* 分别只有 1 个材料含有恢复基因。可见 *O. rufipogon* 和 *O. nivara* 是恢复基因的主要来源。从进化关系分析,因为在分子水平,*O. rufipogon* 和 *O. nivara* 彼此间难以区分^[13],一般认为栽培稻来源于普通野生稻 *O. rufipogon* 或 *O. rufipogon/O. nivara* 野生稻种群。野败细胞质来源于普通野生稻,根据核质互作关系和细胞质雄性不育基因的进化动力学推测,恢复基因在普通野生稻群体中应该广泛存在^[11]。有人曾对海南、广东和江西的几十种野生稻株系进行测恢,发现几乎所有野生稻对野败型不育系都具有恢复作用,杂种 F₁ 的结实率在 70% 以上^[14],本研究结果与此相类似。可

作用模式;其余 5 份野生稻 BC₁F₁ 群体的育性分离比都接近 1:1,符合单基因作用模式。说明在这 8 份野生稻中,除 w15 为双基因外,其他的都只有 1 对野败型恢复基因。

2.3 野生稻中恢复基因位点间的关系

以密阳 23 作为母本分别与 6 份野生稻(东乡-2、w15、w29、w34、w38、w41)杂交,比较野生稻和密阳 23 间的野败型恢复基因的等位性(表 5)。发现东乡-2、w38、w41 与密阳 23 等位,而 w15、w29、w34 不等位。用 w15 和 w34 的杂种 F₁ 对珍汕 97A 测恢,133 株的分离群体中出现 7 株不育株,表明这两个野生稻之间的恢复基因也不等位。由此推测这 6 份野生稻中至少存在 3 个野败型恢复基因位点。

见,在进化上,栽培稻中的恢复基因应该来源于普通野生稻。

地理分布分析表明,恢复基因主要集于在亚洲野生稻;它从进化角度进一步印证了前人关于栽培稻中恢复基因地理分布的研究结果。他们通过世界各地农家品种的大量测恢,发现恢复基因主要集中在南亚和东南亚地区,而北美、拉美、和非洲的品种对野败细胞质几乎全部缺乏恢复能力^[15]。中国大陆野败型的恢复基因也主要集中在云南、华南和长江流域^[16],恰为野生稻 *O. rufipogon* 和 *O. nivara* 族群的起源地区之一。而 *O. rufipogon* 和 *O. nivara* 没有分布的地区,农家种缺乏相应的野败型恢复基因。这一现象说明恢复基因的分布具有其内在的客观规律,它同水稻的起源和不育细胞质的来源密切相关。

3.2 野生稻中细胞质与恢复基因间的关系

利用远源杂交、种间杂交、亚种间杂交或者品种间杂交是培育细胞质雄性不育的常用方法。Han 等^[17]利用 AA 基因组 4 个野生稻种(*O. rufipogon*、*O. nivara*、*O. barthii* 和 *O. longistaminata*)和两个栽培种(*O. sativa* 和 *O. glaberrima*)通过杂交获得 132 个种间杂种,并进一步回交培育出了一系列的细胞质雄性不育系,其中个别细胞质不育系的恢保关系不同于野败型;而且在栽培稻中没有找到对应的恢复系。可见某些野生稻中的细胞质不育类型虽然在表

型上可归于某一大类,但在遗传关系和线粒体基因组成上与其他不育系有着本质的区别。国际水稻所采用类似的野-栽杂交方法已经培育出了一系列细胞质雄性不育系^[18],绝大部分的不育系来源于 AA 基因组的野生稻,但在栽培稻中找不到相应的恢复系;富昊伟^[19]测交了来自国际水稻所的 4 个不育系,其中两个不育系 IR54755A 和 IR67700A 的细胞质分别来自 *O. perennis* 和 *O. glumaepatula*,细胞核都来自 IR64,迄今尚未在栽培稻中找到相应的恢复系。IR64 是典型的野败恢复系,却是该不育系的保持系,可见它们的恢保关系完全不同于野败。陈大洲等^[20]将东乡野生稻细胞质转移到栽培稻培育出东乡型细胞质雄性不育系,野败和红莲型的恢复系几乎都是它的保持系,栽培稻中缺乏相应的恢复系;但东乡野生稻、茶陵野生稻都是它的恢复系。可见在进化关系上,细胞质不育因子和恢复基因是相互依存的,含有不育基因的野生稻本身或者野生稻群体中必然存在相应的恢复基因;同时这些结果还说明,在同一个野生稻种中存在多种类型的不育细胞质类型,它们对应的恢复基因也有着本质的差别。

3.3 恢复基因位点的多样性与起源

在等位性分析的 6 个野生稻中至少有 3 个以上野败型恢复基因位点,据此笔者推测野生稻中可能还有更多的野败型恢复基因位点。车前属中已经证明同一种群存在多种不育细胞质类型^[21],每种细胞质又分别具有数目不等的多个恢复基因位点^[22]。发现野生稻中红莲细胞质雄性不育相关基因 *ofH79* 有 6 种核苷酸变异,分布在不同来源的野生稻中。不同的变异类型在进化上有可能对应不同的恢复基因,这些恢复基因起源时的位点可能并不相同^[23]。同时如果比较野生稻对野败细胞质的恢复强度,也可以发现杂种 F_1 的花粉育性从 10% 以内一直到 98% 以上,这种差异从一定程度上反映出 AA 基因组野生稻中恢复基因存在恢复位点和恢复能力的多样性。

References

- [1] Khush G S. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Mol Biol*, 1997, **35**: 25 - 34
- [2] Tanksley S D, McCouch S R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 1997, **277**: 1 063 - 1 066
- [3] Brar D S, Khush G S. Wide hybridization for rice improvement: Alien gene transfer and molecular characterization of introgression. In: Jones M P, Dingkhun M, Johnson D E, Fagade S O eds. *Interspecific Hybridization: Progress and Prospects*. WARDA, 01BP 2551, Bouake, Cote d'Ivoire, 1997. 21 - 29
- [4] Zhang Q(章琦), Zhao B-Y(赵炳宇), Zhao K-J(赵开军), Wang C-L(王春连), Yang W-C(杨文才), Lin S-C(林世成), Que G-S(阙更生), Zhou Y-L(周永力), Li D-Y(李道远), Chen C-B(陈成斌), Zhu L-H(朱立煌). Identifying and mapping a new gene *Xa23⁽¹⁾* for resistance to bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) from *O. rufipogon*. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报), 2000, **26**(5): 536 - 542 (in Chinese with English abstract)
- [5] Khush G S. Rice germplasm enhancement at IRRI. In: Eskew K ed. *Proceedings of the International Symposium on Rice Germplasm Evaluation and Enhancement*. Aug. 30-Sept. 2, Arkansas, 1998. 52 - 59
- [6] Liu Guoqing, Yan Huihuang, Fu Qiang, Qian Qian, Zhang Zhitao, Zhai Wenxue, Zhu Lihuan. Mapping of a new gene for brown plant hopper resistance in cultivated rice introgressed from *Oryza eichingeri*. *Chinese Sci Bull*, 2001, **46**: 738 - 746
- [7] Chen D-Z(陈大洲), Deng R-G(邓仁根), Xiao Y-Q(肖叶青), Zhao S-X(赵社香), Pi Y-H(皮勇华). Utilization and prospect of genes for cold tolerance in Dongxiang wild rice. *Acta Agriculturae Jiangxi* (江西农业学报), 1998, **10**(1): 65 - 68 (in Chinese with English abstract)
- [8] Xiao J, Li J, Grandillo S, Ahn S N, Yuan L, Tanksley S D, McCouch S R. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. *Genetics*, 1998, **150**: 899 - 909
- [9] Chaintreuil C, Graud E, Prin Y, Lorquin J, B & A, Gillis M, De Lajudie P, Dreyfus B. Photosynthetic Bradyrhizobia are natural endophytes of the African wild rice *Oryza breviligulata*. *Appl Environmental Microbiol*, 2000, **66**: 5 437 - 5 447
- [10] Li Y-Q(黎垣庆). The pedigree analysis of the inheritance of the restoring gene in IR24. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1985, (1): 24 - 31 (in Chinese with English abstract)
- [11] Frank S A. The evolutionary dynamics of cytoplasmic male sterility. *Am Natural*, 1989, **133**: 345 - 376
- [12] Charlesworth D. A further study of the problem of the maintenance of females in gynodioecious species. *Heredity*, 1981, **46**: 27 - 39
- [13] Ren F, Lu B, Li S, Huang J, Zhu Y. A comparison study of genetic relationships among the AA-genome *Oryza* species using RAPD and SSR markers. *Theor Appl Genet*, 2003, **108**: 113 - 120
- [14] Zhu Y-G(朱英国). Male Sterility Biology of Rice (水稻雄性不育生物学). Wuhan: Wuhan University Press, 2000. 29 - 33 (in Chinese)
- [15] Zhu Y G. Geographical distribution of fertility-restoring genes for two male-sterile lines in China. *Rice Genetic Newsl*, 1986, **3**: 50 - 51
- [16] Li Z B, Zhu Y G. Rice male sterile cytoplasm and fertility restoration. In: *Hybrid Rice/ Proceedings of the International Symposium on Hybrid Rice*. Manila: International Rice Research Institute, 1986. 85 - 102
- [17] Hoan N T, Sarma N P, Siddiq E A. Wide hybridization for diversification of CMS in rice. *Internatl Rice Res Notes*, 1998, **23**(1): 5 - 6
- [18] Subudhi P K, Nandi S, Casal C, Virmani S S, Huang N. Classification of rice germplasm. High-resolution fingerprinting of cytoplasmic genetic male-sterile (CMS) lines with AHP. *Theor Appl Genet*, 1998, **96**: 941 - 949
- [19] Fu H-W(富昊伟). Restorer lines for cytoplasmic male sterility in wild rice of *O. perennis*. *Anhui Agricultural Sci* (安徽农业科学), 2002, **30**(2): 170 - 174 (in Chinese)
- [20] Chen D-Z(陈大洲), Xiao Y-Q(肖叶青), Zhao S-X(赵社香), Xiong H-J(熊焕金). Study on the restoring resource for CMS lines with the cytoplasm of Jiangxi Dongxiang wild rice. *Hybrid Rice* (杂交水稻), 1995, (6): 4 - 6 (in Chinese with English abstract)
- [21] De Haan A A, Luyten R M J M, Bakx-schotman T J M T, van Damme J M M. The dynamics of gynodioecy in *Plantago lanceolata* L. Frequency of male-steriles and their cytoplasmic male sterility types. *Heredity*, 1997, **79**: 453 - 462
- [22] De Haan A A, Luyten R M J M, Bakx-schotman T J M T, van Damme J M M. The dynamics of gynodioecy in *Plantago lanceolata* L. Mode of action and frequencies of restorer alleles. *Genetics*, 1997, **147**: 1 317 - 1 328
- [23] Li S-Q(李绍清), Zhu Y-G(朱英国). Distribution of Honglian cytoplasm in wild rice with AA genome. In: Abstract of the Congress of the Seventh National Genetics (第七届中国遗传学会论文摘要). Haikou, 23 - 29 Oct., 2003. 97 (in Chinese)