

# SSR 标记鉴定栽培稻杂种 F<sub>1</sub> 花粉愈伤组织 基因型的偏态分离

姚焱, 卢永根, 刘向东, 冯九焕, 张桂权

(华南农业大学植物分子育种研究中心, 广州 510642)

**摘要:** 分别对栽培稻 F<sub>1</sub> 花粉不育基因 *S-a*、*S-b* 和 *S-c* 单座位内互作杂种 F<sub>1</sub> 进行离体花药培养, 利用 SSR 分子标记鉴定了花粉愈伤组织的基因型。结果表明, 不同座位 F<sub>1</sub> 产生的携带花粉育性基因 *S<sup>i</sup>* 或 *S<sup>j</sup>* 的花粉形成愈伤组织的能力偏离 1:1 的分离比, 与自然条件下 F<sub>2</sub> 群体偏离方向不一致。携带不同花粉不育基因座位的 F<sub>1</sub> 产生花粉愈伤组织基因型的偏离方向有差异, 表现为 *S-a* 和 *S-c* 单座位内互作杂种 F<sub>1</sub> 的花粉愈伤组织偏向 *S<sup>i</sup>*, *S<sup>i</sup>:S<sup>j</sup>* 比例分别为 1:4.81 和 1:1.96; *S-b* 单座位内互作杂种 F<sub>1</sub> 花粉愈伤组织偏向 *S<sup>j</sup>*, *S<sup>i</sup>:S<sup>j</sup>* 比例为 1:0.35。研究培养条件对偏态分离的影响, 发现预冷处理可明显提高偏态分离的程度, 而花药培养基类型及诱导培养时间的长短不会改变偏态分离的方向。

**关键词:** 水稻 (*Oryza sativa* L.); 花粉不育; 花粉愈伤组织; SSR 标记

551 A

## Detection of Distorted Segregation in Genotype of Pollen Calli Derived from Hybrid F<sub>1</sub> of Cultivated Rice (*Oryza sativa* L.) Using SSR Markers

YAO Yan, LU Yong-gen, LIU Xiang-dong, FENG Jiu-huan, ZHANG Gui-quan

(Plant Molecular Breeding Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

**Abstract:** *S-a*, *S-b* and *S-c* are three loci for F<sub>1</sub> pollen sterility in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). Taichung 65 (T65) are all *S<sup>i</sup>/S<sup>j</sup>* at these three loci, while its F<sub>1</sub> pollen sterile near-isogenic lines, TISL2 (*S-b*), TISL4 (*S-a*) and TISL5 (*S-c*) are *S<sup>i</sup>/S<sup>j</sup>* according to their respective sterility locus. Using SSR molecular marker to detect the segregation of the allele *S<sup>i</sup>* and *S<sup>j</sup>* in pollen calli population induced from different hybrid F<sub>1</sub> which having different pollen sterility locus, it showed that the segregation of allele *S<sup>i</sup>* and *S<sup>j</sup>* was distorted. The distorted direction of pollen calli population *in vitro* was not as the same as F<sub>2</sub> population *in vivo*. The quantities of pollen callus carrying *S<sup>j</sup>* were much more than that of carrying *S<sup>i</sup>* at *S-a* and *S-c* locus, the ratio of *S<sup>i</sup>* and *S<sup>j</sup>* were 1:4.81 and 1:1.96. But the opposite tendency was showed at *S-b* locus, the ratio of *S<sup>i</sup>* and *S<sup>j</sup>* being 1:0.35. At the same time, all these results were undisturbed by either culture medium or culture period.

**Key words:** Rice (*Oryza sativa* L.); Pollen sterility; Pollen callus; SSR marker

栽培稻 (*Oryza sativa* L.) 籼粳亚种间杂种 F<sub>1</sub> 中普遍存在不育性。张桂权和卢永根<sup>[1-3]</sup> 利用台中 65 及其 F<sub>1</sub> 花粉不育近等基因系对栽培稻杂种不育的遗传学基础研究, 提出“特异亲和基因”的新

学术观点, 认为栽培稻杂种不育性主要为花粉不育, 至少由 *S-a*、*S-b*、*S-c*、*S-d*、*S-e* 和 *S-f* 6 个 F<sub>1</sub> 花粉不育基因座位控制。每个花粉不育基因座位携带 *S<sup>i</sup>* 或 *S<sup>j</sup>* 基因。在自然条件下, 携带纯合基因 (籼稻为

收稿日期: 2003-06-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970048)、广东省自然科学基金资助项目 (990707) 和霍英东教育基金资助项目 (71021)

作者简介: 姚焱 (1972-), 女, 河南开封人, 讲师, 博士, 现在广州大学生物工程系工作, 主要从事作物遗传及生物工程研究。卢永根为通讯作者, Tel: 020-85280205; E-mail: yglu@scau.edu.cn

$S^iS^i$ 、粳稻为  $S^jS^j$ ) 的植株花粉正常可育,携带杂合基因( $S^iS^j$ )的  $F_1$  花粉表现不育,其中携带  $S^i$  基因的花粉败育率较高,导致  $F_2$  出现偏向  $S^i$  基因的偏态分离。但是,在离体培养条件下, $F_1$  产生的花粉愈伤组织群体是否也会出现类似的偏态分离,值得进一步研究。为此,笔者对台中 65 与其花粉不育近等基因系的不同单基因座位杂种  $F_1$  进行花药离体培养,利用  $S-a$ 、 $S-b$  和  $S-c$  座位紧密连锁的 SSR 分子标记<sup>[4-6]</sup>,进行  $F_1$  花粉愈伤组织基因型鉴定,分析  $S^i$ 、 $S^j$  基因分离比例。这对于完善“特异亲和基因”新学术观点,及利用一般籼粳杂种后代构建 DH 群体具有积极意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

利用粳稻品种台中 65(简称 T65,在花粉不育

基因座位  $S-a$ 、 $S-b$  和  $S-c$  上均为纯合基因型携带  $S^jS^j$ ),与其  $F_1$  花粉不育近等基因系 TISL2( $S-b$  座位上为纯合基因型,携带  $S^iS^i$ )、TISL4( $S-a$  座位上为纯合基因型,携带  $S^iS^i$ )和 TISL5( $S-c$  座位上为纯合基因型,携带  $S^iS^i$ )杂交,杂种  $F_1$  分别为:T65 × TISL4(以  $E_{14}$ 表示)在  $S-a$  座位上携带杂合花粉不育等位基因  $S^iS^j$ ,产生  $S-a$  座位上携带  $S^i$  或  $S^j$  基因的 2 种类型花粉;T65 × TISL2(以  $E_{12}$ 表示)在  $S-b$  座位上携带杂合花粉不育等位基因  $S^iS^j$ ,产生  $S-b$  座位上携带  $S^i$  或  $S^j$  基因的 2 种类型花粉;T65 × TISL5(以  $E_{15}$ 表示)在  $S-c$  座位上携带杂合花粉不育等位基因  $S^iS^j$ ,产生  $S-c$  座位上携带  $S^i$  或  $S^j$  基因的 2 种类型花粉。各材料的花粉不育基因座位的基因型如表 1 所示。台中 65、近等基因系和它们的  $F_1$  于 2001 和 2002 年种植在华南农业大学教学实验农场,常规方法管理。

表 1 台中 65、台中 65 近等基因系及其  $F_1$  的花粉不育基因座位的基因型

Table 1 Genotype of pollen sterility gene loci of Taichung 65 and its pollen sterile near-isogenic lines as well as their  $F_1$

材料 Materials	代号 Code	花粉不育基因座位的基因型 Genotype of pollen sterility gene locus			$S^i/S^i$ 纯合基因座位 Homozygous	$S^i/S^j$ 杂合基因座位 Heterozygous
		$S-a$	$S-b$	$S-c$	$S^i/S^i$ gene locus	$S^i/S^j$ gene locus
T65 (CK)	$E_1$	$S^j/S^j$	$S^j/S^j$	$S^j/S^j$		
TISL4	$E_4$	$S^i/S^i$	$S^j/S^j$	$S^j/S^j$	$S-a$	
TISL2	$E_2$	$S^j/S^j$	$S^i/S^i$	$S^j/S^j$	$S-b$	
TISL5	$E_3$	$S^j/S^j$	$S^j/S^j$	$S^i/S^i$	$S-c$	
T65 × TISL4	$E_{14}$	$S^i/S^j$	$S^j/S^j$	$S^j/S^j$		$S-a$
T65 × TISL2	$E_{12}$	$S^j/S^j$	$S^i/S^j$	$S^j/S^j$		$S-b$
T65 × TISL5	$E_{15}$	$S^j/S^j$	$S^j/S^j$	$S^i/S^j$		$S-c$

### 1.2 方法

**1.2.1 花药培养** 采集  $E_{14}$ 、 $E_{12}$  和  $E_{15}$  小孢子晚期(又称单核靠边期)的花药进行离体培养,培养基分别为  $N6^{[7]} + 2,4-D 2 mg \cdot L^{-1} + NAA 3 mg \cdot L^{-1} + KT 1 mg \cdot L^{-1}$  + 麦芽糖 5% + 水解乳蛋白  $500 mg \cdot L^{-1}$  及  $M_8^{[8]} + 2,4-D 2 mg \cdot L^{-1} + NAA 3 mg \cdot L^{-1} + KT 1 mg \cdot L^{-1}$  + 麦芽糖 5% + 水解乳蛋白  $500 mg \cdot L^{-1}$ 。采用直接培养和预冷处理( $10^\circ C$ 下保存 10 d)后再培养这 2 种方式,诱导产生花粉愈伤组织。花粉愈伤组织直径为 5~7 mm 时进行 SSR 分子标记鉴定。

**1.2.2 DNA 的提取及微卫星分析** 均参考张泽民<sup>[5]</sup>、Li 的方法<sup>[6]</sup>。SSR 分子标记选择与  $S-a$ 、 $S-b$  和  $S-c$  紧密连锁的 RM9<sup>[4]</sup>、RM13<sup>[6]</sup> 和 RM218<sup>[5]</sup>,见图 1。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养基对诱导携带 $S^i$ 或 $S^j$ 基因的花粉愈伤组织能力的差异

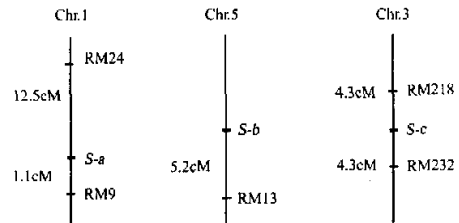


图 1 SSR 标记与 3 个栽培稻  $F_1$  花粉不育基因座位的连锁图

Fig.1 The linkage map between SSR markers and three  $F_1$  pollen sterile loci in cultivated rice (*Oryza sativa* L.)

不同培养基会对花粉愈伤组织的诱导产生不同影响。将适用于粳稻花药培养的  $N6'$  及适用于籼稻花药培养的  $M_8$  作基础培养基,对经过预冷处理的杂种  $E_{14}$ 、 $E_{12}$  和  $E_{15}$  花药进行培养。把产生的花粉愈

伤组织分别进行相应座位的分子标记检测,比较 2 种培养基对 3 个杂种的 S<sup>i</sup>、S<sup>j</sup> 花粉诱导愈伤组织能力的差异。电泳图谱如图 2、3、4,统计结果如表 2。

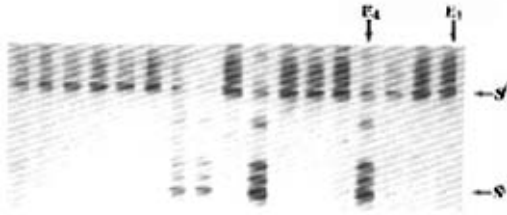


图 2 S-a 座位杂种 E<sub>14</sub> 花粉愈伤组织 SSR 标记(RM9) 电泳图  
Fig. 2 Electrophoresis map of hybrid E<sub>14</sub> pollen calli at S-a locus using SSR marker RM9

图 2 S-a 座位杂种 E<sub>14</sub> 花粉愈伤组织 SSR 标记(RM9) 电泳图

Fig. 2 Electrophoresis map of hybrid E<sub>14</sub> pollen calli at S-a locus using SSR marker RM9

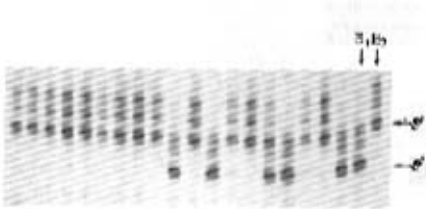


图 3 S-b 座位杂种 E<sub>12</sub> 花粉愈伤组织 SSR 标记(RM13) 电泳图

Fig. 3 Electrophoresis map of hybrid E<sub>12</sub> pollen calli at S-b locus using SSR marker RM13

表 2 N<sub>6</sub>' 和 M<sub>8</sub> 培养基诱导携带 S<sup>i</sup> 或 S<sup>j</sup> 基因的花粉愈伤组织能力的差异<sup>1)</sup>

Table 2 Difference of callus induction ability between S<sup>i</sup> pollen and S<sup>j</sup> pollen on N<sub>6</sub>' and M<sub>8</sub> medium

座位 Locus	代号 Code	N <sub>6</sub> ' 诱导花粉愈伤组织数 Nos of pollen calli on N <sub>6</sub> '			实际 比值 Ratio	χ <sup>2</sup> (1:1)	M <sub>8</sub> 诱导花粉愈伤组织数 Nos of pollen calli on M <sub>8</sub>			实际 比值 Ratio	χ <sup>2</sup> (1:1)
		总数 Total	S <sup>i</sup> 愈伤 S <sup>i</sup> calli	S <sup>j</sup> 愈伤 S <sup>j</sup> calli			总数 Total	S <sup>i</sup> 愈伤 S <sup>i</sup> calli	S <sup>j</sup> 愈伤 S <sup>j</sup> calli		
S-a	E <sub>14</sub>	31	4	27	1:6.75	15.65**	30	8	22	1:2.75	5.64*
S-b	E <sub>12</sub>	31	23	8	1:0.35	6.32*	45	37	8	1:0.22	17.42**
S-c	E <sub>15</sub>	38	12	26	1:2.17	4.44*	-	-	-	-	-

<sup>1)</sup> 显著性水平: χ<sub>0.05,1</sub><sup>2</sup> = 3.841, χ<sub>0.01,1</sub><sup>2</sup> = 6.635; “-” 表示缺值  
Significance level: χ<sub>0.05,1</sub><sup>2</sup> = 3.841, χ<sub>0.01,1</sub><sup>2</sup> = 6.635; “-” Shows no enough statistic numbers

的花粉产生愈伤组织。具体表现为: S-a 座位杂种 E<sub>14</sub>、S-b 座位杂种 E<sub>12</sub> 在直接培养条件下 S<sup>i</sup>:S<sup>j</sup> 偏离 1:1 比例分别为 1:1.87 和 1:0.61, 差异显著; 预冷

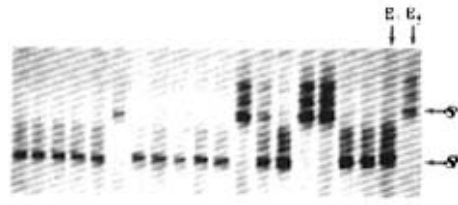


图 4 S-c 座位杂种 E<sub>15</sub> 花粉愈伤组织 SSR 标记(RM218) 电泳图

Fig. 4 Electrophoresis map of hybrid E<sub>15</sub> pollen calli at S-c locus using SSR marker RM218

表 2 表明在 N<sub>6</sub>' 和 M<sub>8</sub> 培养基上, 3 个不同花粉不育基因座位内互作杂种 F<sub>1</sub> 产生的 S<sup>i</sup> 和 S<sup>j</sup> 花粉愈伤组织出现了偏离分离比 1:1 的现象: S-a 座位杂种 E<sub>14</sub>、S-c 座位杂种 E<sub>15</sub> 产生的 S<sup>j</sup> 花粉形成愈伤组织能力明显高于 S<sup>i</sup> 花粉, 导致趋向 S<sup>j</sup> 的偏态分离; 而 S-b 座位杂种 E<sub>12</sub> 则相反, 导致趋向 S<sup>i</sup> 的偏态分离。而且, 各材料偏离方向未因培养基的变化而改变。

### 2.2 处理方式对诱导携带 S<sup>i</sup> 或 S<sup>j</sup> 基因的花粉愈伤组织能力的影响

花粉愈伤组织群体偏态分离的方向虽未受到培养基的影响, 但培养前的预冷处理可能会对 S<sup>i</sup> 和 S<sup>j</sup> 花粉愈伤组织诱导产生不同结果。将直接培养产生的与经预冷处理再培养产生的花粉愈伤组织(均以 N<sub>6</sub>' 作基础培养基)分别进行相应座位的分子标记检测。结果如表 3。

表 3 表明, 与直接培养方式相比, 预冷处理会明显增强偏态分离的程度, 更有利于较强脱分化能力

处理后 S<sup>i</sup>:S<sup>j</sup> 分别为 1:4.81 和 1:0.35, 差异极显著; S-c 座位杂种 E<sub>15</sub> 直接培养条件下未发生偏态分离, 预冷处理后 S<sup>i</sup>:S<sup>j</sup> = 1:1.96, 差异极显著。

表 3 直接培养与预冷处理再培养诱导  $S^i$  和  $S^j$  花粉愈伤组织的能力差异<sup>1)</sup>Table 3 Difference of callus induction ability of  $S^i$  pollen and  $S^j$  pollen between direct culture and cold pretreatment culture

座位 Locus	代号 Code	直接培养花粉愈伤组织 Nos of pollen calli with direct culture			实际 比值 Ratio	$\chi^2$ (1:1)	预冷后培养花粉愈伤组织 Nos of pollen calli with cold pretreatment culture			实际 比值 Ratio	$\chi^2$ (1:1)
		总数 Total	$S^i$ 愈伤	$S^j$ 愈伤			总数 Total	$S^i$ 愈伤	$S^j$ 愈伤		
			$S^i$ calli	$S^j$ calli				$S^i$ calli	$S^j$ calli		
S-a	E <sub>14</sub>	66	23	43	1:1.87	5.46*	93	16	77	1:4.81	38.75**
S-b	E <sub>12</sub>	121	75	46	1:0.61	6.48*	152	113	39	1:0.35	35.06**
S-c	E <sub>15</sub>	100	44	56	1:1.27	1.21	133	45	88	1:1.96	13.26**

<sup>1)</sup> 显著性水平:  $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$ ,  $\chi^2_{0.01,1} = 6.635$

Significance level:  $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$ ,  $\chi^2_{0.01,1} = 6.635$

### 2.3 培养时间对诱导携带 $S^i$ 或 $S^j$ 基因的花粉愈伤组织能力的影响

离体花粉产生愈伤组织能力与培养时间有一定关系。在培养 2 个月内,花粉愈伤组织出愈率高;培养 2 个月后,新出现的花粉愈伤组织明显减少。花粉愈伤组织产生的时间是否对偏态分离的方向产生影响?表 4 反映了 S-c 座位杂种 E<sub>15</sub> 在预冷处理再

培养条件下,携带  $S^i$  基因的花粉与携带  $S^j$  基因的花粉产生愈伤组织能力随培养时间的延续而变化的关系。

S-c 座位杂种 E<sub>15</sub> 在培养前期与培养后期产生的花粉愈伤组织中,携带  $S^i$  基因与携带  $S^j$  基因的比例均倾向于  $S^j$  的偏态分离。即愈伤组织出现的早晚未影响  $S^i$ 、 $S^j$  偏态分离的方向。

表 4 培养前期与培养后期  $S^i$  和  $S^j$  花粉愈伤组织诱导能力的差异<sup>1)</sup>Table 4 Difference of callus induction ability of  $S^i$  pollen and  $S^j$  pollen between early culture stage and late culture stage

座位 Locus	代号 Code	培养前期花粉愈伤组织数 Nos of calli of early stage			$\chi^2$ (1:1)	培养后期花粉愈伤组织数 Nos of calli of late stage			$\chi^2$ (1:1)
		总数 Total	$S^i$ 愈伤	$S^j$ 愈伤		总数 Total	$S^i$ 愈伤	$S^j$ 愈伤	
			$S^i$ calli	$S^j$ calli			$S^i$ calli	$S^j$ calli	
S-c	E <sub>15</sub>	56	15	41	11.16**	34	8	26	8.50*

<sup>1)</sup> 显著性水平:  $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$ ,  $\chi^2_{0.01,1} = 6.635$ ; 培养前期: 接种后培养 60 d 以内; 培养后期: 接种培养 60 d 以后

Significance level:  $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$ ,  $\chi^2_{0.01,1} = 6.635$ ; Early stage: denoting the culture time from 0 day to 60 days; Late stage: denoting the culture time 60 days later

## 3 讨论

根据“特异亲和基因”新学术观点,自然条件下栽培稻杂种花粉不育是由于孢子体的杂合基因  $S^iS^j$  互作而导致  $F_1$  中携带  $S^j$  基因的配子体花粉败育,使  $F_2$  群体出现倾向  $S^i$  的偏态分离;而离体培养条件下,S-a 和 S-c 单座位内互作  $F_1$  原本败育率高的  $S^j$  花粉却摆脱了原有的命运,较  $S^i$  花粉更易存活而形成了倾向  $S^j$  的偏态分离。与自然条件下  $F_2$  群体偏离方向不同。这表明决定花粉命运的花粉育性基因在自然条件与离体条件下的作用模式存在差异。

探究离体条件下花粉愈伤组织群体中花粉不育基因异常分离的现象,可能有以下原因:(1)花粉不育基因座位的差异。3 个遗传背景相近的杂种材料中,由于存在 S-a、S-b 和 S-c 花粉不育基因座位的差异,在自然条件下就造成不同  $F_1$  中  $S^j$  花粉与  $S^i$  花粉生活力的差异,致使离体培养下  $S^j$  花粉与  $S^i$  花

粉脱分化能力不一致,而产生了偏态分离;(2)离体培养的环境因素。环境的选择压力会引起花粉的选择作用<sup>[9]</sup>。在笔者的研究中,比较了花药培养基、预处理方式和花药培养时间对花粉的选择作用。结果发现,籼稻花药培养基与梗稻花药培养基对携带  $S^i$  或  $S^j$  基因的花粉选择方向基本一致,同一材料在两种培养基上偏分离方向无差异;预冷处理方式会增强偏分离的趋势,预冷处理时的胁迫作用加剧了对优势脱分化能力花粉的选择;培养时间不会改变对优势脱分化能力花粉的选择方向,虽然随着培养时间的延长,携带  $S^i$  基因的花粉及携带  $S^j$  基因的花粉愈伤组织发生率均普遍下降,但不会显著改变偏态分离的方向。离体培养的其它环境因素可能也会对分离产生影响,还需进一步研究。

通过花药培养产生的 DH 群体通常作为杂种  $F_1$  的雄配子随机组合群体,而广泛用于育种、遗传学研究及分子图谱构建等方面。在一些研究中发现在水

稻粳杂交组合的 DH 群体中某些分子标记出现偏态分离现象<sup>[10-12]</sup>。但它们普遍存在  $F_1$  的父母本遗传背景复杂,无法分析遗传背景对偏态的具体影响,也就无法追溯造成偏态的遗传根源。而本研究利用的花粉不育近等基因系间仅存在 1 个基因座位的差异,遗传背景清晰,使不同基因的偏态分离更易追溯其遗传根源。DH 群体中某些基因的偏态分离与花培能力基因有关<sup>[11,12]</sup>。一般情况下粳稻花培反应能力高于籼稻。本试验中,来自粳稻亲本台中 65 的  $S^i$  基因花粉在愈伤组织诱导能力上并未普遍高于来自籼稻的  $S^i$  花粉,这预示了决定花粉育性的  $S^i$ 、 $S^j$  基因可能与花培能力基因无关。

## References

- [ 1 ] 张桂权, 卢永根. 栽培稻 (*Oryza sativa*) 杂种不育性的遗传研究. I. 等基因  $F_1$  不育系杂种不育性的双列杂交分析. 中国水稻科学, 1989, 3: 97-101.
- Zhang G Q, Lu Y G. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa*). I. Diallel analysis of the hybrid sterility among isogenic  $F_1$  sterile lines. *Chinese Journal of Rice Science*, 1989, 3: 97-101. (in Chinese)
- [ 2 ] 张桂权, 卢永根. 栽培稻 (*Oryza sativa*) 杂种不育性的遗传研究. II.  $F_1$  花粉不育性的基因模式. 遗传学报, 1993, 20(3): 222-228.
- Zhang G Q, Lu Y G. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa*). II. Gene model for  $F_1$  pollen sterility. *Acta Genetica Sinica*, 1993, 20(3): 222-228. (in Chinese)
- [ 3 ] 张桂权, 卢永根, 杨进昌. 栽培稻 (*Oryza sativa*) 杂种不育性的遗传研究. IV.  $F_1$  花粉不育性的基因型. 遗传学报, 1994, 21(1): 35-42.
- Zhang G Q, Lu Y G, Yang J C. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa*). IV. Genotypes for  $F_1$  pollen sterility. *Acta Genetica Sinica*, 1994, 21(1): 35-42. (in Chinese)
- [ 4 ] 庄楚雄, 张桂权, 梅曼彤, 卢永根. 栽培稻  $F_1$  花粉不育基因座  $S-a$  的分子标记定位. 遗传学报, 1999, 26(3): 213-218.
- Zhuang C X, Zhang G Q, Mei M T, Lu Y G. Molecular mapping of the  $S-a$  locus for  $F_1$  pollen sterility in cultivated rice (*Oryza sativa*). *Acta Genetica Sinica*, 1999, 26(3): 213-218. (in Chinese)
- [ 5 ] 张泽民, 张桂权. 水稻  $S-c$  座位的 PCR 标记精细定位及分子标记辅助选择. 作物学报, 2001, 27(6): 704-709.
- Zhang Z M, Zhang G Q. Fine mapping of the  $S-c$  locus and marker-assisted selection using PCR markers in rice. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27(6): 704-709. (in Chinese)
- [ 6 ] Li W T, Zeng R Z, Zhang G Q. Mapping of  $S-b$  locus for  $F_1$  pollen sterility in cultivated rice using PCR based markers. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(4): 463-467.
- [ 7 ] 江树业, 陈启锋. 水稻花培一次成苗的研究. II. 影响水稻花培一次成苗各主要因素的探讨. 福建农业大学学报, 1994, 23(2): 127-133.
- Jiang S Y, Chen Q F. Study on the direct plantlet regeneration of rice II. Effects of the main factors during the anther culture. *Journal of Fujian Agriculture University*, 1994, 23(2): 127-133. (in Chinese)
- [ 8 ] 梅传生, 张金渝, 吴光南. 籼稻花培绿苗率的提高. 江苏农业学报, 1988, 4(2): 45-48.
- Mei C S, Zhang J Y, Wu G N. Increasing the anther culture green plantlet regeneration of indica rice. *Journal of Jiangsu Agriculture*, 1988, 4(2): 45-48. (in Chinese)
- [ 9 ] David L, Mulcahy L. Pollen selection-past, present and future. *Sexual Plant Reproduction*, 1996, 9: 353-356
- [ 10 ] Guiderdoni E. Gametic selection in anther culture of rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 1991, 81: 406-412.
- [ 11 ] Yamagishi M, Yano M, Fukuta Y, Fukui K, Otani M, Shimada T. Distorted segregation of RFLP markers in regenerated plants derived from anther culture of a  $F_1$  hybrid of rice. *Genes & Genetic Systems*, 1996, 71: 37-41.
- [ 12 ] Yamagishi M, Otani M, Higashi M. Chromosomal regions controlling anther culture ability in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 1998, 103: 227-234.

(责任编辑 孙雷心)