



研究报告
Article Report

恢复基因通过保持系迁移到不育系产生可育株的研究

张江丽³, 李娟^{1,2,3}, 孙朝华³, 黄大军^{1,2,3}, 谭亚玲^{1,2,3}, 普世皇¹, 谭学林^{1,2,3}, 陈丽娟^{1,2,3}, 金寿林^{1,2,3}, 文建成^{1,2,3}

1. 云南省杂交粳稻工程技术研究中心, 昆明, 650201
2. 云南省高校滇型杂交粳稻分子育种重点实验室, 昆明, 650201
3. 云南农业大学稻作研究所, 昆明, 650201

✉ 通讯作者: jcwen1117@163.com; ✉ 作者

分子植物育种, 2013 年, 第 11 卷, 第 20 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0020

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

张江丽等, 2013, 恢复基因通过保持系迁移到不育系产生可育株的研究, 分子植物育种(online), 11(20): 1137-1142 (doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0020)

引用格式(英文):

Zhang et al., 2013, Analysis of the Source of the Rf Gene Introgressed from Maintainer to CMS Line in Rice, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding), 11(20): 1137-1142 (doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0020)

摘要 滇 1 型不育系繁殖群体中存在少量的表型似保持系而又携带核恢复基因的可育株, 但对于可育株的恢复基因是否来自繁殖不育系的父本保持系尚不清楚。本研究在不同环境繁殖 2 个滇 1 型不育系群体, 在 41 452 株不育系中发现 13 株表型似保持系的可育株。对可育株的自交和测交后代群体单株的结实率分析, 发现这些可育株具有育性恢复能力。利用 CAPS 标记 M49609BstUI 分析了这些可育株及用于繁殖不育系的父本保持系的恢复基因 *Rf-1* 位点。证实可育株含有恢复基因 *Rf*, 其基因型为杂合型 *Rf/rf*, 但在保持系孢子体中没有发现恢复基因。因此, 推测可育株的核恢复基因不是来自用于繁殖不育系的父本保持系。

关键词 恢复基因; 滇 1 型细胞质雄性不育系; 基因迁移; 可育株; 繁殖

Analysis of the Source of the *Rf* Gene Introgressed from Maintainer to CMS Line in Rice

Zhang Jiangli³, Li Juan^{1,2,3}, Sun Chaohua³, Huang Dajun^{1,2,3}, Tan Yalin^{1,2,3}, Pu Shihuang¹, Tan Xuelin^{1,2,3}, Cheng Lijuan^{1,2,3}, Jin Shoulin^{1,2,3}, Wen Jiancheng[✉]

1. Yunnan Engineering Research Center for Japonica Hybrid Rice, Kunming, 650201, P.R., China
2. Key Lab of Molecular Breeding for Dian-Type Japonica Hybrid Rice, Yunnan Education Department, Kunming, 650201, P.R., China
3. Rice Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming, 650201, P.R., China

✉ Corresponding author, jcwen1117@163.com; ✉ Authors

Abstract A few fertile plants, which are similar to Cytoplasmic male sterility (CMS) plants in phenotypes except possessing a nuclear restorer-of-fertility (*Rf*) gene, commonly appeared in *japonica* rice CMS-D1 populations. However, it is unclear that the source of the *Rf* gene whether it was introgressed from male parental sporophyte used to multiplication CMS-D1 lines. Out of thirteen fertile plants were discovered in 41 452 CMS plants of two CMS-D1 populations generated at two different environmental conditions. It was analyzed the seed-setting rate of these fertile plants, and their S_1 progenies of self-pollinated and F_1 populations of cross with CMS-D1 lines as female parent. The results indicated that the fertile plants had one nuclear *Rf* gene which could made CMS-D1 lines fertility restored. One CAPS marker M49609BstUI located within rice *Rf-1* locus was also used to screen nucleus genomes of the fertile plants as well as the male parent maintainers which were used to multiplication the two CMS line populations.

收稿日期: 2013 年 05 月 21 日

接受日期: 2013 年 05 月 22 日

发表日期: 2013 年 06 月 20 日

基金项目: 本研究由云南省教育厅重点基金项目(2011Z039)、国家自然科学基金项目(31060088)和云南省科技计划项目(2009BB007)共同资助



It was verified that the fertile plants carried an *Rf* gene and had heterozygous genotype *Rf/rf*. But, the *Rf* gene could not be found in individual sporophyte of maintainer lines. It assumed that the nuclear *Rf* gene of these fertile plants could not be introgressed from male sporophyte used to multiplication rice CMS-D1 lines.

Keywords Restorer-of-fertility (*Rf*) gene; Cytoplasmic male sterility of Dian 1 type line (CMS-D1); Gene introgression; Fertile plant; Multiplication

研究背景

在水稻不育系繁殖群体中出现少量的自交结实株混杂, 是不同类型水稻细胞质雄性不育系中普遍发生的问题。对此研究表明, 保持系的混杂是繁殖不育系群体中出现的自交结实株的主要来源(陈玉虎, 1990, 浙江农业科学, (3): 125-127; 舒庆尧等, 1996; 张世辉等, 2002; 孙海波等, 2003; Yashitola et al., 2004)。其次, 是不育系中存在外观性状上与保持系相似的能自交结实的正常可育株, 混杂的这类可育株对不育系具有育性恢复能力(陆作楣等, 2000; 刘学军和孙林静, 1999)。

目前, 对于各类型不育系中可育株核恢复基因来源的问题看法并不一致。有报道认为, 可育株的恢复基因是由于不育系核不育基因存在遗传不稳定性而产生(周天理等, 1992), 或是由于保持系的微效恢复基因积累所产生(雷捷成等, 1984)。更多的研究认为, 在野败型(陆作楣等, 2000)、红莲型(王际凤和陆作楣, 2007)和 BT 型(陈玉虎, 1990, 浙江农业科学, (3): 125-127; 刘学军等, 2004)不育系中出现的可育株恢复基因来自同类(籼稻/粳稻)杂交稻中的恢复基因的直接渗入和间接渗入。直接渗入是由于恢复基因 *Rf* 迁移到不育系直接产生可育株, 其杂交和测交后代群体表现广泛的育性和性状分离; 间接渗入是恢复基因先迁移到保持系, 再传递到不育系产生可育株, 这类可育株在外观性状上与不育系相似, 难于识别。

在滇型杂交粳稻育种实践中, 我们也发现育性稳定的用于配制组合的滇 1 型不育系中始终产生少量携带恢复基因的可育株, 其在外观性状上与相应保持系一致, 正常花粉率约为 50%, 细胞质仍表现雄性不育, 细胞核拥有一个能使滇 1 型不育系育性恢复的恢复基因, 位于水稻恢复基因 *Rf-1* 位点(文建成等, 2008; Wen et al., 2010)。但滇 1 型不育系中产生的可育株恢复基因的来源是否如他人研究报告一样, 是由于粳型杂交稻或粳稻恢复系的恢复基因渗入到保持系, 再迁移到不育系, 在不育系群体中产生携带恢复基因的可育株, 迄今没有得到证实。据此, 本研究分析了不同年份不同地点用于繁殖滇 1 型不育系的父本保持系, 以及繁殖不育系群

体中出现的可育株恢复基因 *Rf-1* 位点, 来探讨可育株的恢复基因是否因繁殖不育系的父本保持系孢子体携带核恢复基因迁移产生。这将为制定高纯度不育系繁殖技术措施提供参考依据。

1 结果与分析

1.1 不育系繁殖群体中可育株的田间鉴别

对 2008 年(蒙自)和 2010 年(昆明)种植的 2 个滇 1 型不育系黎榆 A 和榆密 15A 的繁殖群体的 41 452 株不育系的开花期花药进行检查, 筛选到 13 株花药开裂散粉的植株, 称之为“可育株”, 其出现频率为 0.031% (表 1)。在外观形态上, 这些可育株与其相应的不育系一致, 但是有大约 50% 的正常花粉率, 能自交结实, 套袋结实率在 73.8%~80.1% 之间, 各不育系群体中可育株单株间的结实率并无明显差异。

1.2 可育株后代群体的结实率分析

用 13 株可育株给其相应不育系授粉, 产生的 13 个 BCF₁ 代群体的单株结实正常, 各群体间套袋结实率平均在 68.9%~81.2% 之间, 各群体中均未出现不育或低育株, 各群体单株间结实率没有明显差异(表 2)。此外, 用这 13 株可育株给另外 2 个滇 1 型不育系滇系 5 号和合系 42 授粉所得的 F₁ 代具有较高的结实率, 单株结实率为 40.1%~85.9%, 各群体平均结实率在 55.9%~75.6% 之间, 也没有出现不育或低育株(表 2)。结果说明这些可育株对滇 1 型不育系具有育性恢复功能。

在蒙自和昆明产生的这 13 株可育株自交 S₁ 群体, 次年在昆明种植结实也正常, 群体间平均结实率在 68.6%~83.2% 之间, 各群体单株间结实率也没有明显差异, 任何 S₁ 群体没有表现低育或不育现象(表 2)。这表明这些可育株的育性不受种植环境影响。

1.3 繁殖不育系亲本保持系及可育株的 *Rf-1* 位点鉴定

利用 CAPS 标记 M49609BstUI 分析了用于繁殖 2 个不育系的父本保持系孢子体的恢复基因位点, 结果表明所有保持系都没有携带核恢复基因。在蒙自和昆明, 用于繁殖不育系榆密 15A 的父本保持系榆密 15B 共计 623 株, 都没有出现 810 bp 大小的与

恢复系南 34 一致的恢复基因特有条带，而有两条 611 bp 和 199 bp 大小的与不育系榆密 15A 一致的特有条带(图 1)。表明这些保持系没有携带育性恢复基

因，它们的基因型与不育系(*rf/rf*)一致。同样，在用于繁殖不育系黎榆 A 的父本保持系黎榆 B 共计 522 株中，也没有发现任何一株携带恢复基因。

表 1 滇 1 型不育系繁殖群体产生的可育株

Table 1 Fertile plants generated from multiplication population of rice CMS-D1 line

地点 Location	不育系繁殖亲本 Multiplication parents of CMS			不育系群体 Total No. of CMS plants	可育株 Fertile plants			
	不育系 CMS lines	母本数 The maternals	父本数 The donors		株数 The No. of plants	频率(%) Ratio (%)	正常花粉(%) Normal pollen Percentages (%)	结实率(%) Seed setting (%)
蒙自 Mengzi	黎榆 A LiyuA	216	355	10 296	2	0.019	49.2	79.8
	榆密 15A Yumi15A	232	415	19 035	7	0.037	49.6	73.8
昆明 Kunming	黎榆 A LiyuA	167	167	5 678	2	0.035	50.1	80.1
	榆密 15A Yumi15A	208	208	6 443	2	0.031	49.5	76.5
合计 Total		823	1145	41 452	13	0.031		

表 2 可育株及其后代群体的套袋结实率

Table 2 Bagged seed-set rating of fertile plants and their progenies

不育系 CMS lines	可育株 Fertile plants	S ₁		BCF ₁		F ₁	
		株数 The No. of plants	结实率(%) Seed setting (%)	株数 The No. of plants	结实率(%) Seed setting (%)	株数 The No. of plants	结实率(%) Seed setting (%)
黎榆 A	L0801	24	72.9±5.6	18	69.8±6.5	22	58.6±10.0
LiyuA	L0802	26	74.3±4.2	16	74.6±4.7	48	75.6±10.5
	L1001	32	75.7±6.6	21	72.1±7.1	47	68.0±11.2
	L1002	24	68.6±4.5	24	79.4±9.2	52	71.1±8.8
榆密 15A	Y0801	29	72.1±2.1	24	69.2±6.6	24	55.9±8.3
Yumi15A	Y0802	32	83.2±3.7	18	72.8±7.2	35	69.5±8.6
	Y0803	21	77.7±5.2	23	78.5±5.0	46	58.5±10.2
	Y0804	15	72.4±4.7	27	81.5±7.1	34	65.1±13.9
	Y0805	17	79.6±3.9	14	68.9±4.3	35	55.4±11.6
	Y0806	21	82.5±2.9	15	73.9±9.8	41	65.3±13.1
	Y0807	17	69.4±9.6	20	73.8±11.4	42	71.5±9.6
	Y1001	19	74.4±6.4	12	81.2±5.5	56	68.2±8.2
	Y1002	13	77.0±4.3	15	74.7±5.3	61	67.1±10.9



对 2 个不育系群体中产生的可育株恢复基因位点鉴定, 结果表明所有可育株均携带核育性恢复基因。在蒙自繁殖并种植的 2 个不育系黎榆 A 和榆密 15A 群体中出现 9 株可育株(L0801, L0802, Y0801, Y0802, Y0803, Y0804, Y0805, Y0806 和 Y0807), 不仅具有一条约 810 bp 的恢复基因特征带, 而且具有两条大约 611 bp 和 199 bp 的不育系特征带(图 2)。说明这些可育株都有一个核恢复基因, 且为杂合基因型(*Rf/rf*)。同样, 对在昆明繁殖并种植的 2 个不育系群体中发现的 4 株可育株(L1001, L1002, Y1001 和 Y1002)的恢复基因位点分析, 也证实可育株都携带一个核恢复基因。

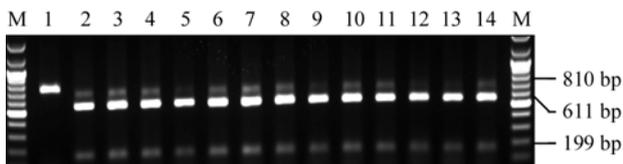


图 1 用于繁殖不育系榆密 15A 的父本保持系的恢复基因位点基因型

注: M: 100 bp DNA ladder plus; 1: 恢复系南 34; 2: 不育系榆密 15A; 3~14: 12 株保持系榆密 15B

Figure 1 Genotyping of the maintainer Yumi15B used to generate CMS line Yumi15A population

Note: M: 100bp DNA ladder plus; 1: Restorer Nan34; 2: CMS line Yumi15A; 3~14: Twelve maintainer Yumi15B plants

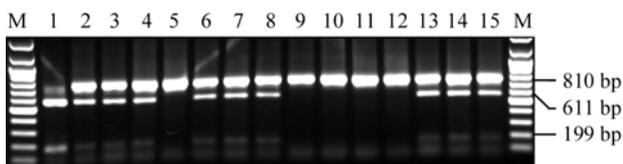


图 2 在蒙自繁殖的不育系黎榆 A 和榆密 15A 群体中出现的可育株的恢复基因位点基因型

注: M: 100 bp DNA ladder plus; 1: 不育系榆密 15A; 2~4: 3 株可育株; 5: 恢复系南 34; 6~8: 3 株可育株; 9: 南 36; 10: C418; 11: 安山稻; 12: 南 42; 13~15: 3 株可育株

Figure 2 Genotyping of the fertile plants in CMS line LiyuA and Yumi15A populations generated at Mengzi

Note: M: 100 bp DNA ladder plus; 1: CMS line Yumi15A; 2~4: Three fertile plants; 5: Restorer Nan34; 6~8: Three fertile plants; 9: Restorer Nan 36; 10: Restorer C418; 11: Restorer anshandao; 12: Rsetorer Nan 42; 13-15: Three fertile plants

2 讨论

利用恢复基因共显性 CAPS 标记 M49609*Bst*UI, 分析了不同年份(2007 年和 2009 年)繁殖不育系的父本保持系恢复基因 *Rf-1* 位点的基因型, 发现繁殖不育系黎榆 A 和榆密 15A 所用的 1145 株父本黎榆

B 和榆密 15B 的孢子体基因型都表现为 *rf/rf*, 没有出现保持系单株携带育性恢复基因 *Rf*。但在每年繁殖的各个不育系群体中均产生少量携带恢复基因的可育株, 其基因型为杂合基因型 *Rf/rf*, 该恢复基因能使滇 1 型不育系的育性恢复。这说明滇 1 型不育系繁殖群体中出现的可育株携带的核恢复基因不是来自不育系繁殖父本保持系的孢子体。这一结论与我们对滇 1 型不育系合系 42A 群体中出现的可育株携带的恢复基因来源不可能是父本保持系合系 42B 的推断吻合(文建成等, 2008)。但有研究报道, 水稻不育系群体中出现的可育株恢复基因, 是由于用于繁殖不育系的父本保持系中存在携带恢复基因的植株, 在繁殖时恢复基因迁移至不育系所致(刘学军和孙林静, 1999; 陆作楣等, 2000; 王际凤和陆作楣, 2007)。

对可育株的自交和测交后代分析, 群体单株的结实率和外观性状上均没有出现明显分离, 没有观察到被异品种花粉污染的情况。说明滇 1 型不育系中可育株的恢复基因不是来自粳型杂交稻的恢复基因直接迁移所致。有研究报道认为, 粳型杂交稻恢复基因直接迁移是粳型不育系群体产生携带恢复基因的可育株的一个重要途径, 在可育株的自交和测交后代群体中能观察到明显性状分离(陆作楣等, 2000)。至于滇 1 型不育系中可育株携带的恢复基因来源途径有待进一步研究。

3 材料与方法

3.1 试验材料

试验材料为用于杂交种子生产的育性稳定的滇 1 型粳稻不育系黎榆 A 和榆密 15A 及其相应的保持系黎榆 B 和榆密 15B, 在 2 个不育系繁殖群体中产生的 13 株携带恢复基因的可育株, 以及这些可育株自交 S_1 和给不育系授粉杂交 F_1 代群体。

3.2 试验种植

材料种植于蒙自和昆明, 其中蒙自(海拔为 1 260 m, 年均温 18.6℃)于 2 月下旬播种, 4 月上旬移栽, 6 月抽穗, 7 月收获。昆明(海拔 1 890 m, 年均温 15.7℃)于 3 月中旬播种, 5 月初移栽, 7-8 月抽穗, 10 月收获。采用单苗栽插, 灌溉和施肥管理与当地水稻生产一致。

3.3 方法

3.3.1 繁殖不育系群体及可育株的鉴定

不育系繁殖群体在蒙自和昆明产生。于 2007

年在蒙自种植 2 个不育系, 黎榆 A 和榆密 15A 及其相应保持系黎榆 B 和榆密 15B, 在开花期将不育系植株上开放过的颖花剪去后, 对不育系的稻穗进行剪颖处理, 并用相应的保持系与之套袋授粉, 不育系与保持系杂交便获得新一代不育系种子。于 2009 年在昆明种植这 2 个不育系及其保持系, 采用相同的繁殖方法, 繁殖 2 个不育系群体。

把蒙自和昆明繁殖的 2 个不育系种子分别在 2008 年和 2010 年种植, 在开花期对繁殖不育系群体进行检查, 出现花药开裂散粉而外观性状与保持系相似的单株, 视为可育株。将可育株上正开放和已开过的颖花剪去, 并进行套袋处理, 即可获得自交后代 S_1 。同时, 用可育株给相应的不育系授粉, 可获得回交 F_1 代, 又给另外 2 个滇 1 型不育系(滇系 5 号 A 和合系 42A)授粉杂交获得 F_1 代。次年(2009 年和 2011 年)在昆明种植自交 S_1 、测交 BCF_1 代和杂交 F_1 代。

3.3.2 检测花粉的育性及结实率

检测各个可育株的套袋结实率和花粉育性, 以及各个 S_1 、 BCF_1 和 F_1 群体的套袋结实率。花粉育性鉴定和结实率分析方法同文建成等(2008)。

3.3.3 恢复基因位点的分子标记分析

采用 CTAB 法(Murry and Thompson, 1980), 分别提取在蒙自和昆明用于繁殖 2 个不育系群体的父本保持系单株的叶片总 DNA, 以及在不育系繁殖群体中产生的可育株的叶片 DNA。利用与水稻 *Rf-1* 恢复基因连锁的共显性 CAPS 标记 M49609*Bst*UI 进行基因型分析, 标记系列根据 Komori 等(2004)的报道。PCR 反应程序同文建成等(2008)。

作者贡献

张江丽和文建成是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 张江丽完成数据分析, 论文初稿的写作; 李娟、孙朝华、谭亚玲参与实验结果分析; 黄大军、普世皇、金寿林参与大田试验; 谭学林和陈丽娟参与项目的构思和实验设计; 文建成是项目的负责人, 指导实验设计, 数据统计, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究得到了云南省教育厅重点基金项目(2011Z039)、国家自然科学基金项目(31060088)和云南省科技计划项目(2009BB007)的共同资助。

参考文献

Komori T., Ohta S., Murai N., Takakura Y., Kuraya Y., Suzuki S.,

Hiei Y., Imaseki H., and Nitta N., 2004, Map-based cloning of a fertility restorer gene, *Rf-1*, in rice (*Oryza sativa* L.), *Plant J.*, 37(3): 315-325

<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01961.x>
PMid:14731253

Lei J.C., You N.S., and Zheng X.P., 1984, Genetic analysis for breeding maintainer line of male sterility of wild rice with abortive pollen, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, (5): 30-34 (雷捷成, 游年顺, 郑秀萍, 1984, 野败型水稻雄性不育系保持系选育的遗传分析, *中国农业科学*, (5): 30-34)

Lin X.J., and Sun L.J., 1999, Relation between migration of restoring genes of hybrid rice and self fruitfulness in MS Line, *Huabei Nong Xuebao (Acta Agriculturae Boreali-Sinica)*, 14(2): 25-29 (刘学军, 孙林静, 1999, 杂交稻恢复基因迁移与不育系自交结实的关系, *华北农学报*, 14(2): 25-29)

Liu X.J., Sun L.J., Su J.P., and Ma Z.Y., 2004, Causes of and countermeasures to admixture and degeneration of japonica cytoplasmic-genetic male sterility, *Zuowu Yanjiu (Crop Research)*, 18(4): 197-200 (刘学军, 孙林静, 苏京平, 马忠友, 2004, 粳型三系不育系混杂退化原因及对策的探讨, *作物研究*, 18(4): 197-200)

Lu Z.M., Tao J., and Liu X.J., 2000, Influence of introgression of restoring genes on MS line purity and hybrid yield in Indica and Japonica rice, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, 33(3): 1-7 (陆作楣, 陶瑾, 刘学军, 2000, 恢复基因渗入对籼、粳不育系纯度和杂交稻产量影响的研究, *中国农业科学*, 33(3): 1-7)

Murry M.G., and Thompson W.F., 1980, Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, *Nucleic Acids Res.*, 8(19): 4321-4325

Shu Q.Y., Xia Y.W., Zuo X.X., and Liu G.F., 1996, Marker-assisted elimination of contamination in two-line hybrid rice seed production and multiplication, *Zhejiang Nongye Daxue Xuebao (Journal of Zhejiang Agricultural University)*, 22(1): 56-60 (舒庆尧, 夏英武, 左晓旭, 刘贵付, 1996, 二系杂交水稻制繁种中利用标记辅助去杂技术, *浙江农业大学学报*, 22(1): 56-60)

Sun H.B., Li Y.P., Zhou M.Z., Zhou W., and Niu J., 2003, Differentiating fertile plants in Japonica CMS lines, *Tianjin Nongye Kexue (Tianjin Agricultural Sciences)*, 9(4): 9-11 (孙海波, 李艳萍, 邹美智, 周维, 牛景, 2003, 水稻粳型不育系中可育株鉴别的研究, *天津农业科学*, 9(4): 9-11)

Wang J.F., and Lu Z.M., 2007, Influence of genetic drift of restoring gene on seed purity of yuetai a, a



- honglian-type cytoplasmic male sterile line, *Zhongguo Shuidao Kexue (Chinese Journal of Rice Science)*, 21(5): 500-506 (王际凤, 陆作楣, 2007, 恢复基因的渗入对红莲型不育系粤泰 A 纯度的影响, *中国水稻科学*, 21(5): 500-506)
- Wen J.C., Huang D.J., Tan X.L., Wang S.H., Tan Y.L., Gu X.M., Li W.H., and Fang Y., 2008, Identification of genotype of fertility reversion plants occurring in rice CMS line, *Fenzi zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 6(4): 650-654 (文建成, 黄大军, 谭学林, 王石华, 谭亚玲, 顾晓明, 李伟华, 房毅, 2008, 水稻细胞质雄性不育育性回复株的基因型鉴定, *分子植物育种*, 6(4): 650-654)
- Wen J.C., Huang D.J., Tan Y.L., Wang S.H., and Tan X.L., 2010, Genetic analysis of fertility revertants identified in rice CMS populations, *Crop Science*, 50(3): 903-908 <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2008.12.0722>
- Yashitola J., Sundaram R.M., Biradar S.K., Thirumurugan T., Vishnupriya M.R., Rajeshwaria R., Viraktamath B.C., Sarma N.P., and Sonti R.V., 2004, A sequence specific pcr marker for distinguishing rice lines on the basis of wild abortive cytoplasm from their cognate maintainer lines, *Crop Science*, 44(3): 920-924 <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2004.0920>
- Zhang S.H., Zhao Z.H., Zhou B., Huang Z.C., Zhou G.Q., and Hu R.K., 2002, Causes of admixture in parental and hybrid seeds of hybrid rice and the countermeasures to ensure seed purity, *Zajiao Shuidao (Hybrid Rice)*, 17(5): 16-19 (张世辉, 赵正洪, 周斌, 黄志才, 周国强, 胡仁科, 2002, 杂交稻及亲本种子混杂的原因与对策, *杂交水稻*, 17(5): 16-19)
- Zhou T.L., Zhen X.P., Chen J.Q., Wu J.Z., Zhang G.Z., and Fang Q.Y., 1992, Studies on the origin and genetic analysis of abnormal plants appeared in MS lines of rice, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 18(1): 9-16 (周天理, 郑秀萍, 陈金泉, 吴建镇, 张功宙, 黄琪玉, 1992, 水稻不育系中杂株的来源及遗传分析, *作物学报*, 18(1): 9-16)