

文章编号 :1003-8701(2013)03-0025-06

水稻光温敏核不育基因的分子标记定位研究

刘宪虎¹,许明子¹,李美善¹,姜文洙²,南钟浩³

(1. 延边大学农学院,吉林 延吉 133002; 2. 吉林大学植物科技学院,长春 130062;
3. 吉林省农科院水稻所,吉林 公主岭 136100)

摘要:研究了粳型两用不育系 D18S 和栽培品种黏 2 杂交的 F₂ 群体的主要农艺性状和结实率,并利用水稻第 7 染色体上的 7 个 SSR 标记进行了连锁分析,绘制了遗传图谱,同时利用上述标记对所调查的农艺性状进行了 QTL 分析。结果表明: D18S×黏 2 的 F₂ 群体中正常结实株和不育株的比例呈 3:1,说明在 D18S/黏 2 群体的不育性受一个隐性独立基因的控制; 控制 D18S 的不育性的光敏核不育基因位于第 7 条染色体长臂段的 RM445 和 RM418 之间,其遗传距离分别为 4.5cM 和 0.7cM; 在所标记的区段检测出株高和穗长的 QTL,其对株高和穗长的贡献率分别为 17.5%和 20.0%,另外结实率的 QTL 能解释 83.2%的表型变异。

关键词:水稻;光温敏核不育;SSR 标记;基因定位

中图分类号:S511.01

文献标识码:A

Mapping for a Photo-Thermo Sensitive GMS (PTGMS) Gene in Rice

LIU Xian-hu¹, XU Ming-zi¹, LI Mei-shan¹, JIANG Wen-zhu², NAN Zhong-hao³

(1. Department of Agronomy, Agricultural College of Yanbian University, Yanji 133002;
2. College of Plant Sciences, Jilin University, Changchun 130062;
3. Rice Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: The F₂ population developed from the cross between two Japonica rice cultivars, 'D18S (PT-GMS)' and 'Nian No.2', was used to identify quantitative trait loci (QTLs) for major agronomic traits including seed setting rate. The results revealed that the segregation of the normal fertile plant and sterile plant subject to the ratio of 3:1, indicating that the trait PTGMS in the population D18S (PTGMS) × Nian No2 is controlled by a independent recessive gene. A total of seven simple sequence repeat (SSR) markers segregated in the F₂ population were distributed over the chromosome 7. The PTGMS gene was mapped between the markers RM445 and RM418 with 4.5 cM and 0.7cM interval. Moreover, two QTLs related with plant height and ear length were also mapped to the same position, which contributes to plant height and ear length by 17.5% and 20.0%. In addition, seed setting rate could interpret 83.2% of phenotypic variations.

Keywords: Rice; PTGMS; SSR; Gene mapping

1973 年石明松首次在晚粳型水稻品种农垦 58 的大田中发现光敏核不育系的自然突变体农垦 58S(石,1981)。目前我国的光敏核不育系大多数是从农垦 58S 转育而来的,这类不育系的特点是育性受光、温等环境条件的影响,可产生不育向可育的转换,且这一性状受细胞核内隐性基因控制,育性转换可以遗传。它是在三系杂交稻的基础

上发展起来的,两系杂交稻育种的基础。目前两系杂交稻在中国水稻生产中占很大的比重。

很多研究表明,农垦 58S 及其粳型衍生系间不育基因是等位的,受一个隐性基因的控制;然而农垦 58S 及其衍生的籼型不育系间,不育基因有些是等位的、有些是不等位的(孙,1994;廖,2001;Zhang,1994)。随着分子标记的发展,已定位了很多光敏、温敏核不育基因,而且有些基因被精细定位甚至达到基因克隆的阶段。在光敏核不育基因的定位研究中已定位了 3 个基因,分别位于第 3、

收稿日期:2013-01-20

作者简介:刘宪虎(1957-),男,教授,主要从事水稻遗传育种研究。

7、12 条染色体上(表 1)。Zhang 等(1994)率先利用 RFLP (restriction fragment length polymorphism, 限制性片断长度多态性), 以 32001S×明恢 63 杂交组合的 F₂ 分离群体为材料, 采用集群聚类分析 (BSA, bulked segregant analysis) 发展而来的极端集群-隐形群方法将农垦 58S 的光敏核不育基因 *pms1* 和 *pms2* 定位在第 7 和第 3 染色体上, 其中位于第 7 染色体上的 *pms1* 基因效应比 *pms2* 基因大。Liu 等(2001)在 5 000 多个 F₂ 群体中挑选 240 个高度不育个体和 599 个随机筛选个体分别构成作图群体, 对光敏核不育基因 *pms1* 进行精细定位。对高度不育群的定位分析结果, *pms1* 位于 RG477 和 R1807 之间, 距离分别为 0.25cM 和 3.8cM。在 *pms1* 基因区段通过 RFLP 和染色体操作对明恢 63DNA 的 BAC 库进行分析, 将 *pms1*

基因区段固定到总长度为 500kb 的 7 个 DNA 片段组(contig)之间, 再通过重组体分析缩短到 3 个 DNA 片段组。最后通过对 2109 片段进行序列分析将 *pms1* 定位在两个 SSR 引物之间总长 85kb 的区间上。Mei (1996b)在农垦 58S×农垦 58N 和农垦 58S×1514 的 F₂ 分离群体中利用分子标记分别在染色体 7 和 12 上定位了光敏核不育基因, 其中第 7 条染色体上的基因 *pms1* 已被定位, 而第 12 条染色体上的基因 *pms3* 首次被定位, 尤其是在农垦 58S×农垦 58N 群体中只有 *pms3* 位点分离而 *pms1* 位点不分离, 这一结果在 Li (2001)的研究中也得到证实。最近, Lu (2006)在农垦 58S 和 1514 的 F₂ 分离群体中将 *pms3* 位点缩短到 28.4kb 染色体片段中。

到目前为止, 已定位了 *tms1*、*tms2*、*tms3*、

表 1 光敏核不育(PGMS)基因目录

作图群体	基因符号	染色体	连锁标记	参考文献
32001S/明恢 63(F ₂)	<i>pms1</i>	7	RG477-RG511	Zhang et al., 1994
32001S/明恢 63(F ₂)	<i>pms2</i>	3	RG348-RG191	Zhang et al., 1994
农垦 58S/1514(F ₂)	<i>pms1</i>	7		Mei et al., 1999
农垦 58S/1514(F ₂)	<i>pms3</i>	12	R2708-C751	Mei et al., 1999
农垦 58S/1514(DH)	<i>pms3</i>	12	C751-M36	Li et al., 2001

tms4、*tms5*、*tms6*、*rtms1* 等 7 个温敏核不育基因, 分别位于第 8、7、6、2、2、5、10 染色体上 (图 2)。Yang 和 Wang (1988) 首次发表温敏核不育系 5460S, 并把控制温敏核不育性的基因定名为 *tms1*, Kinoshita (1992) 发现新的温敏核不育系 NorinPL12, 将其基因定名为 *tms2*。Wang (1995) 在第 8 条染色体上定位了 *tms1* 基因, 则 *tms2* 定位在第 7 条染色体上 (Yamaguchi 1997)。Subudhi (1997) 报道 NorinPL12 和 IR32364 的不育基因不等位, 并利用 RAPD 分子标记将 IR32364 的温敏

核不育基因 *tms3* 定位在第 6 条染色体上。Dong (2000) 利用 AFLP、RFLP、SSR 分子标记将粳型温敏核不育系 TGMS-VN1 的不育基因定位在第 2 条染色体上, 并将其基因定名为 *tms4*。与 *tms4* 类似, Wang (2003) 在粳型温敏核不育系安农 S-1 定位了 *tms5*, 也位于第 2 条染色体上。Jia (2001) 在 J207S 中定位了反温敏核不育隐性基因 *rtms1*, 位于第 10 条染色体上。最近, Lee (2006) 报道韩国粳型温敏核不育系 Sokcho-MS, 并利用分子标记将其温敏核不育基因 *tms6* 定位于第 5 条染色体上。

表 2 温敏核不育基因目录

作图群体	基因符号	染色体	连锁标记	参考文献
5460S/Hongwan 52 (F ₂)	<i>tms1</i>	8	AF3-RM617	Wang et al., 1995
NorinPL-12/Nekken 2 (F ₂)	<i>tms2</i>	7		Yamaguchi et al., 1997
IR32364/IR68(F ₂)	<i>tms3</i>	6	OPAC3-640-OPAA7-550	Subudhi et al., 1997
TGMS-VN1/CH1(F ₂)	<i>tms4(t)</i>	2	E3/M16-400-E5/M12-600	Dong et al., 2000
Annong S-1/Nanjin 11(F ₂)	<i>tms5</i>	2	AACAG1-RM174	Jia et al., 2000
8987/Digu(F ₂)	<i>TMS</i>	6	RM50-C235	Li et al., 1999
J207S/E921(F ₂)	<i>rtms1</i>	10	RM216-RM239	Jia et al., 2001
SA2/N22(F ₂)	<i>TGMS</i>	9	RM257-EAA/MCAG	Reddy et al., 2000
Sokcho-MS/Neda(F ₂)	<i>tms6</i>	5	RM3351-E60663	Lee et al., 2005

光敏核不育水稻在北方寒冷稻作区的研究报道不多, 吴长明等(1993)研究了光敏核不育水稻在寒冷稻作区的育性转换特性及开花习性, 并论述了其在寒冷稻作区的利用价值和途径, 至于光敏核不育水稻育性的遗传、基因定位及相关分子

标记的研究尚未见报。本研究利用北方新选育的育性表现稳定的不育系 D18S 为材料, 探索控制 D18S 育性的基因及相关联分子标记, 并利用数量性状位点分析探索与不育基因相联系的其他农艺性状, 为光敏核不育系 D18S 及其衍生系在寒冷

稻作区的利用提供理论依据,同时为改良其他农艺性状提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以粳型两用不育系 D18S 和栽培品种黏 2 为亲本,组配杂交组合,得到 F_2 群体,构建一个 F_2 作图群体。对 F_2 单株编号(包含 145 个单株),成熟收获期调查亲本及每个单株的育性及其他农艺性状。对两个亲本各挑选 5 株生长基本一致的单株进行调查。

1.2 试验方法

1.2.1 D18S 与黏 2 的杂交组合 F_2 育性的调查

自然结实率:成熟时选取单株中未套袋的稻穗至室内考种,凡已受精,子房内有物质积累的秕粒也计为实粒,然后计算单株结实率。

自交结实率(套袋结实率):在 F_2 群体每个单株主穗穗尖抽出约 1 cm 时用羊皮纸袋套袋进行自交,记载其抽穗日期,成熟时收取套袋穗回室内考种,凡已受精并有干物质积累的秕粒均计为实粒,计算套袋自交结实率。

1.2.2 DNA 提取

于水稻孕穗期取叶片,在液氮中速冻后放入 -70°C 冰箱里保管备用。在液氮中研磨成粉末,移入 2 mL 离心管,加入 1 mL CTAB 缓冲液 [CTAB 20 g, $5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 350 mL, $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA 40 mL (pH8.0), $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 100 mL (pH8.0), dH_2O 490 mL, β -mercaptoethanol (BME) 1 mL], 在 65°C 下保温 30 min,加入 1 mL 氯仿:异戊醇(24:1),充分混匀后放置 20 min, $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取 0.8 mL 上层液移入到 2 mL 离心管中,加入 1 mL -20°C 95%乙醇充分沉淀; $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,用 -20°C 70%乙醇洗涤数次,溶于 1 mL TE (Tris-HCl pH8.0, $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA pH8.0) 缓冲液中, $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心,取上层液移入到 1.5 mL 离心管,加入 1 mL 95%乙醇(-20°C)充分沉淀 DNA; $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,晾干后溶于 1 mL TE 缓冲液中,测定 DNA 浓度后稀释成 $20\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$,用于 PCR 扩增反应。

1.2.3 PCR 反应

PCR 反应在 PTC-100 热循环仪中进行。PCR 反应体积为 $20\mu\text{L}$,其中 MgCl_2 $1.5\mu\text{L}$, $10\times$ reaction buffer $2.0\mu\text{L}$, $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP $1.0\mu\text{L}$, primer $1.0\mu\text{L}$, 1 U Taq 酶,水稻基因组 DNA (20 ng) $2\mu\text{L}$, ddH_2O $13\mu\text{L}$ 。PCR 反应程序为: 94°C 下预变性 4

min,然后 94°C 变性 1 min, 55°C 下退火 30 min, 72°C 延伸 30 min,共进行 35 个循环,最后 72°C 下延伸 5 min。PCR 扩增产物在 3% 的琼脂糖凝胶电泳中电泳,然后用 EtBr 染色 15 min,用蒸馏水冲洗后在紫外透射仪上照相,纪录试验结果。

1.2.4 分析方法

采用分离集团分析法(Bulked segregant analysis, BSA):在 F_2 分离群体中根据结实率将单株分组,在结实率极端高的和极端不育的单株中各挑选 5 株,每单株提取等量 DNA 混在一起各作一个 DNA 池,然后进行分子标记的筛选。本研究利用微卫星标记(SSR)进行分子定位。所用 SSR 标记从 <http://www.gramene.org> 网站下载。

1.2.5 统计分析

数据整理与分析利用 Microsoft Excel 2003 进行;柱状图用 SigmaPlot 9.0;遗传图谱的构建利用 JoinMap3 程序进行。

1.2.6 数量性状位点分析(QTL 分析)

QTL 分析利用 Qgene 3.0 软件分析,对各个性状的 permutation test 计算 10 000 次,取 99% 的置信区间作为 QTL 的 LOD 临界值。

2 结果与分析

2.1 F_2 群体的结实率及其他农艺性状的表现

在自然条件下 F_2 群体中正常结实株和不育株的分离比例呈 3:1 ($X^2=1.96$, $P=0.16$),说明在 D18/黏 2 群体的不育性受一个隐性独立基因的控制。不育株的育性范围为 0~7.6%,而可育株的育性范围为 11.1%~92.2%(图 1)。

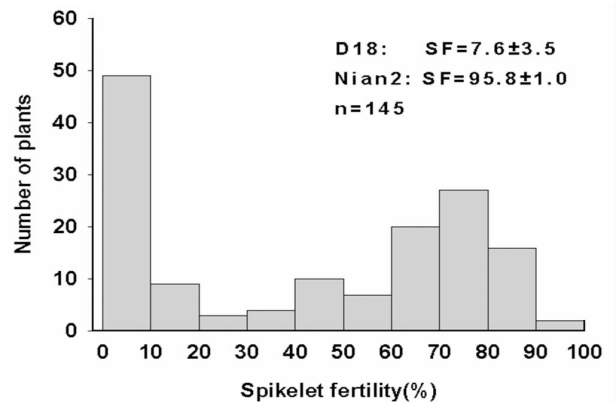


图 1 D18S/黏 2 F_2 群体 145 个植株的结实率分布情况 D18S 的结实率为 $7.6\% \pm 3.5\%$,黏 2 的结实率为 $95.8\% \pm 1.0\%$ 。

在株高、穗长、穗数、穗粒数 4 个农艺性状中,只有株高在两个亲本间有差异,而其他 3 个性状没有显著的差异。在 F_2 群体中所调查的 4 个农艺性状均表现近似的正态分布,适合进行数量性状

位点分析(图 2)。

相关性分析结果,结实率除穗数外与株高、穗长、穗粒数均表现极显著的正相关关系(表 3)。此

外,穗粒数与株高、穗长、穗数均呈极显著的正相关关系,株高和穗长、穗数呈显著或极显著的正相关关系。

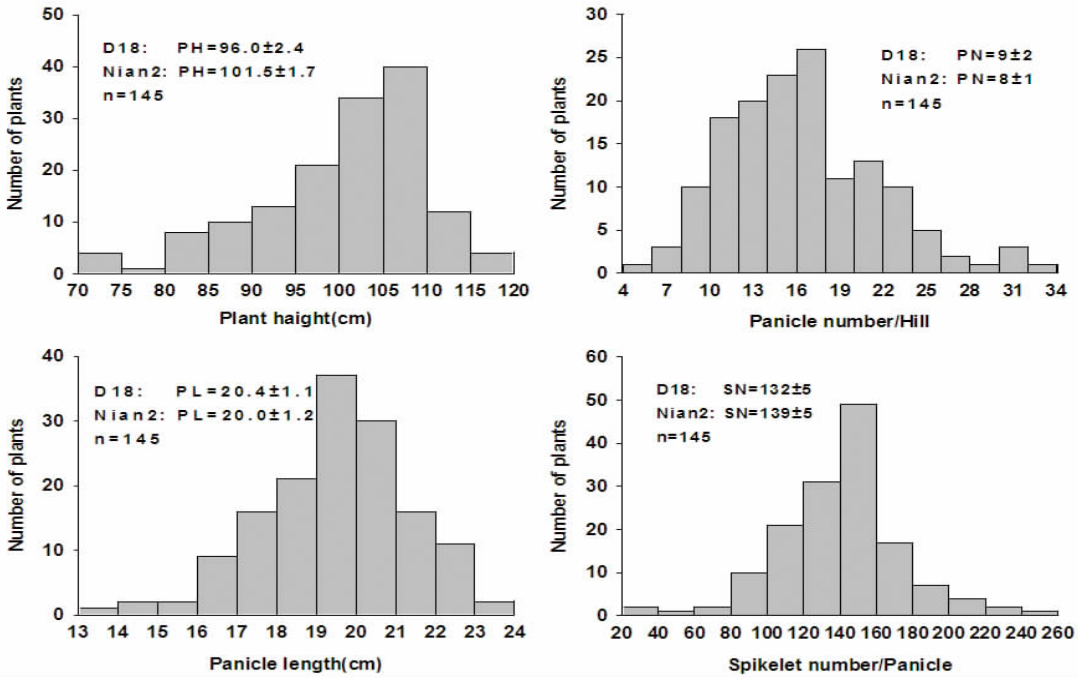


图 2 D18S/黏 2 F₂ 群体 145 个植株的农艺性状分布情况

表 3 结实率与其他农艺性状的相关系数(PH-株高;PL-穗长;PN-穗数;SN-粒数;SF-结实率)

	PH	PL	PN	SN
PL	0.211 3*			
PN	0.264 0**	0.102 5ns		
SN	0.293 4**	0.409 6**	0.261 6**	
SF	0.353 5**	0.476 1**	0.157 3ns	0.225 8**

2.2 光敏核不育基因的染色体定位

很多研究已经表明,农垦 58S 及其衍生系的光敏核不育性受 3 个基因的控制,其中第 7 条染色体上的 *pgms1* 的效应最大,而 *pgms2*(第 3 条染色体)、*pgms3*(第 12 条染色体)的效应较小。本研究中主要针对以上 3 个已经发表过的光敏核不育基

因进行分析,在 3 个基因的染色体区段各选 6 个标记利用分离集团分析法进行分析(图 3.A)。分析结果在第 7 条染色体上发现与不育性共分离的标记,并进一步在 F₂ 群体中分析(图 3.B),最后共检测出 7 个与不育性有连锁的标记(表 4)。

所筛选的标记与结实率进行单因子方差分析

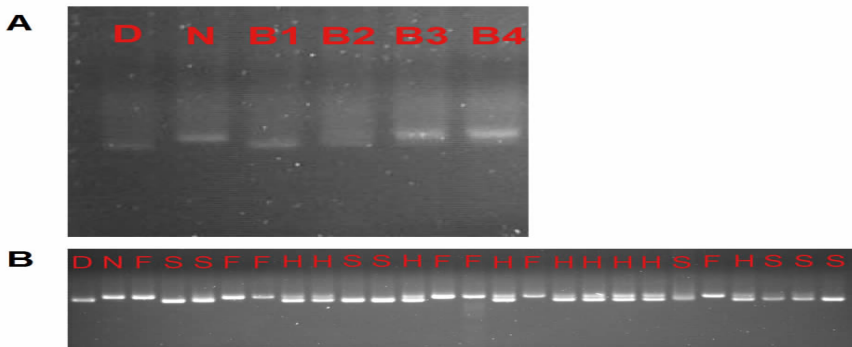


图 3 (A)基于 SSR 标记的光敏核不育基因所在染色体区域凝胶电泳图中谱带为用 RM445 检测到的等位基因。

泳道 :D,不育亲本 ;N,可育亲本 ;B1 和 B2 :不育植株混合样 ;B3 和 B4 :可育植株混合样。
(B)D18/Nian 2 杂交组合的 F₂ 群体中不育基因 *pgms1* 与 SSR 标记 RM445 的共分离
泳道 :D,不育亲本 ;N,可育亲本 ;F,可育植株 ;S,不育植株 ;H,杂合体

表 4 SSR 引物

Primer	Chr.	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Tm(°C)	Product size(bp)
RM234	7	ACAGTATCCAAGGCCTGG	CACGTGAGACAAGACGGAG	55	156
RM418	7	TCGCGTATCGTCATGCATAG	GAGCACATATGCCACGTACG	55	283
RM445	7	CGTAACATGCATATCACGCC	ATATGCCGATATGCGTAGCC	55	251
RM478	7	CAGCTGGGGAAGAGAGAGAG	TCAGAACTAAACGCACCCC	55	205
RM505	7	AGAGTTATGAGCCGGGTGTG	GATTTGGCGATCTTAGCAGC	55	199
RM542	7	TGAATCAAGCCCCTCACTAC	CTGCAACGAGTAAGGCAGAG	55	113
RM560	7	GCAGGAGAACAGAATCAGC	AGCCCGTGATACGGTGATAG	55	239

结果,7 个标记的基因型之间均具有极显著的方差,表明这些标记对结实率有显著的相互作用(表 5)。其中 RM418 和 RM560 的均值最大,分别为 68 808.1 和 64 271.5,表明这两个标记对不育性的作用最大。这些标记在 F₂ 群体的分离比例除 RM542 和 RM418 外基本上符合孟德尔分离比

例,说明利用这些标记可以进一步进行光敏核不育性的遗传图谱的绘制(表 6)。利用 7 个与光敏核不育系相互连锁的标记绘制了遗传图谱,结果表明光敏核不育基因位于第 7 条染色体长臂段的 RM445 和 RM418 之间,其遗传距离各为 4.5cM 和 0.7cM(图 4)。

表 5 基于 SSR 标记的 3 个染色体区域对结实率效应的单尾方差分析

Locus	Chr.	MS effect*	df error	MS error	F	P
RM542	7	38 647.1	145	620.7	62.3	0.00
RM445	7	57 822.6	145	350.6	164.9	0.00
RM418	7	68 808.1	145	195.9	351.3	0.00
RM560	7	64 271.5	145	259.8	247.4	0.00
RM505	7	54 807.4	145	393.0	139.4	0.00
RM234	7	43 699.5	145	549.5	79.5	0.00
RM478	7	18 080.5	145	910.3	19.9	0.00

表 6 D18/黏 2 杂交 F₂ 群体分子标记的分离

CHR.	No. of plants				Chi-sq(1:2:1)	P-value	
	D18	hetero	Nian 2	Total			
RM542	7	47	56	42	145	7.9	0.019
RM445	7	45	64	36	145	3.1	0.212
RM418	7	48	55	42	145	8.9	0.012
RM560	7	45	59	41	145	5.3	0.071
RM505	7	41	64	40	145	2.0	0.368
RM234	7	41	68	36	145	0.9	0.638
RM478	7	46	67	32	145	3.5	0.174

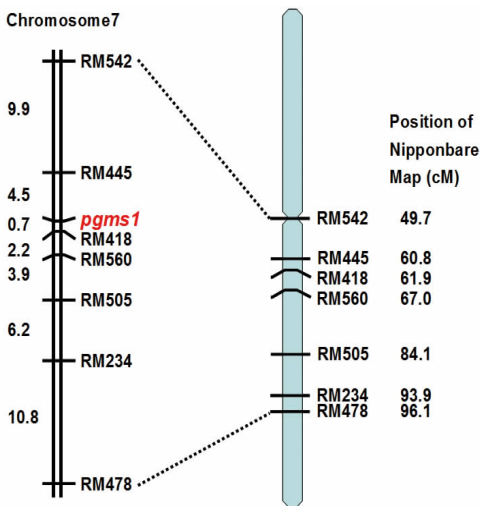


图 4 水稻第 7 号染色体上 pms 基因区段的连锁图谱定位标记的 LOD 值 >3.0 遗传距离采用 Kosambi 单位

2.3 QTL 分析

利用与定位的不育基因 *pgms1* 所连锁的分子标记对所调查的农艺性状进行了 QTL 分析,结果

表明在 *pgms1* 区段株高和穗长被检测出 QTL,其 QTL 能解释 17.5%和 20.0%。还有结实率的 QTL 能解释 83.2%,表明 *pgms1* 位点对 D18/Nian2 的育性起关键性的作用(表 7、图 5)。被检测 QTL 的

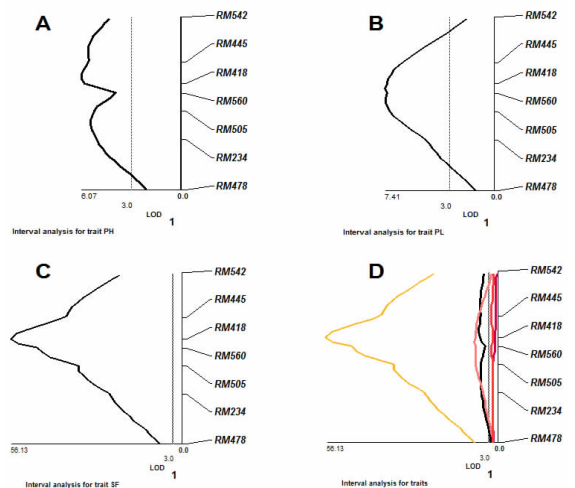


图 5 QTL 似然图表示每个农艺性状的 LOD 值

表 7 用 D18S/黏 2 F₂ 群体 145 个体检测的结实率和其他农艺性状的 QTLs(PH- 株高 ;PL- 穗长 ;SF- 结实率)

Traits	QTL	Marker interval	LOD	R ² (%)	Additive effect/cm(A)	Dominant effect/cm(D)	D/A	Permutation test (99%)
PH	qph7.1	RM542-RM478	6.1	17.5	-4.7	3.9	-0.8	2.7
PL	qpl7.1	RM542-RM478	7.4	21.0	-1.0	0.4	-0.4	2.6
SF	qsf7.1	RM542-RM478	56.1	83.2	-38.6	8.8	-0.2	2.8

性状均检测到显性效应,但加性效应和显性效应的比值很小,因此可以认为这些性状主要受加性效应的影响,可以忽略显性效应的影响。

3 讨 论

3.1 关于不育基因的定位

D18S/黏 2 杂交产生的 F₂ 的群体中育性分离呈 3:1 的比例,可以确定 D18S 的育性受一个独立的隐性基因的控制。光敏核不育系的基因已被定位 3 个,均来自农垦 58S。本研究中利用 D18S 和黏 2 的 F₂ 群体在第 7 条染色体上定位了一个不育基因,位于 RM445 和 RM418 之间,此位点与 *pgms1* 位于相同的染色体区段。

3.2 关于 QTL 分析

本研究中在第 7 条染色体 *pgms1* 区段检测出株高和穗长 QTL 各一个,都来源于不育系 D18S,起减少株高和穗长的作用。在不育系育性的筛选过程中可以利用株高和穗长间接筛选不育系的育性,但是随着穗长的减少可能影响穗粒数,因此利用 D18S 选育两用系时需要选好产量能力高的恢复系。

参考文献:

[1] 石明松. 晚粳自然两用系选育与应用初报 [J]. 湖北农业科学, 1981(7): 1-3.

[2] Borkakati R P, Virmani S S. Genetics of thermosensitive genic male sterility in rice[J]. Euphytica, 1996(88): 1-7.

[3] Dong N V, Subudhi P K, Luong P N, et al. Molecular mapping of a rice gene conditioning thermosensitive genic male sterility using AFLP, RFLP and SSR techniques [J]. Theor Appl Genet, 2000(100): 727-734.

[4] He Y Q, Yang J, Xu C G, et al. Genetic basis of instability of male sterility and fertility reversibility in photoperiod-sensitive genic male-sterile rice [J]. Theor Appl Genet, 1999(99): 683-693.

[5] Jia JH, Zhang D S, Li C Y, et al. Molecular mapping of the reverse thermo-sensitive genic male-sterile gene (*rtms1*) in rice[J]. Theor Appl Genet, 2001(103): 607-612.

[6] Ku S J, Yoon H J, Suh H S, et al. Male-sterility of thermosensitive genic male-sterile rice is associated with premature programmed cell death of the tapetum[J]. Plant, 2003

(217): 559-565.

[7] Kurata N, Miyoshi K I, Nonomura K I, et al. Rice mutants and genes related to organ development, morphogenesis and physiological traits [J]. Plant Cell Physiol, 2005, 46 (1): 48-62.

[8] Lee D S, Chen L J, Suh H S. Genetic characterization and fine mapping of a novel thermo-sensitive genic male-sterile gene *tms6* in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2005(111): 1271-1277.

[9] Li X H, Lu Q, Wang F L, et al. Separation of the two-locus inheritance of photoperiod-sensitive genic male sterility in rice and precisely mapping the *pms3* locus [J]. Euphytica, 2001(119): 343-348.

[10] Liu N, Shan Y, Wang F P, et al. Identification of an 85-kb DNA fragment containing *pms1*, a locus for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice [J]. Mol Genet Genomics, 2001(266): 271-275.

[11] Lopez M T, Virmani S S. Development of TGMS lines for developing two-line rice hybrids for the tropics [J]. Euphytica, 2000(114): 211-215.

[12] Mei M H, Dai X K, Xu C G, et al. Mapping and genetic analysis of the genes for photoperiod-sensitive genic sterility in rice using the original mutant Nongken 58S[J]. Crop Sci., 1999(39): 1711-1715.

[13] Reddy O U K, Siddiq E A, Sarma N P, et al. Genetic analysis of temperature-sensitive male sterility in rice [J]. Theor Appl Genet, 2000(100): 794-801.

[14] Wang B, Xu W W, Wang J Z, et al. Tagging and mapping the thermosensitive genic male-sterile gene in rice (*Oryza sativa*) with molecular markers[J]. Theor Appl Genet, 1995(91): 1111-1114.

[15] Wang Y G, Xing Q H, Deng Q Y, et al. Fine mapping of the rice thermo-sensitive genic male-sterile gene *tms5*[J]. Theor Appl Genet, 2003(107): 917-921.

[16] Zhang Q, Shen B Z, Dai X K, et al. Using bulked extremes and recessive classes to map genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice [J]. Pro Natl Acad Sci USA, 1994(91): 8675-8679.

[17] 吴长明,曹静明,傅秀林. 光敏核不育水稻在寒冷稻作区的育性转换特性及开花习性 [J]. 中国水稻科学, 1993, 7(2): 113-116.

[18] 吴长明,曹静明,傅秀林,等. 杂交粳稻选育研究 光敏核不育水稻的研究现状及其在寒冷稻作区的利用价值和途径刍议 [J]. 吉林农业科学, 1992(3): 15-19.