

# 水稻的雄性不育性及其在杂种优势中的利用

梁满中, 王 锋, 殷小林, 肖翡翠, 张聪枝, 高琴梅, 刘伟浩, 胡舒畅, 陈良碧\*  
(湖南师范大学 生命科学学院 作物不育资源创新与利用湖南省重点实验室, 中国湖南 长沙 410081)

**摘 要:** 雄性不育性是植物界存在的普遍现象, 雄性不育系在水稻杂种优势利用中起着重要作用。我国水稻杂种优势的利用经历了“三系法”“两系法”和“第三代”杂交水稻的发展历程, 该历程的实质就是水稻雄性不育系种子生产技术体系的发展。本文综述了细胞质雄性不育系、两用核不育系和隐性核不育系在我国水稻杂种优势利用中的研究进展, 展望了水稻雄性不育系在水稻杂种优势利用的发展前景, 以期为我国杂交水稻的创新发展提供参考。

**关键词:** 水稻; 雄性不育; 细胞质雄性不育; 两用核不育; 育性; 杂种优势

中图分类号: Q955

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2021)05-0377-09

## Male Sterility of Rice and Its Utilization in Heterosis

LIANG Man-zhong, WANG Feng, YIN Xiao-lin, XIAO Fei-cui,  
ZHANG Cong-zhi, GAO Qin-mei, LIU Wei-hao, HU Shu-chang,  
CHEN Liang-bi\*

(Hunan Province Key Laboratory of Crop Sterile Germplasm Resource Innovation and Application, College of Life Sciences,  
Hunan Normal University, Changsha 410081, Hunan, China)

**Abstract:** Male sterility is a common phenomenon in plants. Male sterile lines play an important role in the utilization of heterosis in rice. The utilization of rice heterosis in China has experienced the development process of “three-line method”, “two-line method” and “third generation” hybrid rice. The essence of this process is the development of rice male sterile lines seed production technology. This paper reviewed the research progress of cytoplasmic male sterile lines, dual-purpose genic male sterile lines and recessive genic male sterile lines in the utilization of heterosis in rice in China. It also described the prospect of male sterile lines in hope of providing a reference for innovative development of hybrid rice in China.

**Key words:** Rice (*Oryza sativa* L.); male sterility; cytoplasmic male sterile; dual purpose genic male sterile; fertility; heterosis

(*Life Science Research*, 2021, 25(5): 377-385)

水稻是我国主要的粮食作物, 我国三分之二以上的人口以水稻为主食。在过去的 40 多年里, 水稻杂种优势利用为我国的粮食安全作出了重要贡献。水稻是自花授粉作物, 其颖花多且小, 无法通过人工去雄的方法生产杂交种。水稻利用杂种优势唯一可行的途径就是利用雄性不育系做母本与恢复系杂交生产杂交种。利用雄性不育系可以

省去繁杂的人工去雄程序, 提高杂交制种的效率和杂交种子的产量。雄性不育(male sterility)是指植物在有性繁殖过程中雄蕊发育不正常, 不能产生正常可育的花粉, 正常情况下不能自交受精结实; 而雌蕊发育正常, 能接受正常可育花粉并受精结实; 雄性不育现象在植物中普遍存在, 自 1763 年德国植物学家约瑟夫戈特利布克(Joseph

收稿日期: 2021-08-23; 修回日期: 2021-10-06

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(2016JC2023); 国家科技重大专项资助项目(2016yFD0101107)

作者简介: 梁满中(1962—), 男, 湖南溆浦人, 湖南师范大学教授, 博士, 主要从事水稻杂种优势利用研究; \* 陈良碧(1955—), 男, 湖南沅陵人, 湖南师范大学教授, 博士生导师, 主要从事植物发育研究与分子生物学研究, E-mail: chenliangbi@126.com。

Gottlieb Kolreute)<sup>[1]</sup>首次观察并报道植物雄性不育的现象起,已有 610 多种植物被报道了雄性不育现象<sup>[2]</sup>。

1964 年袁隆平在胜利籼中发现雄性不育株<sup>[3]</sup>,自此开启了我国水稻杂种优势利用的序幕。在水稻杂种优势利用中,利用雄性不育系技术的关键是不育系种子的批量繁殖。在我国水稻杂种优势利用中,实用的雄性不育的遗传类型按其繁殖方式有细胞质雄性不育系两用核不育系和隐性核不育系三种主要类型。细胞质雄性不育系需要选育与该不育系核基因相同的保持系来繁殖不育系种子,杂种优势利用需要选育基因纯合的不育系、保持系和恢复系 3 个系统,通常称为“三系法”杂交水稻。两用核不育系在花粉发育的敏感期,一定的光温条件下花粉表现为雄性不育,可以进行杂交制种;而在另一光温条件下不育系花粉则为可育,可以自交繁殖种子。环境敏感型不育系可以一系两用,在杂种优势利用只需要不育系和恢复系,所以通常称为“两系法”杂交水稻。隐性核不育系的育性表现为不育性稳定,花粉育性不受光温影响而发生育性转换,无法像“两用核不育系”一样自交繁殖不育系种子。在品种资源中无法找到保持雄性不育性的资源选育保持系,不能实现不育系种子生产。但是利用现代生物技术的智能不育技术<sup>[4]</sup>可以实现隐性核不育系的繁殖,即“第三代”杂交水稻<sup>[5]</sup>。我国水稻雄性不育系在水稻杂种优势利用中经历了“三系法”“两系法”和“第三代”杂交水稻的发展历程,本文综述了我国杂交水稻主要应用的雄性不育系在水稻杂种优势利用中的发展历程和研究进展,展望了水稻雄性不育系在水稻杂种优势利用的发展前景,以期为我国杂交水稻的创新提供发展提供参考。

## 1 细胞质雄性不育系的利用

最早报道细胞质雄性不育系(cytoplasmic male sterility, CMS)的是日本的 Weearatne 和 Sampath,其在本日本粳稻“藤坂 5 号”(Fujisaka 5)与中国红芒野生稻杂交后代发现雄性不育株,然后用“藤坂 5 号”做轮回亲本回交转育选育成“藤坂 5 号”细胞质雄性不育系,由于没有找到恢复系,未能应用于水稻杂种优势利用。1966 年日本 Shinjyo 和 O'mura 用印度籼稻钦苏拉包罗 II (Chinsurah Boro II)做母本与中国台北粳稻台中 65 (Taichung 65)杂交,然后用后代群体中发现的雄性不育株与“台中

65”连续回交,选育成“台中 65A”不育系,实现了不育系的繁殖。“台中 65A”不育系育成后,找到了恢复系,实现了“三系”配套。但由于选用的粳稻恢复系与不育系“台中 65A”亲缘关系近,杂种优势不强,且又是高秆品种,未能应用于生产<sup>[6]</sup>。1970 年袁隆平的助手李必湖在海南三亚普通野生稻中发现了自然突变的雄性不育株“野败”,利用长江中下游稻区的许多籼稻品种都能保持“野败”的雄性不育性,实现不育系的繁殖。国内育种工作者从东南亚和国际水稻研究所的种质资源中筛选出具有较强恢复能力材料,由此实现了水稻杂种优势利用的“三系”配套<sup>[6]</sup>。由于选育的不育系与恢复系亲缘关系较远,所以选育的杂交组合(南优 2 号、汕优 2 号)表现出很强的杂种优势,“三系”杂交水稻在我国很快就大面积推广应用,为我国的粮食安全做出了巨大的贡献。

根据细胞质来源不同,细胞质雄性不育系可分为野败型、冈型、D 型、印尼水田谷型、矮败型、K 型、红莲型、包台型和滇型等;根据花粉败育发生的时间不同,其可分为孢子体不育和配子体不育。野败型、冈型、D 型、印尼水田谷型、矮败型、K 型花粉败育发生在花粉母细胞形成至减数分裂期,属孢子体不育。红莲型、包台型和滇型等花粉败育发生在二核或三核花粉期,为配子体不育。野败型细胞质雄性不育系是水稻杂种优势利用中应用最早、应用面积最大的细胞质雄性不育类型<sup>[6]</sup>。

### 1.1 野败型细胞质雄性不育系

1970 年 11 月,袁隆平的助手李必湖在海南南红农场的普通野生稻群中发现一株花药瘦小、淡黄色、不开裂、花粉育性表现为典败的雄性不育株,命名为“野败”。长江流域早籼品种和“野败”杂交,后代能保持“野败”雄性不育特性。袁隆平利用“二九南 1 号”与“野败”连续回交选育出“二九南 1A”,颜龙安用“珍汕 97”转育出“珍汕 97A”,实现了野败型雄性不育系的大量繁殖。随后,育种工作者育成了威 20A、金 23A、博 A、龙特浦 A、川香 29A、天丰 A、粤丰 A 等在生产中大面积推广应用的不育系。“珍汕 97A”是我国杂交水稻历史上应用面积最大的不育系<sup>[7]</sup>。

“野败”细胞质雄性不育系属孢子体雄性不育,花粉败育发生在花粉母细胞形成期,通常不能形成花粉粒,即“无花粉型”败育。湖南师范学院生物系<sup>[8]</sup>通过对南广占系 C35171、南陆矮系 D31134、68-899 系等“无花粉型”不育株进行观察,发现有

造孢细胞分裂异常、花粉母细胞减数分裂异常、四分体以后退化 3 种败育方式。湖南师范学院生物系<sup>[9]</sup>对“野败”二九南 1 号和湘早矮等不育系进行观察,发现绒毡层细胞与花粉粒一起退化消失。潘坤清等<sup>[10]</sup>观察野败型不育系珍珠矮不育系(BC<sub>6</sub>F<sub>1</sub>)等发现在花粉发育的单核后期,中间层细胞液泡化导致绒毡层破坏消失。此时败育的花粉已形成一个典型的花粉形态,因此称为“典败型”花粉败育。野败型细胞质雄不育系不育性稳定,如金 23A、丰源 A 在自然高温条件下,不会出现育性波动<sup>[11-12]</sup>。

野败型细胞质雄性不育基因为线粒体基因 WA352,它由 3 个线粒体开放阅读框 *orf284*、*orf-224*、*orf288* 和 1 个短 *SUO* 组成。该基因编码的蛋白质 WA-352 在花粉母细胞期的花药绒毡层中大量累积,并与核基因编码的线粒体蛋白质 COX11 发生相互作用,抑制 COX11 在过氧化物代谢中的功能,触发绒毡层过早程序性细胞死亡,导致随后的花粉败育<sup>[13]</sup>。

野败型细胞质雄性不育系选育成功后,水稻育种工作者利用我国主要稻区的水稻品种进行了大量测配,没有发现强恢复能力的品种资源。1973 年广西农学院的张先程率先在东南亚和国际水稻研究所的品种资源中发现了“泰引 1 号”和“IR24”具有强恢复能力和强杂种优势的种质,随后全国水稻育种工作者通过广泛测交又筛选出“IR661”“古 154”等具有强恢复能力和强杂种优势的种质资源。袁隆平利用“二九南 1A”、颜龙安用“珍汕 97A”分别与“IR24”测配,成功选育“南优 2 号”和“汕优 2 号”。谢华安用 IR30 (♀)与圭 630 (♂)杂交,选育出强恢复系明恢 63,用明恢 63 与“珍汕 97A”选育成的汕优 63 是我国应用范围广泛、应用面积最大和推广时间最长的杂交水稻品种<sup>[7]</sup>。

野败型细胞质雄性不育系育性恢复基因 *Rf4* 编码一个线粒体定位的 PPR 蛋白,通过抑制 WA-352 转录来发挥作用。*RF4* 可降解双顺反子 *rp15-WA352* 和单顺反子 WA352 转录本。育性恢复的杂交稻中恢复基因 *Rf4* 能使 WA352 转录本的丰度降低到约 20%,从而使野败型细胞质雄性不育育性恢复正常<sup>[13]</sup>。

## 1.2 红莲型细胞质雄性不育系

红莲型细胞质不育系(CMS-HL)是武汉大学朱英国等利用海南红芒野生稻与早籼品种莲塘早杂交获得的不育株与有保持能力的品种回交,选

育的一类细胞质雄性不育系。生产上应用的红莲型不育系主要有粤泰 A、丛广 41A、竹粳 A 和珞红 4A 等。全基因组高通量测序结果发现,珞红 3A 和珞红 4A 的第 7 号染色体上有一段长达 408 481 bp 的片段缺失,该缺失片段包含了 *OsNRAMP1* 和 *OsNRAMP5*<sup>[14]</sup>。王天抗等<sup>[15]</sup>在镉重度污染土壤中种植珞红 3A 和珞红 4A,开花期用黄华占(籽粒镉高积累)等品种授粉,收获珞红 3A 和珞红 4A 杂交种,杂交种籽粒的镉含量低于 0.1 mg/kg,表明珞红 3A 和珞红 4A 是镉低积累的品种资源<sup>[15]</sup>。珞红 3A 和珞红 4A 种质资源的应用将为低镉杂交水稻的选育带来新的技术突破。

红莲型细胞质不育系属配子体不育,花药黄色,瘦瘪,不开裂。武汉大学遗传研究室<sup>[16]</sup>对红芒野生稻和莲塘早杂交选育的红莲型不育系进行观察,发现花粉败育主要发生在单核晚期至二核早期,败育花粉经 I<sub>2</sub>-KI 染色后呈中空圆形,称为“圆败型”败育。徐树华<sup>[17]</sup>在红莲-华矮 15 不育系中发现,绒毡层细胞出现块状畸形增生,把邻近花粉母细胞推向药室中央,导致花粉母细胞解体。红莲型不育系花粉育性会受温度影响,如粤泰 A 在育性敏感期遇高温花粉可育度增加<sup>[11-12]</sup>。

红莲型胞质雄性不育基因 *orfH79* 编码一个细胞毒素肽,与细胞核编码的线粒体 mtETC 复合体 III 的 P61 亚基相互作用,干扰复合体 III 的活性,使 ATP 和 NADH 生成减少,导致雄性不育<sup>[18-19]</sup>。

红莲型细胞质雄性不育恢复系与野败型细胞质的恢复基因源不同,其恢复基因有 *Rf5*、*Rf6*,均编码线粒体 PPR 蛋白。*RF5* 与 *GRP162*、*RFC3* 互作形成复合体,加工 *atp6-orfH79* mRNA,完成育性恢复<sup>[20]</sup>,而 *RF6* 与 *HXK6* 互作,形成新的蛋白质复合体<sup>[21]</sup>。二者育性恢复通路相互独立。

## 1.3 滇型细胞质雄性不育系

1965 年云南大学李友铮发现了云南籼稻与粳稻台北 8 号的天然杂交不育株,用粳稻红帽缨回交,1969 年转育成滇一型红帽缨雄性不育系<sup>[22]</sup>。生产上推广应用的滇型不育系主要有滇榆 1 号 A、黎榆 1 号 A、滇寻 1 号 A、甬梗 2 号 A、甬梗 3 号 A 和甬梗 67A 等。育种工作者利用滇型不育系选育了一批适合云南高原特色的杂交粳稻,如榆杂 29、寻杂 36 和滇杂 32,这些杂交粳稻对稻瘟病抗性较强。宁波市农业科学院用甬梗系列不育系以“梗不籼恢”模式选育出甬优 7850、甬优 1540 和甬优 2640 等粳籼交亚种间超级杂交稻<sup>[7]</sup>。

#### 1.4 BT 细胞质雄性不育系

1966 年日本的琉球大学新城长友在印度籼稻钦苏拉包罗 II (Chinsurah Boro II) (♀)/台中 65 (Taichung 65) (♂) 籼粳杂交后代发现雄性不育株, 用该不育株与“台中 65”(粳稻)连续回交, 选育成细胞质雄性不育系“台中 65A”。BT 型细胞质雄性不育系的命名来源于其杂交组合亲本 Boro II / Taichung 65 的首字母。1972 年 BT 型不育系引入我国, 1975 年我国用台中 65A (♀)/黎明(♂)选育出粳稻 BT 型不育系黎明 A<sup>[22]</sup>。BT 型不育系是我国杂交粳稻应用最广的细胞质雄性不育类型。生产上推广应用的不育系主要有辽 5216A、辽 30A、武运粳 7 号 A、双九 A 等<sup>[6]</sup>。

BT 型不育系属配子体不育, 花药呈淡黄色, 瘦小, 不开裂, 花粉败育的时期发生在二核晚期或三核期, 花粉粒呈圆形, 有淀粉积累, 对 I<sub>2</sub>-KI 液有染色, 称为“染败”。中山大学遗传组<sup>[23]</sup>发现 BT 型不育系大部分花粉外部形态与保持系无明显差异, 只是极少数花粉在双核期和三核期生殖核和核仁变小, 有些则在三核期营养核退化, 核仁变小、核膜消失, 形成小粒花粉。

BT 型细胞质不育系的不育基因 *orf79* 的基因序列与红莲型胞质雄性不育(CMS-HL)基因 *orfH-79* 高度相似, 基因编码差异只有 5 个碱基。BT 型水稻中, 异常的线粒体开放阅读框 *orf79* 与加倍的 *atp6* 基因共转录, 编码一个细胞毒素肽, 这种有毒多肽在小孢子中特异积累, 导致配子体的雄性不育<sup>[24]</sup>。

BT 型细胞质不育育性恢复基因 *Rf1a* 和 *Rf1b*, 位于典型的 *Rf-1* 位点, 是多基因簇的成员, 编码三角状五肽重复蛋白。*RF1A* 和 *RF1B* 都定位在线粒体上, 它们分别通过内切和降解 *B-atp6/orf79* mRNA 的方式, 阻止毒肽的形成, 恢复育性。在裂解 mRNA 方面, *Rf1a* 上位于 *Rf1b*, 而且 *RF1A* 除了能裂解 *B-atp6/orf79* mRNA 外, 还能促进 *atp6* mRNAs 的编辑<sup>[24-25]</sup>。

#### 1.5 D1 型细胞质雄性不育类型

D1 型细胞质雄性不育系是江西宜春市农科所以东乡野生稻的优异质源, 采用野栽交和核置换的方法选育成的孢子体无花粉型不育系, 其花药退化, 败育彻底。育成的不育系有国际油占 A、油占 1A、测 64-7A 等<sup>[26]</sup>。

D1 型细胞质雄性不育系的花粉败育发生在小孢子母细胞减数分裂期, 此时绒毡层极度空泡

化并异常膨大, 其降解延迟。D1 型细胞质雄性不育系的不育基因 *orf182* 是一个嵌合的线粒体基因, 其转录翻译的蛋白质 ORF182 能够促进 ROS 的积累及 ATP 的还原<sup>[27]</sup>。

由于恢保关系与其他细胞质雄性不育系不同, 恢复系难以选育, 该型不育系在生产上应用较少。

#### 1.6 其他细胞质雄性不育类型

印尼水田谷型细胞质雄性不育系来源于湖南杂交水稻研究中心张慧廉在印度尼西亚水田谷 6 号中发现的不育株。其用珍汕 97B/IR665 杂交选育的定型株系与印水珍鼎(糯) A 杂交转育成印水型细胞质雄性不育系 II-32A<sup>[6]</sup>。II-32A 是目前我国配组组合最多的不育系, 选配的杂交组合 II 优 838 是长江中上游稻区中籼迟熟组对照品种<sup>[7]</sup>, 推广面积大, 推广的时间较长。印尼水田谷型不育系还有优 1A、中 9A 和 T98A 等品种。

冈型细胞质雄性不育系是四川农业大学于 1965 年用西非晚稻良种冈比亚卡(Gambiaka kokum)做母本与矮脚南特杂交后代不育株回交转育的一类不育系<sup>[7]</sup>, 主要有冈二九矮 7 号 A、冈 46A、万 6A。

D 型细胞质雄性不育系来源于四川农业大学水稻研究所 1972 年从“Dissi D52/37/矮脚南特”的 F<sub>7</sub> 发现的不育株。育种工作者用意大利 B、汕-1 和 297 回交转育成了 D 珍汕 97A 和 D297A 等一批 D 型细胞质不育系<sup>[6]</sup>。D 型不育系主要有 D62A、宜香 1A、川香 28A 等。选育的杂交稻 D 优 63 推广应用面积较大, 宜香优 2115 (宜香 1A/R2115) 是目前长江中上游稻区推广面积最大的优质杂交稻。

K 型细胞质雄性不育系是四川省农业科学院水稻高粱研究所在 1986 年用云南粳稻品种 K52 做母本的复合杂交 K/卢红早 1 号、珍新粘 2 号的 F<sub>2</sub> 分离群体发现的不育株与丰龙早/青二矮、卢红早 1 号 83N5-80 等回交转育成的 K 青 A 等一系列不育系<sup>[6]</sup>。推广应用的不育系主要有 K17A 和 K22A。

矮败型细胞质雄性不育类型是安徽省农业科学院将江西矮秆野生稻中发现的雄性不育株用协珍 1 号转育成的一类不育系<sup>[6]</sup>。应用于生产的矮败型不育系主要有协青早 A。

上述的印尼水田谷型、冈型、D 型、K 型和矮败型 5 种细胞质雄性不育类型的遗传特性均为孢子体不育, 花药干瘪、瘦小, 呈水渍乳白色, 不开裂,

花粉败育的发生在花粉母细胞形成至减数分裂期,表现为无花粉或典败花粉粒。其恢保关系与野败型细胞质雄性不育系类似。水稻线粒体和叶绿体基因遗传多态性的分析表明,冈型、D型、印尼水田谷型、矮败型、K型细胞质的线粒体、叶绿体DNA序列与野败型完全一致。而红莲型、包台型和滇型细胞质彼此间不相同,来源于不同的细胞质<sup>[28-29]</sup>。

## 2 两用核不育系的利用

1973年湖北石明松在粳稻农垦58中发现了雄性不育株,1981年两系法杂交水稻利用的设想被正式提出<sup>[30]</sup>。20世纪80年代,研究人员开展了对农垦58不育突变株的育性转换规律的研究,1985年正式将农垦58不育材料命名为“湖北光周期敏感核雄性不育水稻”,即“湖北光敏核不育水稻”。1987年在“863”计划杂交水稻专题组会议上,袁隆平提议用英文字母S(sterile的字首)作为该类不育系的标志,即在不育系名字末尾加上S,区别三系杂交稻不育系的符号A。农垦58不育材料被命名为农垦58S<sup>[30-33]</sup>。由于只有不育系和恢复系两系,双亲配组自由,不受恢保关系制约;不需要保持系,避免三系杂交水稻不育细胞质的负效应和单一细胞质可能带来的潜在危险。袁隆平正式提出了我国杂交水稻从“三系”到“两系”的发展战略<sup>[34]</sup>。

### 2.1 光敏核不育系

农垦58S在长日高温下不育,可进行杂交制种,在短日低温下可育,可自交繁殖。由农垦58S转育的光敏核不育系主要有培矮64S、新安S、G-1S、SE21S、7001S、华201S、N5088S等。培矮64S是我国应用面积最大的两用核不育系,目前,通过省级和国家审定的杂交稻组合有30多个,其中两优培九是我国第一个超级杂交稻组合。

光敏核不育系的育性转换受光长和温度控制,石明松<sup>[28]</sup>用光敏核不育系农垦58S进行分期播种,发现单株结实率与日照长度具有高度相关性( $r=0.9067$ )。但在长日低温下(24℃)农垦58S转为可育,而培矮64S等许多从农垦58S转育来的不育系育性主要表现为感温性,育性感光性不强,有的甚至没有感光性<sup>[35-37]</sup>。

光敏不育系农垦58S不育性遗传行为复杂,有一对基因、二对基因等遗传模式<sup>[38]</sup>。控制光敏核不育育性基因是和。编码一个长

链非编码RNA,LDMAR(long-day-specific male-fertility-associated RNA),并在长日条件下高表达。PMS1T能够被microRNA2118识别并介导剪切产生21 nt的phasiRNAs。农垦58S剪切位点下游的SNP位点的突变,提高了microRNA2118的剪切效率,使得phasiRNAs大量积累,导致长日条件下雄性不育<sup>[39]</sup>。基因同样编码一个含有1236个碱基的lncRNA,农垦58S中该基因一个单碱基突变,使得启动子区域甲基化水平升高,导致长日条件下LDMAR转录水平降低,使正处于发育的花药提前程序化死亡<sup>[40]</sup>。

### 2.2 温敏核不育系

1987年7月湖南省安江农业学校邓华凤在早籼品系超40/H285//6209-3中发现了天然不育材料,经过自交繁殖选育成温敏核不育系安农S-1<sup>[41]</sup>。随后杨仁崔在IR54辐射诱变的群体中发现不育株,选育成温敏核不育系5460S。杨远柱在不同生态类型材料抗罗早//4342/0248复合杂交的F<sub>2</sub>群体中发现不育株,并于1998年培育出不育起点温度最低、育性最稳定、种子生产最安全的温敏核不育系株1S<sup>[6]</sup>。

安农S-1在28℃下的花粉败育主要发生在单核花粉期,大部分花粉母细胞不能正常进行减数分裂,最终产生碎裂的小孢子,形成“典败型”败育,但在32.4℃下花粉母细胞解体,形成“无花粉型”败育<sup>[42]</sup>。安农S-1不育与绒毡层发育异常有关。电镜观察显示安农S-1不育期花药绒毡层上的乌氏体排列密集,且上面沉积很多物质<sup>[43]</sup>。

温敏核不育系安农S-1和株1S为单基因隐性遗传,杂交转育不育系快。育种工作者利用杂交转育方法选育了许多温敏核不育系,目前生产上应用的两用不育系75%左右是温敏核不育系。温敏核不育系在生产上应用面积较大的有Y58S、株1S、广占63S、C815S、810S、陆18S、香125S、1892S、广湘24S、淮S、田丰S、隆科638S和晶4155S等。株1S突破了长江中下游杂交早稻组合选育的技术难题,其中株两优819被农业部评为我国首个超级杂交早稻品种。Y58S选配了Y两优900等8个超级杂交稻组合,以隆科638S和晶4155S选配的晶两优华占、晶两优534和隆两优华占目前成为我国杂交稻中的主栽品种<sup>[7]</sup>。

温敏核不育育性转换主要受温度影响,育性转换的敏感期为花粉母细胞形成至减数分裂期<sup>[35-36]</sup>。利用温敏核不育系制种时遇上“盛夏低温”容易使

不育系育性发生反复,导致杂种制种失败,造成难以估量的损失。因此选育临界温度双低(即引起水稻生殖障碍的生理不育临界温度和诱导育性转换的不育临界温度均低)温敏核不育水稻是降低两系杂交水稻应用风险的有效途径<sup>[44]</sup>。

不同的温敏核不育系育性的转换温度及对低温持续时间的敏感性存在较大差异,因此选择温度稳定的特殊生态条件才能进行自交繁殖和杂交制种<sup>[45]</sup>。温敏核不育系的繁殖主要利用低温冷水串灌和海南冬季自然低温进行繁殖。低温冷水串灌繁殖不育系的技术存在冷水资源缺乏的问题,海南冬季繁殖低温具有不稳定性,这均可影响不育系的繁殖产量等。利用低纬度、高海拔地区自然低温条件进行温敏核不育系的繁殖解决了温敏核不育系繁殖产量低而不稳定的技术难题<sup>[46-48]</sup>。云南保山等地已成为温敏核不育系种子繁殖的主要基地。

生产大面积应用的温敏不育系如株 1S、香 125S、陆 18S、810S、广占 63S、Y58S、C815S、1892S 和广湘 24S 等的不育性都是 *TMS5* 基因突变引发, *TMS5* 编码核糖核酸酶 RNase Z<sup>S1</sup>, RNase Z<sup>S1</sup> 能剪切并降解 3 个泛素核糖体 L40 融合蛋白基因 *Ub<sub>L40</sub>* mRNA。花粉发育敏感期高温使得花药中 *Ub<sub>L40</sub>* mRNA 水平上升,在 *tms5* 突变体中, RNase Z<sup>S1</sup> 功能缺失,导致 *Ub<sub>L40</sub>* mRNA 过度积累,使花粉发育受阻,花粉败育。而野生型中高温积累过量的 *Ub<sub>L40</sub>* mRNA 能被 RNase Z<sup>S1</sup> 裂解,花药发育正常,花粉育性可育<sup>[49]</sup>。温敏不育基因 *TMS10* 编码一个亮氨酸受体激酶,高温条件下 *TMS10* 激酶活性在水稻花药绒毡层的降解过程中起重要作用<sup>[50]</sup>。目前温敏雄性不育基因 *TMS10* 并未在生产上利用。

### 2.3 短光敏核不育系

短光敏核不育系育性转换与光敏核不育类型相反,在短日条件下表现为雄性不育,长日条件下转为可育。1987 年高一枝<sup>[51]</sup>发现短光敏不育水稻 D38S。该不育系不育的临界光照长度为 13.25 h,对光周期诱导敏感的时期为二次枝梗穗原基分化至花粉母细胞减数分裂期<sup>[52]</sup>。

张大兵<sup>[53]</sup>报道了短日不育材料 *csa* 突变体。*CSA* (*carbon starved anther*)不育基因编码一个 R2-R3 型的 MYB 转录因子,它能够直接调节花药中单糖转运蛋白基因 *MST8* (*monosaccharide transporter 8*)的转录。油菜素内酯信号因子 OsBZR1 可以直接结合到 *CSA* 的启动子上,从而促进其表达,使花药和种子中的糖分含量显著提高。

短光敏核不育系只能在短日条件下进行杂交制种,杂交制种基地和季节选择存在一定的限制,目前没有选育出实用的不育系,未在生产上推广应用。

### 2.4 低温敏不育系

低温敏核不育系的育性转换与温敏核不育系相反,在低温条件下表现为雄性不育,高温条件下转为可育。1988 年阳华秋<sup>[54]</sup>在优质晚粳品种 3714 群体中发现一自然突变不育株粳型短日低温核不育系(低温敏核不育系)。低温不育系 go543S 育性主要受温度控制,育性转换的不育临界温度为 29.5 °C,对温度敏感的部位是幼穗,敏感时期为花粉母细胞形成至减数分裂期<sup>[55]</sup>。

### 2.5 湿敏核不育系

湿敏核不育系育性则表现为对环境湿度敏感。漆小泉等<sup>[56]</sup>报道了一个新的突变体 *hms1*,其在 45%、55%、60%和 75%湿度下的结实率分别为 0、7.3%、21.9%和 72.2%,而野生型的结实率约为 80%;其在湿度高于 80%的环境中则育性表现为完全可育。

湿敏核不育基因 *OsOSC12/OsPTS1* 编码的三萜合酶能够催化产生一种二环三萜化合物“禾谷绒毡醇”,亚麻酸与棕榈酸或硬脂酸的混合物能有效地降低脂肪酸的含量,防止变异花粉粒过度脱水,该基因功能缺失导致花粉包被中棕榈酸和亚麻酸的含量明显降低,并且完全缺少硬脂酸,使花粉粒得不到有效保护而迅速失水,最终不育<sup>[56-58]</sup>。

随着生物技术的发展,利用基因编辑技术(CRISPR-Cas9)可以快速创制新的光温敏核不育材料,如利用温敏核不育基因 *TMS5* (*ptgms2-1*)、短光敏核不育基因 *CSA* 等育性相关基因进行编辑创制新的光温敏核不育材料<sup>[59-63]</sup>。目前,基因编辑的不育系并没有在生产上利用,主要原因是育性转换的临界温度大多偏高,育性稳定性有待改善,另一个原因是转基因政策等因素的限制。

## 3 隐性核不育系的利用

隐性核雄性不育系的不育性受隐性核基因控制,不受光温等环境影响,表现为终身不育。目前,在水稻中已经发现了大量隐性核雄性不育材料。“无花粉型”隐性核不育株 *cyp704B2* 的不育基因 *cyp704b2* 主要在绒毡层中表达,其编码的蛋白质属于细胞色素 P450 家族,在脂肪酸代谢中起重要作用。该基因功能缺失后绒毡层发育缺陷,

乌氏体相对可育株变少,导致小孢子缺乏足够的孢粉素,花粉囊和花粉外壁发育受阻,最终花粉败育<sup>[64]</sup>。*OsNPI* 编码葡萄糖-甲醇-胆碱氧化还原酶,在绒毡层和气孔中特异表达,影响绒毡层退化和花粉外壁形成。其功能缺失后绒毡层同样不能形成成熟的乌氏体,导致水稻无花粉型败育<sup>[65]</sup>。

脂质代谢在雄性育性发育中起关键作用,其相关基因缺陷通常会引发隐性雄性不育<sup>[66]</sup>。此外,小孢子母细胞发育相关基因 *MSP1*、绒毡层发育相关基因 *TDR*、*UDT1* 以及花粉囊壁蜡质形成相关基因 *Wda*、*DPW* 等功能缺失后都能导致水稻雄性不育<sup>[67-73]</sup>。

隐性核不育类型利用的最大难度是不育系种子的繁殖,因为这类不育系找不到对应的保持系,花粉发育期的光温等生态环境条件也不能使不育系育性发生转换。美国杜邦先锋公司<sup>[74-75]</sup>利用玉米隐性核不育突变材料,将隐性核不育对应的野生型基因、花粉致死(败育)基因和红色荧光筛选基因构建一个连锁的元件转入隐性核雄性不育突变体中,创制了一个隐性核雄性不育突变体的保持系。利用该保持系自交繁殖或者与隐性核不育系授粉实现隐性核雄性不育繁殖的种子生产技术,其繁殖的不育系和配制的杂交组合不含遗传转化元件,属非转基因品种,有效地回避了植物转基因的政策限制。2010年邓兴旺等<sup>[76]</sup>用水稻隐性核不育突变体 *ms26/ms26* (武运粳7号)转化3个紧密连锁的基因,即野生型雄性可育基因 *Ms26*、花粉失活基因 (*Zm-aa1*) 和标记筛选基因 (*DsRed2*),率先在水稻中实现了隐性核不育系的批量繁殖。2016年唐晓燕等<sup>[65]</sup>用 EMS 诱变黄华占获得了 *Os-NPI* 突变的隐性核不育突变体 *Osnp1*,然后用野生型基因 *OsNPI*、*Zm-aa1*、*DsRed2* 构建了 *Osnp1* 可稳定遗传的保持系 18B。其繁殖的不育系 18A 通过了广东省种子管理站组织的专家鉴定,选配的组 18A/雅恢 2115、18A/R278 分别在四川、广东完成了区试。李莉等<sup>[77]</sup>利用 CRISPR-Cas9 技术以 9311 为背景获得 *CYP703A3* 功能缺陷的隐性核不育株系 9311<sup>03a3</sup>;然后将 *RF1b* 上的线粒体信号肽序列融合到红莲型细胞质不育基因 *orfH79* 上,构建了新的花粉致死基因;在此基础上创建了新的“第三代”杂交水稻保持系 9311-3B,并用其不育系 9311-3A 选育了多个强优势组合。该体系创造性地利用细胞质雄性不育基因,扩大了花粉致死基因的选择范围,也提示了其他细胞

质雄性不育基因在“第三代”杂交水稻的应用潜力。

前述的“第三代”杂交水稻保持系的标记基因 *DsRed2* 是一个源于珊瑚的红色荧光蛋白基因,需要通过荧光分选机器将不育系种子和保持系种子分选开来,存在一定的漏选风险。2021年唐晓燕等<sup>[78]</sup>通过沉默水稻胚乳特异表达葡萄糖焦磷酸化酶基因,构建了新的隐性核不育系繁殖技术体系。该体系繁殖生产的雄性不育种子具有正常的胚乳,但保持系种子受胚乳特异表达葡萄糖焦磷酸化酶基因沉默的影响,胚乳萎缩,重量变轻,通过重力风选机可分选出不育系种子。相较于荧光分选,这种分选方法分选准确度、效率有明显提高,且成本也显著降低。

#### 4 展望

在水稻杂种优势的利用中,大量应用于生产的雄性不育系主要有细胞质雄性不育系、两用核不育系和隐型核不育系。我国的杂交水稻利用经历了“三系法”“两系法”和“第三代”杂交水稻的发展历程。“三系法”和“两系法”杂交水稻的成功应用,为我国粮食安全和经济发展作出了重大贡献,“两系法”杂交水稻推动了我国水稻生产的超高产、优质、绿色和轻简化的发展,它克服了“三系法”杂交水稻不育系细胞质单一和恢保关系限制杂交配组资源限制的难题。但“两系法”杂交水稻不育系育性易受光温等环境因素影响,如温度变化可使不育系育性转换,因而存在杂交制种失败的风险。随着智能不育技术的发展,利用隐性核不育系的“第三代”杂交水稻在作物杂种优势利用的优点在于它既克服了细胞质雄性不育系受恢保关系限制而在杂种优势利用时资源利用受限的难题,也避免了光温敏核不育类型育性受光温调控,尤其是温度变化无常给杂交制种和不育系繁殖带来的风险。水稻雄性不育系在杂种优势利用中关键是要解决不育系种子的繁殖技术和不育系育性稳定性,隐性核不育系的不育性稳定,杂交配组自由,利用其选育的“第三代”杂交水稻将为我国水稻杂种优势利用提供新时代的核心竞争力。

#### 参考文献(References):

- [1] MAYR E. Joseph Gottlieb Kolreuter's contributions to biology[J]. *Osiris*, 1986, 2: 135-176.
- [2] KAUL M L H. Male Sterility in Higher Plants[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 1988: 887-892.

- [3] 袁隆平. 水稻的雄性不孕性[J]. 科学通报(YUAN Long-ping. Male sterility in rice[J]. Chinese Science Bulletin), 1966(4): 185-188.
- [4] 邓兴旺, 王海洋, 唐晓艳, 等. 杂交水稻育种将迎来新时代[J]. 中国科学: 生命科学(DENG Xing-wang, WANG Hai-yang, TANG Xiao-yan, *et al.* Hybrid rice breeding welcomes a new era of molecular crop design[J]. Scientia Sinica (Vitae)), 2013, 43(10): 864-868.
- [5] 袁隆平. 第三代杂交水稻初步研究成功[J]. 科学通报(YUAN Long-ping. Successful preliminary study on the third generation hybrid rice[J]. Chinese Science Bulletin), 2016, 61(31): 3404.
- [6] 万建民. 中国水稻遗传育种与品种系谱[M]. 北京: 中国农业出版社(WAN Jian-min. Genetic Breeding and Variety Pedigree of Rice (*Oryza sativa* L.) in China[M]. Beijing: China Agriculture Press), 2010: 485-637.
- [7] 中国水稻研究所. 国家水稻数据中心[EB/OL]. <https://ricedata.cn>.
- [8] 湖南师范学院生物系. 水稻雄性不育生理特征的初步研究[J]. 遗传通讯(Department of Biology, Hunan Normal University. Preliminary study on the physiological characteristics of rice male sterility[J]. Communication Genetics), 1973(1): 32-37.
- [9] 长沙市农科所, 湖南师范学院生物系. 野败衍生不育系花粉败育过程的细胞学观察[J]. 湖南师范学院院报(自然科学版)(Changsha Institute of Agricultural Sciences, Department of Biology, Hunan Normal University. Cytological observation on the process of pollen abortion of wild abortion derivative lines[J]. Journal of Hunan Normal University (Natural Science Edition)), 1975(2): 51-52.
- [10] 潘坤清. 水稻野败型雄性不育系花粉败育的解剖学和细胞学观察[J]. 遗传学报(PAN Kun-qing. Cyto-histological investigations on pollen abortion in male-sterile line of the wild rice pollen abortion type[J]. Acta Genetica Sinica), 1979(2): 211-215, 239-240.
- [11] 张赛清, 唐平徕, 覃明. 三系不育系和两系不育系对温度反应的研究[J]. 种子(ZHANG Sai-qing, TANG Ping-lai, QIN Ming. Study of reaction on temperature from three sterile and two sterile lines[J]. Seed), 2007, 26(6): 84-86.
- [12] 顾华琴, 向志攀, 刘赛, 等. 水稻三系不育系育性与温度关系研究[J]. 生命科学研究(GU Hua-qin, XIANG Zhi-pan, LIU Sai, *et al.* Association between temperature and fertility of CMS lines in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Life Science Research), 2017, 21(2): 144-148, 173.
- [13] LUO D P, XU H, LIU Z L, *et al.* A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice[J]. Nature Genetics, 2013, 45(5): 573-577.
- [14] LÜ Q M, LI W G, SUN Z Z, *et al.* Resequencing of 1 143 *indica* rice accessions reveals important genetic variations and different heterosis patterns[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 4778.
- [15] 王天抗, 李懿星, 宋书锋, 等. 水稻籽粒镉低积累资源挖掘及其新材料创制[J]. 杂交水稻(WANG Tian-kang, LI Yi-xing, SONG Shu-feng, *et al.* Excavation of rice resources with low cadmium accumulation in grains and development of new materials[J]. Hybrid Rice), 2021, 36(1): 68-74.
- [16] 武汉大学遗传研究室. 红芒野稻-莲塘早不育系花粉败育过程的细胞形态学观察[J]. 植物学报(英文版)(Laboratory of Genetics, Wuhan University. Cytological observations of pollen abortion of male-sterile line "red-awned wild rice x Lian-Tang-Zao"[J]. Journal of Integrative Plant Biology), 1978(2): 150-153, 188-189.
- [17] 徐树华. 水稻“红莲-华矮 15”不育系及保持系的花粉发育细胞学观察[J]. 武汉大学学报(自然科学版)(XU Shu-hua. Cytological observation on pollen development of rice "Honglian-Huaai 15" sterile line and its maintainer line[J]. Journal of Wuhan University (Natural Science Edition)), 1979(2): 79-85.
- [18] PENG X J, WANG K, HU C F, *et al.* The mitochondrial gene *orfH79* plays a critical role in impairing both male gametophyte development and root growth in CMS-Honglian rice[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 125.
- [19] WANG K, GAO F, JI Y X, *et al.* *ORFH79* impairs mitochondrial function via interaction with a subunit of electron transport chain complex III in Honglian cytoplasmic male sterile rice[J]. New Phytologist, 2013, 198(2): 408-418.
- [20] HU J, WANG K, HUANG W C, *et al.* The rice pentatricopeptide repeat protein RF5 restores fertility in Hong-Lian cytoplasmic male-sterile lines via a complex with the glycine-rich protein GRP162[J]. Plant Cell, 2012, 24(1): 109-122.
- [21] HUANG W C, YU C C, HU J, *et al.* Pentatricopeptide-repeat family protein RF6 functions with hexokinase 6 to rescue rice cytoplasmic male sterility[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2015, 112(48): 14984-14989.
- [22] 邓华凤. 中国杂交梗稻[M]. 北京: 中国农业出版社(DENG Hua-feng. Japonica Hybrid Rice in China[M]. Beijing: China Agriculture Press), 2008: 243-309.
- [23] 广东省农作物杂种优势利用研究协作组. 作物“三系”生物学特征的研究——Ⅲ. 几种水稻雄性不育类型的花粉形成与发育的细胞形态、代谢障碍和药隔维管束发育的比较研究[J]. 遗传学报(Guangdong Crop Heterosis Utilization Research Cooperation Group. Study on the biological characteristics of the "three lines" of crops. Ⅲ. Comparative on the morphological and metabolic disorders of the pollen formation and development and the development of the vascular bundles of the drug barrier of several types of rice male sterile[J]. Acta Genetica Sinica), 1976(2): 119-127, 181-184.
- [24] WANG Z H, ZOU Y J, LI X Y, *et al.* Cytoplasmic male sterility of rice with boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing[J]. The Plant Cell, 2006, 18(3): 676-687.
- [25] IGARASHI K, KAZAMA T, TORIYAMA K. A gene encoding pentatricopeptide repeat protein partially restores fertility in RT98-type cytoplasmic male-sterile rice[J]. Plant & Cell Physiology, 2016, 57(10): 2187-2193.
- [26] 陈大洲, 肖叶青, 赵社香, 等. 江西东乡野生稻细胞质雄性不育系的恢复源探讨[J]. 杂交水稻(CHEN Da-zhou, XIAO Ye-qing, ZHAO She-xiang, *et al.* Studies on the restoring source for CMS lines with the cytoplasm of Jiangxi Dongxiang wild rice[J]. Hybrid Rice), 1995(6): 4-6.
- [27] XIE H W, PENG X J, QIAN M J, *et al.* The chimeric mitochondrial gene *orf182* causes non-pollen-type abortion in Dongxiang cytoplasmic male-sterile rice[J]. The Plant Journal, 2018, 95(4): 715-726.
- [28] 李文嘉. 普通野生稻遗传多样性及 2 个特有基因的功能初步研究[D]. 长沙: 湖南师范大学(LI Wen-jia. Genetic Diversity Studies of Asian Common Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and Primary Functional Analysis of Its 2 Specific Genes[D]. Changsha: Hunan Normal University), 2012.
- [29] 栾霖. 水稻线粒体 DNA 遗传多态性及相关基因表达的研究[D]. 长沙: 湖南师范大学(LUAN Ji. Mitochondrial DNA Genetic Polymorphism and Expression of Related Genes in Rice[D]. Changsha: Hunan Normal University), 2013.
- [30] LUAN J, LIU T R, LUO W Q, *et al.* Mitochondrial DNA genetic polymorphism in thirteen rice cytoplasmic male sterile lines[J]. Plant Cell Reports, 2013, 32(4): 545-554.
- [31] 石明松. 晚粳自然两用系选育及应用初报[J]. 湖北农业科学(SHI Ming-song. Preliminary report on breeding and application of natural dual-use lines of late japonica rice[J]. Hubei Agricultural Sciences), 1981(7): 1-3.
- [32] 卢兴桂. 我国水稻光温敏雄性不育系选育的回顾[J]. 杂交水稻(LU Xing-gui. Retrospects on selection and breeding of photo thermo sensitive genic male sterile rice lines in China[J]. Hybrid Rice), 1994(Z1): 27-30.
- [33] 袁隆平. 两系法杂交水稻研究的进展[J]. 中国农业科学(YUAN Long-ping. Progress of two-line system hybrid rice breeding[J]. Scientia Agricultura Sinica), 1990(3): 1-6.
- [34] 袁隆平. 杂交水稻的育种战略设想[J]. 杂交水稻(YUAN Long-ping. Tentative ideas on breeding strategy of hybrid rice[J]. Hybrid Rice), 1987(1): 1-3.
- [35] 徐孟亮, 吴厚雄, 陈良碧, 等. 用人工冷水池鉴定水稻光温敏核不育系雄性不育起点温度的研究[J]. 杂交水稻(XU Meng-liang, WU Hou-xiong, CHEN Liang-bi, *et al.* Studies on identifying the critical sterility-inducing temperature of PTGMS lines in rice with temperature controlled cold water bed[J]. Hybrid Rice), 2002, 17(5): 51-53.

- [36] 陈良碧, 周广洽. 光、温敏核不育水稻结实率与温度相关性研究[J]. 杂交水稻(CHEN Liang-bi, ZHOU Guang-qia. A study on the correlativity of seed set rate of PSGS and TSGS lines in rice with temperature[J]. Hybrid Rice), 1992(2): 35-39.
- [37] 陈良碧, 李训贞, 周广洽. 温度对水稻光敏、温敏核不育基因表达影响的研究[J]. 作物学报(CHEN Liang-bi, LI Xun-zhen, ZHOU Guang-qia. Effects of temperature on the sterility of rice in photo-sensitive and thermo-sensitive male sterile lines[J]. Acta Agronomica Sinica), 1993(1): 47-54, 98.
- [38] 朱英国. 水稻雄性不育生物学[M]. 武汉: 武汉大学出版社(ZHU Ying-guo. Biology of Male Sterility in Rice[M]. Wuhan: Wuhan University Press), 2000: 4-7.
- [39] FAN Y R, YANG J Y, MATHIONI S M, *et al.* PMS1T, producing phased small-interfering RNAs, regulates photoperiod-sensitive male sterility in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2012, 109(7): 2654-2659.
- [40] DING J H, LU Q, OUYANG Y D, *et al.* A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2012, 109(7): 2654-2659.
- [41] 邓华凤. 安农光敏不育水稻的发现及初步研究[J]. 成人高等农业教育(DENG Hua-feng. The discovery and preliminary study of Anong PGMS rice[J]. Adult Higher Agricultural Education), 1988(3): 34-36.
- [42] 陈良碧, 周广洽. 温敏核不育水稻花粉发育的超微结构观察温敏核不育水稻的光温生态生理学[M]. 长沙: 湖南师范大学出版社(CHEN Liang-bi, ZHOU Guang-qia. Observation on the Ultrastructure of Pollen Development in Thermo-sensitive Genic Male Sterile Rice Photo-temperature Ecophysiology of Thermo-sensitive Genic Male Sterile Rice[M]. Changsha: Hunan Normal University Press), 1996: 155-156.
- [43] 陈良碧, 李训贞, 谭周铤, 等. 安农 S-1 水稻光温敏核不育系的育性研究 I. 不同育性时期花药和花粉扫描电镜观察[J]. 湖南师范大学自然科学学报(CHEN Liang-bi, LI Xun-zhen, TAN Zhou-ti, *et al.* Study on fertility of Anong S-1 photoperiod and temperature sensitive genic male-sterile rice—I. Investigation on anther and pollen by scanning electron-microscope[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University), 1990(2): 141-145.
- [44] 陈良碧, 徐孟亮, 周广洽. 临界温度双低两用不育水稻的筛选研究[J]. 杂交水稻(CHEN Liang-bi, XU Meng-liang, ZHOU Guang-qia. Selection of PTCMS lines with double low critical values in temperature in rice[J]. Hybrid Rice), 1999(4): 5-6.
- [45] 李必湖, 吴厚雄, 徐孟亮, 等. 温敏核不育水稻育性对低温持续时间的敏感性差异比较研究[J]. 作物学报(LI Bi-hu, WU Hou-xiong, XU Meng-liang, *et al.* Comparative studies on the sensitivity of fertility of TGMS rice lines to low temperature of consecutive time[J]. Acta Agronomica Sinica), 2003, 29(6): 930-936.
- [46] 刘海, 肖应辉, 唐文邦, 等. 水稻两用核不育系繁殖基地计算机选择系统研制与应用[J]. 作物学报(LIU Hai, XIAO Ying-hui, TANG Wen-bang, *et al.* Development and application of a computer-aided selection system for thermo-sensitive genic male sterile rice multiplying site[J]. Acta Agronomica Sinica), 2011, 37(5): 755-763.
- [47] 钊兴宽, 李国生, 康洪洪, 等. 水稻两用核不育系在云南保山低纬度高海拔地区繁殖的研究与实践[J]. 杂交水稻(CHUAN Xing-kuan, LI Guo-sheng, KANG Hong-hong, *et al.* Research and practice of multiplying rice PTCMS lines in the low-latitude area with high altitude of Baoshan, Yunnan[J]. Hybrid Rice), 2016, 31(2): 22-26.
- [48] 涂志业, 符辰建, 张章, 等. 水稻温敏核不育系在云南高海拔地区高产优质繁殖技术[J]. 杂交水稻(TU Zhi-ye, FU Chen-jian, ZHANG Zhang, *et al.* High-yielding and quality seed multiplying techniques for rice TGMS lines in high-altitude area of Yunnan[J]. Hybrid Rice), 2016, 31(1): 23-25, 28.
- [49] ZHOU H, ZHOU M, YANG Y Z, *et al.* RNase Z<sup>SI</sup> processes *Ubl40* mRNAs and controls thermosensitive genic male sterility in rice[J]. Nature Communications, 2014, 5: 4884.
- [50] YU J P, HAN J J, KIM Y J, *et al.* Two rice receptor-like kinases maintain male fertility under changing temperatures[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2017, 114(46): 12327-12332.
- [51] 黎世龄, 高一枝, 李会如, 等. 短光敏不育水稻 $DS_1$  异交性观察初报[J]. 杂交水稻(LI Shi-ling, GAO Yi-zhi, LI Hui-ru, *et al.* An observation on the outcrossing character of Yi  $DS_1$ , a PGMS rice with the sterility induced by short daylength[J]. Hybrid Rice), 1996(1): 32.
- [52] 王晓辉, 梁满中, 陈良碧. 短光敏核不育水稻 D38S 育性的感光性和感温性研究[C]//第一届中国杂交水稻大会论文集. 长沙: 科技部, 农业部, 湖南省人民政府(WANG Xiao-hui, LIANG Man-zhong, CHEN Liang-bi. A study on phototonus and temperature sensitivity of D38S, a PGMS rice with the sterility induced by short daylength [C]/Proceedings of the First China Hybrid Rice Conference. Changsha: Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China, Ministry of Agriculture of the PRC, Hunan Provincial People's Government), 2010: 165-169.
- [53] ZHANG H, XU C X, HE Y, *et al.* Mutation in CSA creates a new photoperiod-sensitive genic male sterile line applicable for hybrid rice seed production[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2013, 110(1): 76-81.
- [54] 阳花秋, 朱捷. 籼型水稻短日低温不育核不育系 go543S 的选育研究[J]. 杂交水稻(YANG Hua-qiu, ZHU Jie. Breeding of go543S, an indica PTCMS rice with its sterility induced by short daylength and low temperature[J]. Hybrid Rice), 1996(1): 9-10.
- [55] 吴厚雄, 李必湖, 向阳, 等. 低温敏核不育水稻 go543S 育性对温、光的反应[J]. 生态学报(WU Hou-xiong, LI Bi-hu, XIANG Yang, *et al.* Effects of temperature and photoperiod on the fertility of low temperature sensitive genic male sterile rice[J]. Acta Ecologica Sinica), 2003, 23(3): 463-470.
- [56] XUE Z Y, XU X, ZHOU Y, *et al.* Deficiency of a triterpene pathway results in humidity-sensitive genic male sterility in rice[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 604.
- [57] CHEN H Q, ZHANG Z G, NI E D, *et al.* HMS1I interacts with HMS1II to regulate very-long-chain fatty acid biosynthesis and the humidity-sensitive genic male sterility in rice (*Oryza sativa*) [J]. New Phytologist, 2020, 225(5): 2077-2093.
- [58] WANG X C, GUAN Y Y, ZHANG D, *et al.* A  $\beta$ -ketoacyl-CoA synthase is involved in rice leaf cuticular wax synthesis and requires a CER2-LIKE protein as a cofactor[J]. Plant Physiology, 2017, 173(2): 944-955.
- [59] ZHOU H, HE M, LI J, *et al.* Development of commercial thermo-sensitive genic male sterile rice accelerates hybrid rice breeding using the CRISPR/Cas9-mediated *TMS5* editing system[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 37395.
- [60] LI Q L, ZHANG D B, CHEN M J, *et al.* Development of *japonica* photo-sensitive genic male sterile rice lines by editing *carbon starved anther* using CRISPR/Cas9[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2016, 43(6): 415-419.
- [61] SHEN L, DONG G J, ZHANG Y, *et al.* Rapid creation of new photoperiod-/thermo-sensitive genic male-sterile rice materials by CRISPR/Cas9 system[J]. Rice Science, 2019, 26(2): 129-132.
- [62] GU W H, ZHANG D B, QI Y P, *et al.* Generating photoperiod-sensitive genic male sterile rice lines with CRISPR/Cas9[J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1917: 97-107.
- [63] BARMAN H N, SHENG Z H, FIAZ S, *et al.* Generation of a new thermo-sensitive genic male sterile rice line by targeted mutagenesis of *TMS5* gene through CRISPR/Cas9 system[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 109.
- [64] LI H, PINOT F, SAUVEPLANE V, *et al.* Cytochrome P450 family member CYP704B2 catalyzes the {omega}-hydroxylation of fatty acids and is required for anther cutin biosynthesis and pollen exine formation in rice[J]. Plant Cell, 2010, 22(1): 173-190.
- [65] CHANG Z Y, CHEN Z F, WANG N, *et al.* Construction of a male sterility system for hybrid rice breeding and seed production using a nuclear male sterility gene[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2016, 113(49): 14145-14150.
- [66] WAN X Y, WU S W, LI Z W, *et al.* Lipid metabolism: critical roles in male fertility and other aspects of reproductive development in plants[J]. Molecular Plant, 2020, 13(7): 955-983.
- [67] SORENSEN A, GUERINEAU F, CANALES-HOLZEIS C, *et al.* A novel extinction screen in *Arabidopsis thaliana* identifies mutant plants defective in early microsporangial development[J]. Plant Journal, 2002, 29(5): 581-594.

- [26] KATSURA K, MAEDA S, HORIE T, *et al.* Analysis of yield attributes and crop physiological traits of Liangyoupeijiu, a hybrid rice recently bred in China[J]. *Field Crops Research*, 2007, 103(3): 170–177.
- [27] ZHONG X L, ZHAO B B, HUANG M Y, *et al.* Comparison of growth and yield characteristics of mid-season hybrid rice under different yield levels[J]. *Agronomy*, 2020, 10(12): 1876.
- [28] WANG Q, ZHANG Q D, JIANG G M, *et al.* Photosynthetic characteristics of two superhigh-yield hybrid rice[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42(12): 1285–1288.
- [29] 严斧, 李悦丰, 卓儒洞. 两系组合两优培九与三系组合 II 优 58 后期光合生产特性比较研究[J]. 杂交水稻(YAN Fu, LI Yue-feng, ZHUO Ru-dong. Comparison of photosynthetic characteristics between two-line hybrid rice Liangyou Peijiu and three-line hybrid rice II you 58 after heading stage[J]. *Hybrid Rice*), 2001, 16(1): 51–54.
- [30] 王强, 卢从明, 张其德, 等. 超高产杂交稻两优培九的光合作用、光抑制和 C4 途径酶特性[J]. 中国科学 C 辑(WANG Qiang, LU Cong-ming, ZHANG Qi-de, *et al.* Characteristics of photosynthesis, photoinhibition and C4 pathway enzymes in Liangyoupeijiu, a super high yield hybrid rice[J]. *Science in China (Series C)*), 2002, 32(6): 481–487.
- [31] 王荣富, 张云华, 焦德茂, 等. 超级杂交稻两优培九及其亲本生育后期的光抑制和早衰特性[J]. 作物学报(WANG Rong-fu, ZHANG Yun-hua, JIAO De-mao, *et al.* Characteristics of photoinhibition and early aging in super-hybrid rice (*Oryza sativa* L.) “Liangyoupeijiu” and its parents at late development stage[J]. *Acta Agronomica Sinica*), 2004, 30(4): 393–397.
- [32] WANG Q A, LU C M, ZHANG Q D. Midday photoinhibition of two newly developed super-rice hybrids[J]. *Photosynthetica*, 2005, 43(2): 277–281.
- [33] 吕川根, 李霞, 陈国祥. 超级杂交稻两优培九高产的光合特性及其生理基础[J]. 中国农业科学(LÜ Chuan-gen, LI Xia, CHEN Guo-xiang. Photosynthetic characteristics and its physiological basis of super high-yielding hybrid rice Liangyoupeijiu[J]. *Scientia Agricultura Sinica*), 2017, 50(21): 4055–4070.
- [34] 刘辉, 徐孟亮, 吴厚雄, 等. 高产杂交稻两优培九生育后期光合性能的研究[J]. 农业现代化研究(LIU Hui, XU Meng-liang, WU Hou-xiong, *et al.* Studies on photosynthetic ability of superhighyield hybrid rice combination Liangyoupeijiu in its ripening phase[J]. *Research of Agricultural Modernization*), 2004, 25(3): 225–227.
- [35] 康公平, 徐国云, 陈志, 等. 茶陵普通野生稻光合特性研究[J]. 作物学报(KANG Gong-ping, XU Guo-yun, CHEN Zhi, *et al.* Photosynthetic characteristics of Chaling wild rice[J]. *Acta Agronomica Sinica*), 2007, 33(9): 1558–1562.
- [36] 程式华, 曹立勇, 陈深广, 等. 后期功能型超级杂交稻的概念及生物学意义[J]. 中国水稻科学(CHENG Shi-hua, CAO Li-yong, CHEN Shen-guang, *et al.* Conception of late-stage vigor super hybrid rice and its biological significance[J]. *Chinese Journal of Rice Science*), 2005, 19(3): 280–284.
- [37] 翟虎渠, 曹树青, 万建民, 等. 超高产杂交稻灌浆期光合功能与产量的关系[J]. 中国科学 C 辑(ZHAI Hu-qu, CAO Shu-qing, WAN Jian-min, *et al.* Relationship between photosynthetic function and yield at filling stage of super high yielding hybrid rice[J]. *Science in China (Series C)*), 2002, 32(3): 211–217.
- [38] CHANG S Q, CHANG T G, SONG Q F, *et al.* Architectural and physiological features to gain high yield in an elite rice line YLY1[J]. *Rice*, 2020, 13(1): 60.
- [39] CHANG S Q, CHANG T G, SONG Q F, *et al.* Photosynthetic and agronomic traits of an elite hybrid rice Y-Liang-You 900 with a record-high yield[J]. *Field Crops Research*, 2016, 187: 49–57.
- [40] 龙继锐, 马国辉, 万宜珍, 等. 施氮量对超级杂交中稻生育后期剑叶叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国水稻科学(LONG Ji-rui, MA Guo-hui, WAN Yi-zhen, *et al.* Effects of nitrogen fertilizer level on chlorophyll fluorescence characteristic in flag leaf of super hybrid rice at late growth stage[J]. *Chinese Journal of Rice Science*), 2011, 25(5): 501–507.
- [41] 方宝华, 滕振宁, 刘洋, 等. 超高产杂交稻的光响应曲线及其模型拟合[J]. 中国稻米(FANG Bao-hua, TENG Zhen-ning, LIU Yang, *et al.* Photosynthesis light response curves of super high-yielding hybrid rice and model fitting[J]. *China Rice*), 2017, 23(4): 1–5, 13.
- [42] 严进明, 翟虎渠, 张荣锐, 等. 重穗型杂种稻光合和光合产物运转特性研究[J]. 作物学报(YAN Jin-ming, ZHAI Hu-qu, ZHANG Rong-xian, *et al.* Studies on characteristics of photosynthesis and assimilate’s transportation in heavy ear hybrid rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Acta Agronomica Sinica*), 2001, 27(2): 261–266.
- [43] LI G H, HU Q Q, SHI Y G, *et al.* Low nitrogen application enhances starch-metabolizing enzyme activity and improves accumulation and translocation of non-structural carbohydrates in rice stems[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1128.

## (上接第 385 页)

- [68] CHAUBAL R, ANDERSON J R, TRIMNELL M R, *et al.* The transformation of anthers in the msca1 mutant of maize[J]. *Planta*, 2003, 216(5): 778–788.
- [69] NONOMURA K I, MIYOSHI K, EIGUCHI M, *et al.* The MSP1 gene is necessary to restrict the number of cells entering into male and female sporogenesis and to initiate anther wall formation in rice[J]. *Plant Cell*, 2003, 15(8): 1728–1739.
- [70] LI N, ZHANG D S, LIU H S, *et al.* The rice tapetum degeneration retardation gene is required for tapetum degradation and anther development[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 2999–3014.
- [71] JUNG K H, HAN M J, LEE Y S, *et al.* Rice *Undeveloped Tapetum1* is a major regulator of early tapetum development[J]. *Plant Cell*, 2005, 17(10): 2705–2722.
- [72] JUNG K H, HAN M J, LEE D Y, *et al.* *Wax-deficient anther1* is involved in cuticle and wax production in rice anther walls and is required for pollen development[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 3015–3032.
- [73] SHI J, TAN H X, YU X H, *et al.* *Defective pollen wall* is required for anther and microspore development in rice and encodes a fatty acyl carrier protein reductase[J]. *Plant Cell*, 2011, 23(6): 2225–2246.
- [74] ALBERTSEN M, FOX T, HUFFMAN G, *et al.* Nucleotide sequences mediating plant male fertility and method of using same: United States Patent 7759543[P]. 2009–09–22.
- [75] BRINK K, CROWGEY E, DIETRICH N, *et al.* Plant genomic DNA flanking SPT event and methods for identifying SPT event: US 9232703 B2[P]. 2012–08–06.
- [76] WANG H Y, DENG X W. Development of the “third-generation” hybrid rice in China[J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2018, 16(6): 393–396.
- [77] SONG S F, WANG T K, LI Y X, *et al.* A novel strategy for creating a new system of third-generation hybrid rice technology using a cytoplasmic sterility gene and a genic male-sterile gene[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(2): 251–260.
- [78] WU J X, QIU S J, WANG M L, *et al.* Construction of a weight-based seed sorting system for the third-generation hybrid rice[J]. *Rice*, 2021, 14(1): 66.