

Совместимость при гибридизации

УДК 633.18:631.522/.524:575.222.7

doi: 10.15389/agrobiology.2013.5.61rus

СТЕРИЛЬНОСТЬ ПРИ МЕЖПОДВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ РИСА *Oryza sativa* L. В СВЯЗИ С ПОИСКОМ ГЕНОВ ШИРОКОЙ СОВМЕСТИМОСТИ И ОТНЕСЕНИЕМ ОБРАЗЦОВ К ПОДВИДАМ *indica* И *japonica****Е.М. ХАРИТОНОВ, Ю.К. ГОНЧАРОВА**

Между подвидами риса (*Oryza sativa* L.) *indica* и *japonica* существует ряд переходных форм как по фенотипу, так и по физиологическим признакам, обуславливающими особенности развития и адаптации к стрессам. Гетерозисный эффект у межподвидовых гибридов (*japonica/indica*) может составлять 100 % и выше. Использовать сверхвысокий гетерозис таких гибридов можно, если вовлекать в гибридизацию образцы с генами широкой совместимости (WC), которые обеспечивают озерненность гибридов более 70 %. Мы провели гибридизацию между образцами отечественной и зарубежной селекции, относящимися к подвидам *indica* и *japonica*. Анализ озерненности полученных межподвидовых гибридов не позволил выделить среди образцов российской селекции сорта с генами широкой совместимости. Для корректного отнесения сортов риса к подвидам выполнено молекулярное маркирование с использованием 11 полиморфных SSR-маркеров, типичных для подвидов. Обсуждаются вопросы получения фертильных межподвидовых гибридов риса и перечень признаков, используемых для разделения образцов на подвиды. Установлена необходимость включения дополнительных характеристик в список признаков, на основании которых должно проводиться разделение отечественных образцов на подвиды *indica* и *japonica*.

Ключевые слова: рис, гетерозис, гибриды, гены широкой совместимости, подвиды риса японский и индийский, *japonica*, *indica*.

Развитие репродуктивных барьеров играет ключевую эволюционную роль, поддерживая генетическую дивергенцию и сокращая обмен генами между различными популяциями. По-видимому, наличие таких барьеров имело основное значение в разделении подвидов риса *japonica* и *indica* (1). Сорта подвида *japonica* растут в зонах с умеренным климатом, сорта индийского подвида распространены в тропических и субтропических регионах (2). Между подвидами существует ряд переходных форм как по признакам, определяющим фенотип, так и по физиологическим свойствам растений, обуславливающим особенности развития и адаптации к стрессам (3).

Существуют две гипотезы происхождения подвидов. Согласно первой, японский подвид произошел из образцов индийского подвида при их адаптации к условиям более северных регионов (4). Другая теория говорит о вероятной параллельной доместификации подвидов, происходящих от различных диких родственников (5). Значительные генетические различия между подвидами приводят к высокому гетерозису при их гибридизации, что позволяет надеяться на возможность увеличения потенциала продуктивности культуры за счет межподвидовой гибридизации (6, 7). Исследования показали, что к дифференциации подвидов привела комбинация таких генетических событий, как вставки, делеции, замены нуклеотидов. Наибольшее число различий между подвидами, связанных с изменением нуклеотидных последовательностей, зафиксированы на 11-й и 12-й хромосомах (8-10).

На территории Российской Федерации в основном используются сорта риса подвида *japonica*. Низкая генетическая гетерогенность сортов этого подвида приводит к невысокому гетерозису при их гибридизации

* Работа поддержана грантом РФФИ № 11-04-96534-р_юг_ц.

(11, 12). У межподвидовых гибридов (*japonica/indica*) гетерозисный эффект может составлять 100 % и более. Однако вследствие высокой пустозерности межподвидовые гибриды риса до сих пор промышленно не производятся, гибриды подвида *japonica* также не получили широкого распространения (посевные площади не превышают 5 %) из-за незначительного гетерозисного эффекта (13). В то же время посевные площади под гибридами индийского подвида в Китае в 4 раза больше занимаемых сортами того же подвида (14). Использовать сверхвысокий гетерозис межподвидовых гибридов, однако, можно, если вовлекать в селекцию сорта с генами широкой совместимости (WC), которые обеспечивают озерненность гибридов более 70 % даже при межподвидовой гибридизации (15). Подвид *japonica* несет аллель $S5^J$, *indica* — $S5^i$, образцы с геном широкой совместимости — аллель $S5^n$. Гетерозиготные формы $S5^J/S5^i$ стерильны, образцы, несущие гены широкой совместимости, фертильны ($S5^J/S5^n$, $S5^i/S5^n$) (16, 17). Внедрение генов широкой совместимости в формы с высокой комбинационной способностью даст возможность получить фертильные межподвидовые гибриды с величиной гетерозиса до 100 % (18). Кроме того, межподвидовая гибридизация позволит расширить норму реакции создаваемого образца за счет использования генетического потенциала обоих подвигов и, следовательно, обеспечит большую стабильность получаемых урожаев риса. Гены, обуславливающие широкую совместимость, картированы, определен список микросателлитных SSR-маркеров (simple sequence repeat), позволяющих осуществлять интрогрессию этих генов в перспективные сорта (19-22). Однако выявленные доноры генов широкой совместимости в большинстве случаев представлены образцами из тропического региона (например, Дулар, Нагина 22) и несут ряд признаков, характерных для диких видов (осыпаемость, низкая продуктивность, склонность к полеганию, высокорослость и т.д.) В то же время имеются сообщения о выявлении генов WC у современных сортов (23).

Цель настоящей работы заключалась в уточнении таксономической принадлежности изучаемых образцов риса к двум подвидам, выявлении у них генов широкой совместимости и сравнении свойств получаемых гибридов и их родителей в связи с перспективой создания фертильных межподвидовых гетерозисных гибридов.

Методика. Мы провели гибридизацию между образцами риса *Oryza sativa* L. отечественной селекции, относящимися к подвиду *japonica* (Хазар, Регул, Лиман, Славянец, Дружный, ВНИИР 7679, ВНИИР 7653 и т.д.), а также образцами подвида *indica* отечественной и зарубежной селекции. Оценку гибридов проводили при выращивании в сосудах на вегетационной площадке (10 растений на сосуд) на оптимальном фоне минерального питания $N_{120}P_{60}K_{60}$. В выборках (20 растений на сорт и гибридную комбинацию) в фазу созревания проводили биометрический анализ. Родительские формы, гибридные комбинации которых показывали стерильность более 30 %, относили к не обладающим генами широкой совместимости. Пустозерность определяли как процентное отношение числа стерильных колосков к их общему числу.

Молекулярный анализ выполняли на 20 растениях каждого образца с использованием SSR-маркеров, полиморфных для типичных образцов подвигов. При молекулярном маркировании использовали сорта Ханкайский, Садко, Приморский, Лиман, Гарант, Павловский, Рапан, Новатор, Серпантин, Боярин, Регул, Янтарь, Жемчуг, Лидер, Хазар, Аметист, Нарцисс, Дружный, Спринт, Виола, Дальневосточный, Фонтан, Касун, Юпи-

тер, Атлант, Курчанка, Факел, Снежинка, Шарм, Анаит, Флагман, Изумруд, IR 66, NSIC RC 158, IR 68897B (последние три — типичные образцы подвида *indica* селекции IRRI (IRRI — International Rice Research Institute, Филиппины). Среди сортов российской селекции подвида *indica* был представлен сортами Серпантин, Нарцисс Снежинка, Шарм, Изумруд.

ДНК выделяли из этиолированных проростков и листьев с помощью СТАВ-метода в различных модификациях, постановку полимеразной цепной реакции (ПЦР) и визуализацию продуктов амплификации проводили по методике IRRI (24).

Статистическую обработку данных осуществляли в программе Statistica v. 6.0.

1. Озерненность гибридов первого поколения при скрещивании сортов риса (*Oryza sativa* L.) отечественной селекции, относимых к подвидам *japonica* и *indica* по индексу зерновки (вегетационная площадка, 2008-2009 годы)

Материнская форма × опылитель	Пустозерность, %
<i>japonica</i> × <i>indica</i> :	
Хазар × Снежинка	5,76
Хазар × Изумруд	18,13
Диана × Майя	14,04
Диана × Снежинка	9,09
Дружный × Снежинка	20,70
<i>indica</i> × <i>japonica</i> :	
Снежинка × Хазар	12,57
Снежинка × Регул	9,90
Майя × Хазар	6,75
Изумруд × Хазар	14,25
<i>japonica</i> × <i>japonica</i> :	
Хазар × Лиман	3,60
Регул × Славянец	30,40
Дружный × Лиман	20,00
Диана × Лиман	19,40
ВНИИР 7653 × Дружный	17,20

Результаты. Мы провели поиск генов широкой совместимости (WC) среди коллекционных образцов риса. Родительские формы, гибридные комбинации которых при межподвидовой гибридизации показывали пустозерность более 30 %, относили к не обладающим генами широкой совместимости (табл. 1).

Сравнение озерненности гибридов от скрещивания образцов российской селекции, которые ранее были отнесены к разным подвидам на основании различий по индексу зерновки (отношение ее длины к ширине), показало низкую пустозерность, не отличающуюся достоверно от таковой у гибридов одного подвида (см. табл. 1.).

Удивило то, что при гибридизации российских образцов одного подвида пустозерность во многих случаях превышала таковую у межподвидовых гибридов. Вывод из этого может быть только один: или многие российские сорта несут гены широкой совместимости, или принятая в России классификация не позволяет корректно отнести формы к подвидам. Анализ происхождения селекционного материала выявил достаточно близкое родство образцов отечественной селекции, в том числе номинируемых как разные подвиды. Ранее образцы риса можно было разделять на подвиды согласно происхождению и форме зерновки, однако широкая гибридизация подвидов в ряде исследовательских центров привела к появлению большого числа форм, которые за счет рекомбинации несут гены, характерные для разных подвидов (25-27).

По наблюдениям многих ученых, в настоящее время невозможно на основании различий по одному признаку или гену достоверно дискриминировать подвиды *indica* и *japonica* (28), их разделение только по индексу зерновки более чем в 39 % случаев приводит к неправильной классификации. Атрибутирование по длине опушения цветковых чешуй также дает ошибку в 20-40 % вариантов. Для более точной дифференциации предложено учитывать несколько признаков: окраску листьев, фенольную реакцию, длину опушения цветковых чешуй (или длину волосков апикулюса), чувствительность к низким температурам, хлорату калия (табл. 2). При

использовании вышеперечисленной комбинации признаков погрешность классификации не превышает 0,5 % (29-31). Указанные в этой таблице признаки расположены в порядке их применимости для дискриминации образцов. Так, устойчивость к хлорату калия позволяет более точно дифференцировать образцы на подвиды. Для сортов индийского подвида в большинстве случаев характерен позитивный ответ на фенольную реакцию (32, 33). Хотя спектр вариации по каждому признаку для подвидов частично перекрывается, возможность дифференциации все же указывает на наличие у них значительных и разнонаправленных модификаций.

2. Признаки, дифференцирующие подвиды *indica* и *japonica* у риса (*Oryza sativa* L.) (33)

Признак	<i>indica</i> (n = 42)	<i>japonica</i> (n = 47)
Устойчивость к хлорату калия (log повреждающей концентрации)	Низкая (3,34±0,60)	Высокая (-1,49±0,35)
Устойчивость к засухе (выживание, %)	Высокая (92,4±8,75)	Низкая (59,3±20,67)
Длина волосков апикулуса (мм)	Короткие (0,26±0,06)	Длинные (0,44±0,22)
Устойчивость к холоду (%)	Чувствительный (0,58±0,18)	Устойчивый (0,18±0,22)
Фенольная реакция	Позитивная	Негативная

Еще один вариант атрибутирования предложен китайскими учеными, которые считают целесообразным в перечень показателей, позволяющих достоверно разделить образцы риса на подвиды, включить (в дополнение к уже перечисленным) отношение числа больших сосудистых пучков к числу малых в ножке метелки. У подвида *indica* указанный индекс приблизительно равен 1, у *japonica* — 0,5 (18). Следует отметить, что даже тест на стерильность гибридов не всегда позволяет правильно классифицировать образцы. В частности, скрещивание образцов, несущих некоторые гены, характерные для диких и предковых форм, с современными сортами также приводит к частичной стерильности гибридов (2).

3. Озерненность у гибридов риса (*Oryza sativa* L.) первого поколения при скрещивании родительских форм подвидов *japonica* (j) и *indica* (i) из различных эколого-географических групп (вегетационная площадка, 2008–2009 годы)

Материнская форма × опылитель	Пустозерность, %
<i>japonica</i> × <i>indica</i> :	
Хазар × Олимпиада	50,90
Дружный × Олимпиада	65,10
ВНИИР 7679 × Паритет	59,64
Донг Нонг 418 (<i>japonica</i> тропическая) × Стрелец	83,98
Vialone Nano × A/12 6205	58,27
Жемчуг × A/12 6206	54,50
<i>indica/japonica</i> :	
A/12 6205 × Приморский	93,30
A/12 6206 × Аметист	40,00
A/12 6205 × Baldo	74,90
A/12 6205 × Атлант	41,20
A/12 6205 × Славянец	20,70
A/12 6205 × Дончак	56,89
A/12 6205 × Лиман	32,04
Jefferson × Arborgio	8,02
Jefferson × Аметист	6,73
Jefferson × Виола	7,71
Jefferson × Фонтан	3,75
Внутриподвидовые гибриды:	
Донг Нонг 418 (<i>japonica</i> тропическая) × Боярин (j)	46,82
Донг Нонг 418 (<i>japonica</i> тропическая) × Павловский (j)	32,85
A/12 6205 (i) × Изумруд (i)	89,70
Снежинка (i) × KCL (i)	30,59

В проведенном нами исследовании гибридов в комбинациях, где родительские формы принадлежали к различным эколого-географическим группам, была обнаружена высокая пустозерность растений F₁ (табл. 3).

4. Распределение полиморфных SSR-

маркеров, позволяющих типировать подвиды *japonica* и *indica*, на хромосомах риса (*Oryza sativa* L.) (7)

Хромосома	SSR-маркер
1	RM 226, RM 259, RM 23
2	RM 250, RM 29, RM 211, RM 240
3	RM 231, RM 232, RM 16, RM 251
4	RM 255, RM 335
5	RM 249, RM 267
6	RM 190
7	RM 248, RM 234, RM 214, RM 18
8	RM 25
9	RM 242
10	RM 258, RM 222, RM 228
11	RM 4
12	RM 247, RM 19

Полученные данные показывают отсутствие генов широкой совместимости у образцов, вовлеченных в гибридизацию. Только образец из США Jefferson во всех комбинациях имел значительную озерненность гибридов (в вариантах с ним пустозерность варьировала от 3,75 до 8,00 %). Анализ генезиса сорта подтвердил, что причиной высокой озерненности гибридов в этом случае не может быть близкородственное происхождение исходных форм. О том же свидетельствовали значительные различия по мор-

фофизиологическим характеристикам у образцов, вовлеченных в гибридизацию с этим сортом.

Наиболее достоверно разделить образцы на подвиды можно с помощью молекулярного маркирования. В настоящее время для подобной дифференциации предлагается использовать ряд типичных для подвидов риса полиморфных SSR-маркеров, распределенных по всему геному (табл. 4). Образцы принято относить к тому подвиду, большее число характерных аллелей которого они несут (7). Для того чтобы исключить ошибочное отнесение сортов к подвиду *indica*, мы также провели их молекулярное маркирование.

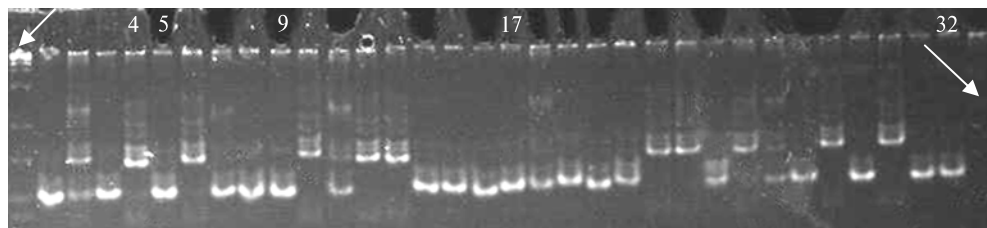


Рис. 1. Полиморфизм у 32 сортов риса (*Oryza sativa* L.) отечественной селекции, выявляемый с использованием SSR-маркера RM 335: 4 — Шарм, 5 — Снежинка, 9 — Серпантин, 17 — Нарцисс, 32 — Изумруд (сорта российской селекции, подвид *indica*); остальные дорожки — сорта российской селекции подвита *japonica*. Маркер молекулярной массы GenPak DNA Markers M 50 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) (отмечен стрелкой).

Изучение генома с использованием 11 SSR-маркеров показало, что российские сорта, относимые к подвиду *indica*, полиморфны по некоторым из этих маркеров, например по RM 335 (рис. 1), RM 240, RM 247, RM 25, RM 259, RM 242. Мономорфными у всех российских сортов оказались маркеры RM 255, RM 258, RM 4, RM 29, RM 19 (рис. 2, А и Б). По мономорфным маркерам все изученные отечественные сорта несли аллель, характерный для подвита *japonica*, по полиморфным — у большей части этих сортов, относимых к подвиду *indica*, также имелись аллели, типичные для подвита *japonica* (табл. 5). Так, в 11 изученных локусах у сортов Ханкайский, Приморский, Изумруд были выявлены только три аллеля, специфичных для подвита *indica*, у сортов Нарцисс и Шарм — четыре, у сорта Снежинка — один аллель, типичный для этого подвита. Только сорт Серпантин может быть отнесен к подвиду *indica* на основании анализа с использованием изученных маркеров, которые сцеплены с локусами, полиморфными для образцов подвидов. С точки зрения разделения российских образцов на подвиды наиболее информативными оказались маркеры RM 335, RM 240, RM 247, RM 25, RM 259 и RM 242.

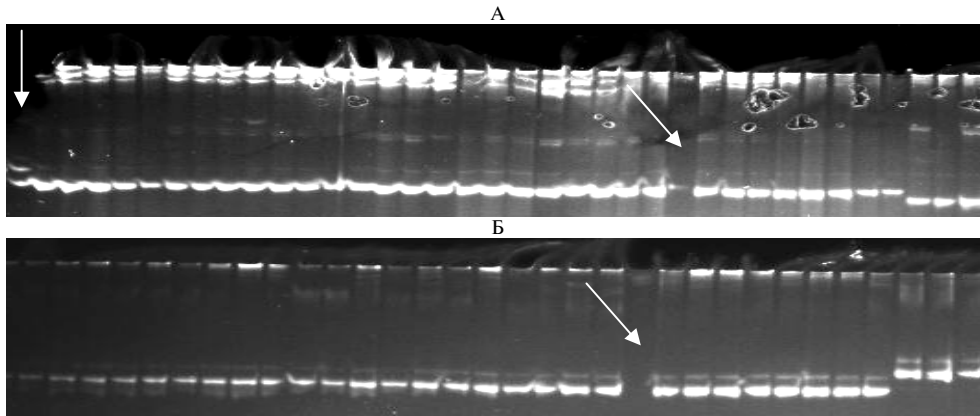


Рис. 2. Полиморфизм у сортов риса (*Oryza sativa* L.) разного эколого-географического происхождения, выявляемый с использованием SSR-маркеров RM 29 (А) и RM 19 (Б): три последние дорожки справа — типичные сорта подвида *indica* зарубежной селекции, остальные дорожки — сорта российской селекции. Маркер молекулярной массы GenPak DNA Markers M 50 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) (отмечен стрелкой).

5. Полиморфизм у сортов риса (*Oryza sativa* L.) отечественной селекции, выявляемый с использованием SSR-маркеров, типичных для подвидов *indica* и *japonica*

Сорт	RM 335	RM 240	RM 255	RM 247	RM 242	RM 4	RM 29	RM 19	RM 25	RM 259	RM 258	Доля аллелей, не характерных для подвида <i>japonica</i>
Ханкайский	1	2	1	2	2	1	2	1	2	2	1	3/11
Приморский	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	3/11
Серпантин	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	6/11
Нарцисс	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	4/11
Снежинка	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	1/11
Шарм	1	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	4/11
Изумруд	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	1	3/11
<i>japonica</i>	2	2	1	1	1	1	2	1	2	2	1	0
	p	p	m	p	p	m	m	m	p	p	m	

Примечание. p и m — соответственно полиморфный и мономорфный маркер.

Таким образом, наблюдаемую у межподвидовых гибридов высокую озерненность при скрещивании российских образцов можно объяснить их генетическим родством и вероятным неправильным отнесением к подвиду *indica* по индексу зерновки. По результатам анализа озерненности гибридов установлено, что вовлеченные в скрещивания сорта российской селекции не несут гены широкой совместимости, определяющие высокие значения этого показателя у гибридов. Продемонстрирована необходимость включения дополнительных характеристик в перечень признаков, на основании которых проводится разделение отечественных образцов на подвиды *indica* и *japonica*, для сокращения числа некорректных идентификаций.

ГНУ Всероссийский НИИ риса РАСХН,
350921 Россия, г. Краснодар, пос. Белозерный,
e-mail: serggontchar@mail.ru

Поступила в редакцию
22 октября 2012 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2013, № 5, pp. 61-68

STERILITY OF INTERSUBSPECIFIC HYBRIDS OF *Oryza sativa* L. IN CONNECTION WITH SEARCH OF GENES OF WIDE COMPATIBILITY AND CORRECT REFERENCE OF SAMPLES TO SUBSPECIES *indica* AND *japonica*

Abstract

In rice (*Oryza sativa* L.) between *indica* and *japonica* subspecies a number of transitional forms both on phenotype and on physiological determinants present, which have the characteristic features in their development and adaptation to stress. The heterosis effect in intersubspecific hybrids (*japonica/indica*) can be of 100 % and more. The superhigh heterosis can be used during intersubspecific hybridization on conditions that the genes of wide compatibility (WC), which ensure a grain content more of 70 %, will be involve in breeding. The authors made the crossings between the samples of domestic and foreign breeding from *japonica* subspecies. The analysis of grain formation in the hybrid combinations did not allow to reveal WC genes in studied varieties of Russian selection defining high fertility of hybrids. The molecular scanning of hybrids and their parental forms was made with the use of 11 polymorphous SSR-markers, typical for subspecies. A possibility to obtain the fertile intersubspecific hybrids of rice and the list of trait used for differentiating samples to subspecies *japonica* and *indica* are discussed. The obtained results show that it is necessary to include additional characteristics into the list of trait for the taxonomic attributing samples to *indica* and *japonica* subspecies.

Keywords: rice, heterosis, hybrid, wide compatibility genes (WC), rice subspecies, *japonica*, *indica*.

REFERENCES

1. Ting M., Hai X., Quan X., Yan-hua G., Chunjie Z., Kai C., Jiayu W., Zhengjin X. Comparison of morphological and genetic differentiations in filial generation of cross between *indica* and *japonica* rice. *Rice Sci.*, 2010, 17(1): 82-86.
2. Cheng K.S. *Discrimination of indica-japonica subspecies in Asia cultivated rice*. Kunming, Yunnan Science and Technology Press, 1993: 1-23.
3. Oka H.I. *Origin of cultivated rice*. Tokyo, Scientific Societies Press, 1988: 181-209.
4. Ting Y. The origin and evolution of cultivated rice in China. *Acta Agron. Sin.*, 1957, 8: 243-260.
5. Chang T.T. The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rice. *Euphytica*, 1976, 25: 435-441.
6. Wang C.L., Zhang Z.L., Tang S.Z., Shi J.D. Exploitation of heterosis between *indica* and *japonica* by three-line method. I. Differentiation between *indica-japonica* sterility and cytoplasmic male sterility. *Jiangsu J. Agr. Sci.*, 1992, 8: 1-7.
7. Zhang Q., Liu K.D., Yang G.P., Saghai M.A., Maroof S.A., Xu G., Zhou Z.Q. Molecular marker diversity and hybrid sterility in *indica-japonica* rice crosses. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 95: 112-118.
8. Yang G.P., Maroof S.A., Xu C.G., Zhang Q., Biyashev R.M. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. *Mol. Gen. Genet.*, 1994, 245: 187-194.
9. Garris A.J., Tai T.H., Coburn J. et al. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics*, 2005, 169: 1631-1638.
10. Mackill D.J. Classifying *japonica* cultivars with RAPD markers. *Crop. Sci.*, 1995, 35: 889-894.
11. Gontcharova I.K., Gontcharov S.V. Hybrid rice breeding in Russia. *Proc. 4th Intern. Symp. on hybrid rice «Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection»* S.S. Virmani, S.X. Mao, B. Hardy (eds.). Los Banos (Philippines), Int. Rice Res. Inst., 2003: 321-328.
12. Goncharova J.K. Fixing heterosis effect in rice hybrids by Strunnikov's method. *Proc. Int. Conf. on Integration of Science and Technology for Sustainable Development*. Bangkok, Thailand, 2007: 393-396.
13. Zhang G.Q., Lu Y.G. Genetics of F1 pollen sterility in *Oryza sativa*. In: *Rice genetics III*. Manila, IRRI, 1996: 418-422.
14. Yuan L.P. Strategic hypotheses of breeding for hybrid rice (in Chinese). *Hybrid Rice*, 1987, 1: 1-3.
15. Ikehashi H., Araki H. Variety screening of compatibility types revealed in F₁ fertility of distant cross in rice. *Jpn. J. Breed.*, 1984, 34: 304-313.
16. Ikehashi H., Araki H. Genetics of F1 sterility in remote crosses of rice. In: *Rice genetics: proceedings of the international rice genetics symposium, 27-31 May 1985*. Manila, Philippines, IRRI, 1986: 119-130.

17. Ikehashi H., Wan J. Differentiation of alleles at seven loci for hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). In: *Rice genetics: proceedings of the international rice genetics symposium, 16-20 October 1995*. Manila, Philippines, IRRI, 1996: 404-408.
18. Xu Z.J., Chen W.F., Zhang B.L. Type difference and genetic study on the upmost internode vascular bundles in rice. *Acta. Agron. Sin.*, 1996, 22(2): 167-172.
19. Taneichi T., Koide Y., Nishimoto D., Sano Y. Hybrid sterility gene *S13* found in a distantly related rice species, *O. longistaminata*. *Genes Genet. Syst.*, 2005, 80: 477.
20. Qiu S.Q., Kede L., Liang J., Song X., Xu C.G., Li X.H., Zhang Q. Delimitation of the rice wide compatibility gene *S5n* to a 40-kb DNA fragment. *Theor. Appl. Genet.*, 2005, 111: 1080-1086.
21. Zhao Z.G., Jiang L., Zhang W.W., Yu C.Y., Zhu S.S., Xie K., Tian H., Liu L.L., Ikehashi H., Wan J.M. Fine mapping of *S31*, a gene responsible for hybrid embryo-sac abortion in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 2007, 226(5): 1087-1096.
22. Li D., Liangming C., Ling J. Fine mapping of *S32(t)*, a new gene causing hybrid embryo sac sterility in a Chinese landrace rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 2007, 114: 515-524.
23. Wang J., Liu K.D., Xu C.G., Li H.X., Zhang Q. The high level of wide compatibility of variety «Dular» has a complex genetic basis. *Theor. Appl. Genet.*, 1998, 97: 407-412.
24. Collard B.C., Das A., Virk P.S., Mackill D.J. Evaluation of «quick and dirty» DNA extraction methods for marker-assisted selection in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed.*, 2007, 126: 47-50.
25. Lyakhovkin A.G. *Trudy po prikladnoi biologii. genetike i selektsii (Leningrad)*, 1987, 100: 63-74.
26. Lyakhovkin A.G. *Trudy po prikladnoi biologii. genetike i selektsii (Leningrad)*, 1980, 69(1): 82-86.
27. Trubilin I.T., Shokov N.R., Kosenkov Yu.P. et al. *Osnovnye morfologicheskie i aprobatsionnye proznaki sortov i gibridov zernovykh, zernobobovykh, krupyanykh i maslichnykh rastenii* [Main Morphological and Approbation Features of Varieties and Hybrids of Cereals, Legumes, Cereals and Oilseeds]. Krasnodar, 2000.
28. Chen S.H., Mao C.Z., Zhan X.D., Si H.M., Sun Z.X. The construction of DH populations and RIL populations for *indica-japonica* and the differentiation of *indica* and *japonica*. *Chinese J. Rice Sci.*, 2001, 15(4): 257-260.
29. Zhu Z.F., Sun C.Q., Fu Y.C., Zhang P.J., Wang X.K. Genetic diversities revealed by comparing Asia cultivated rice and common wild rice by SSR markers. *Sci. Agric. Sin.*, 2002, 35(12): 1437-1441.
30. Wang Y., Qiu F., Hua Z., Dai G. Relationship of parental *indica-japonica* indexes with yield and grain quality traits of *japonica* hybrid rice in Northern China. *Rice Sci.*, 2010, 17(3): 199-205.
31. Mao T., Xu H., Xu Q. et al. Comparison of morphological and genetic differentiations in filial generation of cross between *indica* and *japonica* rice. *Rice Sci.*, 2010, 17(1): 82-86.
32. Morishima H., Oka H.I. Phylogenetic differentiation of cultivated rice, numerical evaluation of the *indica-japonica* differentiation. *Jpn. J. Breed.*, 1981, 31: 402-413.
33. Ouyang Y.D., Chen J.J., Ding J.H., Zhang Q. Advances in the understanding of inter-subspecific hybrid sterility and wide-compatibility in rice. *Chinese Sci. Bull.*, 2009, 54: 2332-2341.