

米甲明, 欧阳亦聘. 水稻籼粳亚种间杂种优势利用的理论与实践[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(1): 40-47.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.01.004

# 水稻籼粳亚种间杂种优势利用的理论与实践

米甲明<sup>1</sup>, 欧阳亦聘<sup>2</sup>

1. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070;

2. 华中农业大学生命科学技术学院/作物遗传改良国家重点实验室/

国家植物基因研究中心(武汉)/湖北洪山实验室, 武汉 430070

**摘要** 水稻是我国杂种优势利用最成功的作物, 对世界粮食增产贡献巨大。亚洲栽培稻包含籼稻和粳稻 2 个亚种, 籼粳亚种间的远缘杂种优势尤为突出, 可作为提高水稻单产的重要途径。但是籼粳亚种间的杂种育性普遍较低, 是利用远缘杂种优势的最大限制因素。本文剖析了水稻籼粳杂种不育的遗传基础, 揭示了系列杂种不育位点的分子机制; 在此基础上解析了广亲和基因的产生机制, 这一类基因资源可作为亚种间杂交稻育种的“桥梁”, 用于提高籼粳杂交稻的育性。这些理论成果促进了籼粳杂种结实率遗传改良的高效化和精准化。两系法、三系法与“籼不粳恢”、“粳不籼恢”相结合的配组模式, 成为强优势籼粳亚种间杂交稻大规模生产的重要途径。培育集绿色、营养、健康性状于一体的高产优质籼粳杂交稻是未来水稻育种的重要方向之一。

**关键词** 水稻; 籼粳杂种不育; 广亲和性; 亚种间杂种优势利用

**中图分类号** S 511.351 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)01-0040-08

水稻高产是一个永恒的主题, 杂交水稻的成功应用与实践让水稻产量有了新的飞跃, 被水稻界誉为继矮秆育种后的第 2 次绿色革命。然而, 受限于有限的品种间杂种优势水平, 杂交稻单产徘徊不前。亚洲栽培稻分为籼稻和粳稻 2 个亚种, 籼稻和粳稻之间远缘杂种优势的利用是进一步提高水稻单产的重要途径<sup>[1]</sup>。袁隆平<sup>[2]</sup>于 1987 年提出了籼粳杂种优势利用的战略构想, 即通过克服杂种不育改良籼粳杂交稻的结实率, 以利用亚种间杂种的产量潜力。为此, 我国水稻遗传学家长期致力于籼粳杂种不育和广亲和的遗传机制研究, 相关理论研究成果加速了籼粳亚种间杂交稻结实率的分子改良。此外, 我国水稻育种家在籼粳亚种间杂交稻的配组模式方面开展了大量的育种实践, 试图探索出一条实现籼粳杂种优势利用的有效途径。

## 1 杂种不育和广亲和现象的发现

### 1.1 杂种不育: 籼粳亚种间杂种优势利用的障碍

我国早在汉代, 对水稻的划分已存在籼稻

(*Oryza sativa* L. ssp. *indica*/xian) 和粳稻(*O. sativa* L. ssp. *japonica*/geng) 2 种类型, 它们是亚洲栽培稻(*O. sativa* L.) 经过长期的自然选择和人工驯化演化而成的 2 个主要亚种<sup>[3]</sup>。籼稻和粳稻在生态适应性、形态特征以及分子水平均具有明显的遗传分化<sup>[4]</sup>, 因此 2 个亚种间的杂种比品种间杂种具有更强的杂种优势; 但是籼粳亚种间远缘杂种的低结实率限制了其杂种优势的有效利用。

日本学者 Kato 等<sup>[5]</sup>首次报道了籼粳杂种不育现象; 此后, 一系列遗传研究发现籼粳亚种间杂种的结实率普遍低于亚种内的杂种<sup>[6-9]</sup>。籼粳杂种结实率下降的原因非常复杂: 基于不同遗传背景的籼粳杂交组合, 发现杂种的育性障碍贯穿整个生殖发育过程。雌配子/胚囊败育、雄配子/花粉败育、柱头的花粉附着率低以及花粉萌发率低等均可降低籼粳杂交稻的结实率, 其中雌、雄配子败育是主要原因<sup>[10]</sup>。基于籼粳杂种雌、雄配子不同发育时期的动态观察, 发现雄配子败育主要发生在单核花粉期, 绒毡层的不正常解体是导致小孢子异常的主要原因; 而雌配

收稿日期: 2021-11-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(31991223; 32101688; 32170622); 湖北省自然科学基金项目(2020CFB192)

通信作者: 欧阳亦聘, E-mail: diana1983941@mail.hzau.edu.cn; 米甲明, E-mail: mjm@mail.hzau.edu.cn

子败育则主要发生在胚囊形成和功能大孢子第1次有丝分裂及之后<sup>[11]</sup>。此外,在不同籼粳杂交组合中雌、雄配子的败育程度也存在显著差异<sup>[12]</sup>。为了解释杂种不育现象,日本学者提出了2个遗传模型:“重复隐性配子致死(duplicate recessive gametic lethal)”模型认为,杂种不育由与配子发育相关的2个独立位点控制,每个位点上有不育(*s*)或可育(*S*)等位基因,配子的正常发育至少需要1个显性等位基因*S*的存在,故携带2个隐性等位基因*s*<sub>1</sub>/*s*<sub>2</sub>的配子败育,导致籼粳杂种不育<sup>[13-14]</sup>;而“单位点孢子体-配子体互作(one locus sporo-gametophytic interaction)”模型认为,籼稻和粳稻在杂种不育位点上分别携带纯合籼型*S-i/S-i*和粳型*S-j/S-j*基因型,籼粳杂种基因型为*S-i/S-j*。杂种中籼型*S-i*和粳型*S-j*等位基因的互作导致携带*S-i*或*S-j*的配子致死,从而表现籼粳杂种不育<sup>[15]</sup>。这种亚种间的杂种不育现象极大地限制了籼粳远缘杂种优势的利用。

## 1.2 水稻的广亲和性:籼粳亚种间杂种优势利用的桥梁

在对水稻杂交亲和性的研究中,发现一类特殊的水稻品种与籼稻和粳稻的杂种都表现出较高的育性<sup>[16-19]</sup>。基于这一现象,Ikehashi等<sup>[19]</sup>将这一类特殊的水稻品种定义为广亲和品种,且遗传分析表明这些品种的广亲和性由广亲和基因所调控<sup>[20]</sup>。国内外学者通过广泛的测交工作,筛选了一批广亲和种质资源<sup>[21]</sup>。基于来自不同国家和地区代表性水稻品种(包括籼稻、粳稻和广亲和品种)的双列杂交试验结果,Liu等<sup>[7]</sup>进一步对不同品种的广亲和性进行了分析,发现来自印度的Dular、来自江苏的02428以及来自印度尼西亚的Ketan Nangka对籼稻、粳稻均具有较高的广亲和性,且3个品种的广亲和性也存在差异。为了解释广亲和性现象,Ikehashi等<sup>[20]</sup>在“单位点孢子体-配子体互作”模型的基础上提出了广亲和模型,认为杂种不育位点*S*上存在一个复等位基因,即广亲和等位基因*S-n*。广亲和品种在杂种不育位点上携带纯合广亲和基因型*S-n/S-n*,与籼稻、粳稻杂交后分别产生基因型为*S-n/S-i*、*S-n/S-j*的杂种,育性均表现正常。广亲和品种是克服籼粳杂种不育的重要基因资源,而解析杂种不育以及广亲和性的遗传机制,对有效利用籼粳杂种优势具有重要的实践意义。

## 2 籼粳杂种不育与广亲和性的调控机制

### 2.1 基于不同遗传群体的籼粳杂种不育与广亲和性的遗传基础研究

籼粳杂种不育和广亲和性一直是水稻基础研究领域的热点,在这一领域也取得了一系列理论研究成果。为了解析籼粳杂种不育和广亲和的遗传基础,研究者利用籼稻、粳稻和广亲和品种构建的多个三交群体开展了遗传分析,先后定位了*S5*、*f3*、*f5*、*f8*、*pf12*、*S7*、*S8*、*S9*和*S19*等籼粳杂种不育和广亲和位点<sup>[8-9,22-26]</sup>。也有学者利用低世代回交群体、染色体片段代换系和近等基因系等遗传群体开展相关遗传分析,基于籼粳交BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>回交群体定位了亚种间杂种不育位点*S31*和*S32*<sup>[27-28]</sup>。Kubo等<sup>[29-31]</sup>利用粳稻遗传背景的染色体片段代换系,先后定位了*S24*、*S35*和*hsa1*等杂种不育位点。研究者利用台中65的近等基因系,对水稻杂种花粉不育性进行了系统的遗传研究,先后定位了*Sa*、*Sb*、*Sc*、*Sd*和*Se*等5个籼粳杂种花粉不育位点<sup>[32-39]</sup>。此外,Mizuta等<sup>[40]</sup>通过籼粳交F<sub>2</sub>群体,检测到2个互作的籼粳杂种不育位点*DPL1*和*DPL2*。我国学者结合籼粳交F<sub>2</sub>群体和高密度遗传连锁图,对籼粳杂种雄性不育、雌性不育和小穗不育的遗传调控网络进行了全基因组遗传剖析,定位到24个影响籼粳杂种育性的效应位点,包括6个新发掘的杂种不育位点,并进一步阐明了杂种不育位点间复杂的上位性互作效应<sup>[41]</sup>。综上,在不同的遗传定位群体可以定位到不同的杂种不育位点,不同籼粳杂交组合的杂种不育遗传基础存在差异<sup>[42]</sup>。

### 2.2 籼粳杂种不育和广亲和基因的克隆与分子机制

在籼稻和粳稻杂交群体中,迄今为止已克隆了6个不同的杂种不育位点/位点对,包含11个相关的效应基因。其中3个位点*S5*、*hsa1*和*S7*调控籼粳杂种的胚囊育性,另外3个位点/位点对*Sa*、*Sc*和*DPL1/DPL2*调控籼粳杂种的花粉育性<sup>[31,43-46]</sup>。此外,在栽培稻和野生稻、亚洲栽培稻和非洲栽培稻之间,也分别克隆了*qHMS7*、*S27/S28*、*DGS1/DGS2*和*S1*等4个杂种不育位点/位点对<sup>[47-52]</sup>。

*S5*是调控籼粳杂种胚囊育性的主效位点,在多个不同的遗传群体中都能被检测到<sup>[8-9,22-23]</sup>。在精

细定位和图位克隆的基础上<sup>[53-54]</sup>,发现 S5 位点存在 3 个紧密连锁的基因 *ORF3*、*ORF4* 和 *ORF5*,且籼稻和粳稻分别携带 *ORF3+ORF4-ORF5+* 和 *ORF3-ORF4+ORF5-* 这 2 种不同的基因型。在籼粳杂种中,*ORF5+* 作为“杀手”破坏细胞壁的完整性,进而被细胞膜上的“帮凶”*ORF4+* 所感知,而导致细胞内的内质网胁迫。而未携带“护卫”*ORF3+* 的雌配子由于无法解除内质网胁迫,导致细胞程序性死亡的提前发生和胚囊败育<sup>[45,54-55]</sup>。因此,S5 位点的广亲和基因型应破坏“杀手”组分或者保留“护卫”组分。通过对 S5 位点在不同水稻资源的基因型分析发现,祖先的水稻群体携带了攻击性和保护性兼备的基因型 *ORF3+ORF4+ORF5+*;随后,在不同的水稻群体中,“帮凶”*ORF4+* 突变形成了典型的籼稻基因型 *ORF3+ORF4-ORF5+*,或者“杀手”*ORF5+* 和“护卫”*ORF3+* 依次突变形成了典型的粳稻基因型 *ORF3-ORF4+ORF5-*。而“杀手”或“帮凶”的丢失以及不同基因型之间的杂交和重组,产生了没有“杀手”但是保留“护卫”的广亲和基因型,对解决籼粳杂种不育具有潜在的利用价值<sup>[56-57]</sup>。

另外 2 个调控籼粳杂种胚囊不育的位点中,*hsa1* 也包含 2 个紧密连锁的遗传互作基因 *HSA1a* 和 *HSA1b*。粳稻等位基因 *HSA1a-j* 编码 1 个高度保守而功能未知的植物特异结构域蛋白 DUF1618,而籼稻等位基因 *HSA1a-i* 由于结构域的破坏而丧失功能。籼稻等位基因 *HSA1b-i* 编码类核酸结合蛋白,在遗传背景为籼型纯合 *HSA1b-i/HSA1b-i* 的杂种中,携带 *HSA1a-j* 的胚囊败育从而导致籼粳杂种不育<sup>[31]</sup>。而 S7 位点上的 *ORF3* 基因编码 1 个含有三角状四肽重复结构域的蛋白,其籼粳等位基因之间的互作导致杂种胚囊不育,*ORF3* 下调表达可以恢复籼粳杂种小穗的育性<sup>[46]</sup>。

调控籼粳杂种花粉不育位点的机制也各不相同。*Sa* 位点同样包含 2 个紧密连锁基因 *SaF* 和 *SaM*,籼稻品种多携带 *SaF<sup>+</sup>SaM<sup>+</sup>*,粳稻品种基因型多为 *SaF<sup>-</sup>SaM<sup>-</sup>*。籼粳杂种中,*SaF<sup>+</sup>*、*SaM<sup>-</sup>* 和 *SaM<sup>+</sup>* 三者互作导致携带 *SaM<sup>-</sup>* 的花粉败育,引起籼粳杂种花粉半不育<sup>[43]</sup>。在 *Sc* 位点籼粳等位基因间的 DNA 序列存在复杂的结构变异,籼稻等位基因 *Sc-i* 携带 2~3 个 *Sc-j* 的同源拷贝,因此籼粳杂种中 *Sc-i* 的高表达抑制了花粉中 *Sc-j* 的表达,进而

造成携带 *Sc-j* 的花粉败育<sup>[44]</sup>。*DPL1* 和 *DPL2* 为一对隐性重复致死基因,*DPL1* 的籼型等位基因由于转座子的插入而不表达,而 *DPL2* 的粳型等位基因,其编码蛋白提前终止,因此,籼稻和粳稻在 *DPL1* 和 *DPL2* 各有 1 个基因丧失功能;在籼粳杂种中,携带双隐性功能缺失等位基因的花粉不能萌发,从而引起籼粳杂种不育<sup>[40]</sup>。

以上研究结果揭示了籼粳杂种不育和广亲和性的复杂遗传调控机制,为克服籼粳杂种的育性障碍提供了理论指导。籼粳亚种间的杂种不育存在单个位点和品种(全基因组)2 个层面,而利用亚种间杂种优势的终极目标是要克服籼稻和粳稻品种水平的杂种不育。随着更多杂种不育位点遗传机制的解析,更丰富的基因资源可以为分子育种所用,最终有望实现品种水平的亲和性,以期攻克籼粳杂交稻低结实率的难题。

### 3 籼粳杂交稻的结实率改良

亚种间杂种不育引起的杂交稻结实率降低长期制约着籼粳强杂种优势的利用。因此,提高籼粳杂种的结实率成为强优势亚种间杂交稻选育的关键。早期遗传理论较为匮乏,育种家多采用常规育种手段,经一次或几次复交或回交,辅以广泛测交的方法,解决籼粳杂种不育的问题,该育种方法也被称之为“籼粳架桥”,即粳中掺籼或籼中掺粳策略。在该思想指导下,国内育种家先后选育了掺籼的粳稻恢复系 C57、C418 以及掺粳的籼稻恢复系 T2070、T984<sup>[58-61]</sup>。“籼粳架桥”育种方法在一定程度上提高了籼粳杂种结实率,然而用该方法育成的品系广亲和性遗传基础不清,且育种选择存在一定的随机性,限制了其作为种质资源被高效利用。

随着籼粳杂种不育遗传机制的逐渐明晰,水稻育种家进一步提出了通过分子育种技术精准改良籼粳杂交稻结实率的技术策略。策略之一是基于广亲和理论,利用基因组育种技术将多个广亲和基因聚合于籼稻或者粳稻的遗传背景,培育在多个杂种不育位点表现广亲和性的广亲和系<sup>[62]</sup>。实践证明这一策略是可行的:通过将广亲和基因 *S5-n* 和 *f5-n* 同步导入到优良籼稻恢复系 9311 中,快速育成了广亲和基因聚合系,其与粳稻的杂种结实率提高了 33.6%~46.7%<sup>[12]</sup>。针对已克隆的杂种不育位点,则可以采用基因编辑技术创制广亲和基因资源。比

如利用 CRISPR-Cas9 基因编辑系统,成功地将杂种不育位点的粳型等位基因 *Sa-i* 和 *Sc-i* 编辑为对应的广亲和等位基因,从而实现广亲和基因的人工创制<sup>[44,63]</sup>。

利用分子育种技术精准改良籼粳杂交结实率的另一策略是培育粳型亲粳系或粳型亲粳系等特异亲和系。将粳型等位基因 *S-i* 或粳型 *S-j* 等位基因导入粳稻或籼稻,可培育粳型亲粳系或粳型亲粳系。在杂种不育位点携带粳型 *S-i/S-i* 基因型的粳稻品种即为粳型亲粳系,而携带粳型 *S-j/S-j* 基因型的籼稻品种为粳型亲粳系;它们与亚种间品种杂交的结实率高于其与亚种内品种杂交的结实率<sup>[64]</sup>。通过分子标记辅助育种技术,可将多个杂种不育位点的粳型等位基因 *Sb-i*、*Sc-i*、*Sd-i* 和 *Se-i* 聚合于粳稻品种台中 65,从而培育出粳型亲粳系 Tbcde,该品系能有效地克服籼粳杂种的花粉不育性<sup>[65]</sup>。

在籼粳杂交稻分子育种中,往往需要将多个策略结合起来,以实现在品种水平的亲和性。通过将 2 个广亲和等位基因 *S5-n* 和 *f5-n* 和 1 个粳型特异亲和基因 *pf12-j* 聚合于优良籼稻恢复系 9311,最终成功选育出广亲和性恢复系,该品系所测配的部分籼粳杂交组合的结实率已达生产应用水平<sup>[66]</sup>。此分子育种实践案例表明,不同籼粳杂交组合的杂种不育位点存在差异,结实率的改良存在组合特异性。需要基于分子遗传对每个籼粳杂交组合进行准确评价和精准设计,意味着籼粳杂交稻的结实率改良正由传统育种逐步走向精准高效的基因组育种。

## 4 籼粳亚种间杂种优势利用的配组模式

在提高籼粳杂种结实率的基础上,进一步实现籼粳杂交稻的商业化生产是水稻种业发展需要考虑的另一重要问题。两系法、三系法与“籼不粳恢”、“粳不籼恢”相互结合的不同杂交配组模式是籼粳杂种优势利用从理论走向应用的重要途径。

三系法主要通过高异交率的粳型或者粳型细胞质雄性不育系与粳型或者粳型恢复系配组,从而育成强优势三系籼粳杂交稻组合,包括三系“粳不籼恢”和“籼不粳恢”2 种配组模式。目前,三系“粳不籼恢”模式已经在生产上得到应用,宁波市农业科学院马荣荣等<sup>[67]</sup>培育出 4 份粳型亲粳恢复系 K<sup>22</sup>2001、K<sup>26</sup>4806、K<sup>30</sup>6093 和 K<sup>31</sup>6211,分别与滇型的三系粳稻不育系

甬粳 2A 配组后,选育出籼粳杂交组合甬优 4 号、甬优 6 号、甬优 9 号和甬优 11 号。三系“籼不粳恢”配组模式虽然还未见成功育种案例,但实现该模式的杂种优势利用也是可预期的。我国籼粳杂交稻亲本种质资源丰富,如中国水稻研究所选育出 4 份籼粳中间型的广亲和恢复系 CH58、CH59、C18 和 C84 能够同时恢复滇型、BT 型、矮败型等粳稻不育系以及野败型、印水型等籼稻不育系的育性<sup>[68]</sup>,下一步则可以此广亲和系为亲本,将恢复基因和广亲和基因同步转育至粳稻,培育能恢复三系粳型不育系的粳型恢复系,从而实现三系“籼不粳恢”配组模式的利用。

两系法可使籼粳杂种优势利用摆脱恢保关系的限制,其配组自由,是值得推荐的籼粳杂种优势利用途径。两系法主要通过高异交率的粳型或者粳型光温敏细胞核雄性不育系与粳型或者粳型恢复系配组,从而育成强优势两系籼粳杂交稻组合,包括两系“粳不籼恢”和“籼不粳恢”2 种配组模式。袁隆平在 1990 年提出借助两系法利用亚种杂种优势的育种思想,其团队于 2017 年选育并审定了两系籼粳杂交稻湘两优 900,该组合母本广湘 24S 为粳型两系光温敏核不育系,父本 R900 为粳型广亲和恢复系,属于典型的两系“籼不粳恢”配组模式<sup>[69]</sup>。浙江大学于 2018 年也审定了两系籼粳杂交稻江两优 7901,其母本江 79S 是粳型两系光温敏核不育系,父本江恢 1501 为粳型广亲和恢复系,属于典型的两系“粳不籼恢”配组模式(<https://www.ricedata.cn/variety/>)。

以上育种实践表明,两系法和三系法均是籼粳杂种优势利用的重要途径。随着我国杂种优势利用理论和技术的成熟,籼粳杂交稻将呈现更为丰富和多样的类型。

## 5 籼粳杂交稻育种展望

如何实现高效精准的籼粳杂种优势利用仍然是摆在育种家面前的难题。近年来,随着水稻分子生物学、功能基因组学的发展,尤其是籼粳杂种不育与广亲和性理论的发展,籼粳杂交稻基因组育种势在必行。对未来籼粳亚种间杂交稻研究进行展望,有以下几点建议:

1) 培育生态适应性强的籼粳杂交稻。设计与当地耕作制度、气候条件相适应的株型和生育期,通过基因组育种在双亲中选择相同的株高和生育期等位

基因,以解决株高和生育期超亲问题,实现籼粳杂种优势的利用与株型、生育期的有机结合,进而实现籼粳杂种优势的最大化利用。如携带“理想株型”基因 *ipa1-2D* 的大穗壮秆籼粳杂交稻是否适应江汉平原中稻主产区仍需探索。故不同生态区域的育种家需因地制宜地制定籼粳杂交稻的选育策略。

2) 培育高产与营养健康兼顾型籼粳杂交稻。张启发<sup>[70-71]</sup>提出“黑米主食化”的稻米消费理念,提高稻米营养价值以促进人类健康。利用基因组育种技术,以籼粳杂交稻为“底盘”,导入营养健康效应相关基因,从而实现营养健康稻米的产量提升是切实可行的。

3) 培育符合农业绿色发展理念的籼粳杂交稻。在籼粳杂交稻品种培育中,应整合抗多种主要病虫害、养分高效、抗逆境等绿色性状,以降低籼粳杂交稻生产过程中的农药和化肥投入,保护农业生态环境。籼粳杂交稻的基因组由亚种远缘基因组组合而成,需要挖掘一批能应用于籼粳杂合遗传背景下的优良基因资源,服务于籼粳杂交稻的绿色性状改良。

4) 加强籼粳杂交稻的理论基础研究,实现籼粳杂种优势利用和结实率改良的精准设计,通过基因组育种全面提高籼粳杂交稻选育的效率。尽管我国在籼粳杂种不育和广亲和性遗传理论研究领域取得了系列成果,籼粳杂种优势的遗传机制以及杂种不育上位性互作的遗传基础仍然不清楚。期待未来更深入的理论基础研究能为籼粳杂交稻的基因组育种提供遗传方案。

## 参考文献 References

- [1] 杨守仁,沈锡英,顾慰连,等. 籼粳稻杂交育种研究[J]. 作物学报, 1962, 1(2): 97-102. YANG S R, SHEN X Y, GU W L, et al. Studies on cross-breeding of *japonica* with *indica* rice[J]. Acta agronomica sinica, 1962, 1(2): 97-102 (in Chinese with English abstract).
- [2] 袁隆平. 杂交水稻的育种战略设想[J]. 杂交水稻, 1987(1): 1-3. YUAN L P. Breeding strategy of hybrid rice[J]. Hybrid rice, 1987(1): 1-3 (in Chinese).
- [3] 丁颖. 中国栽培稻种的起源及其演变[J]. 农业学报, 1957, 8(3): 243-260. DING Y. Origin and evolution of cultivated rice varieties in china[J]. Journal of agricultural sciences, 1957, 8(3): 243-260 (in Chinese).
- [4] HUANG X, KURATA N, WEI X, et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice[J]. Nature, 2012, 490: 497-501.
- [5] KATO S, KOSAKA H, HARA S. On the affinity of rice varie-

- ties as shown by fertility of hybrid plants[J]. Bull Sci Fac Agric Kyushu Univ, 1928, 3: 132-147.
- [6] OKA H. Origin of cultivated rice[M]. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1988.
- [7] LIU K, ZHOU Z, XU C, et al. An analysis of hybrid sterility in rice using a diallel cross of 21 parents involving *indica*, *japonica* and wide compatibility varieties[J]. Euphytica, 1996, 90: 275-280.
- [8] WANG J, LIU K, XU C, et al. The high level of wide-compatibility of variety ‘Dular’ has a complex genetic basis[J]. Theor Appl Genet, 1998, 97: 407-412.
- [9] SONG X, QIU S, XU C, et al. Genetic dissection of embryo sac fertility, pollen fertility, and their contributions to spikelet fertility of intersubspecific hybrids in rice[J]. Theor Appl Genet, 2005, 110: 205-211.
- [10] 徐才国. 水稻亚种内及亚种间杂交花粉在柱头上附着和萌发状态的观察[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(5): 421-424. XU C G. Adsorption and germination of pollens in crosses *indica* within and between and *japonica* rice[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 1995, 14(5): 421-424 (in Chinese with English abstract).
- [11] LIU H, XU C, ZHANG Q. Male and female gamete abortions, and reduced affinity between the uniting gametes as the causes for sterility in an *indica/japonica* hybrid in rice[J]. Sex Plant Reprod, 2004, 17: 55-62.
- [12] MI J, LI G, HUANG J, et al. Stacking *S5-n* and *f5-n* to overcome sterility in *indica-japonica* hybrid rice[J]. Theor Appl Genet, 2016, 129: 563-575.
- [13] OKA H. Genic analysis for the sterility of hybrids between distantly related varieties of cultivated rice[J]. J Genet, 1957, 55: 397-409.
- [14] OKA H. Analysis of genes controlling  $F_1$  sterility in rice by the use of isogenic lines[J]. Genetics, 1974, 77: 521-534.
- [15] KITAMURA E. Genetic studies on sterility observed in hybrids between distantly related varieties of rice, *Oryza sativa* L.[J]. Bull Chugoku Agric Exp Station A, 1962, 8: 141-205.
- [16] TERAOKA H, MIZUSHIMA U. Some considerations on the classification of *Oryza sativa* L. into sub-species, so called *japonica* and *indica*[J]. Jpn J Bot, 1939, 10: 213-258.
- [17] OKA H. Intervarietal variation and classification of cultivated rice[J]. Indian J Genet Plant Breed, 1958, 18: 79-89.
- [18] MORINAGA T, KURIYAMA H. Intermediate type of rice in the subcontinent of *india* and *java*[J]. Jpn J Breed, 1958, 7: 253-259.
- [19] IKEHASHI H, ARAKI H. Varietal screening of compatibility types revealed in  $F_1$  fertility of distant crosses in rice[J]. Jpn J Breed, 1984, 34: 304-313.
- [20] IKEHASHI H, ARAKI H. Genetics of  $F_1$  sterility in remote crosses of rice[C]// IRRI. Rice genetics. Manila: International

- Rice Research Institute, 1986; 119-130.
- [21] 罗利军, 应存山, 汤圣祥. 稻种资源学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2002. LUO L J, YING C S, TANG S X. Rice seed resources[M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Publishing House, 2002 (in Chinese).
- [22] LIU K, WANG J, LI H, et al. A genome-wide analysis of wide compatibility in rice and the precise location of the S5 locus in the molecular map[J]. Theor Appl Genet, 1997, 95: 809-814.
- [23] YANAGIHARA S, KATO H, IKEHASHI H. A new locus for multiple alleles causing hybrid sterility between an AUS variety and Japonica varieties in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Jpn J Breed, 1992, 42: 793-801.
- [24] WAN J M, YANAGIHARA S, KATO H, et al. Multiple alleles at a new locus causing hybrid sterility between a Korean *indica* variety and a *japonica* variety in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Jpn J Breed, 1993, 43: 507-516.
- [25] WAN J M, YAMAGUCHI Y, KATO H, et al. Two new loci for hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theor Appl Genet, 1996, 92: 183-190.
- [26] DEVANAND P S, RANGASWAMY M, IKEHASHI H. Identification of hybrid sterility gene loci in two cytoplasmic male sterile lines in rice[J]. Crop Sci, 2000, 40: 640-646.
- [27] ZHAO Z, WANG C, JIANG L, et al. Identification of a new hybrid sterility gene in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Euphytica, 2006, 151: 331-337.
- [28] LI D, CHEN L, JIANG L, et al. Fine mapping of S32(*r*), a new gene causing hybrid embryo sac sterility in a Chinese landrace rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theor Appl Genet, 2007, 114: 515-524.
- [29] KUBO T, YAMAGATA Y, EGUCHI M, et al. A novel epistatic interaction at two loci causing hybrid male sterility in an inter-subspecific cross of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Genes Genet Syst, 2008, 83: 443-453.
- [30] KUBO T, YOSHIMURA A, KURATA N. Hybrid male sterility in rice is due to epistatic interactions with a pollen killer locus[J]. Genetics, 2011, 189: 1083-1092.
- [31] KUBO T, TAKASHI T, ASHIKARI M, et al. Two tightly linked genes at the *hsa1* locus cause both F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> hybrid sterility in rice[J]. Mol Plant, 2016, 9: 221-232.
- [32] 张桂权, 卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究 I. 等基因 F<sub>1</sub> 不育系杂种不育性的双列分析[J]. 中国水稻科学, 1989, 3(3): 97-101. ZHANG G Q, LU Y G. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice(*Oryza sativa*) I. Diallel analysis of the hybrid sterility among isogenic F<sub>1</sub> sterile lines[J]. Chinese journal of rice science, 1989, 3(3): 97-101 (in Chinese with English abstract).
- [33] 张桂权, 卢永根. 栽培稻杂种不育性的遗传研究 II. F<sub>1</sub> 花粉不育性的基因模式[J]. 遗传学报, 1993, 20(3): 222-228. ZHANG G Q, LU Y G. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice(*Oryza sativa*) II. A genic model for F<sub>1</sub> pollen sterility[J]. Acta genetica sinica, 1993, 20(3): 222-228 (in Chinese with English abstract).
- [34] 张桂权, 卢永根, 刘桂富, 等. 栽培稻杂种不育性的遗传研究 III. 不同类型品种 F<sub>1</sub> 花粉不育性的等位基因分化[J]. 遗传学报, 1993, 20(6): 541-551. ZHANG G Q, LU Y G, LIU G F, et al. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice(*Oryza sativa*) III. Allele differentiation of F<sub>1</sub> pollen sterility in different cultivars[J]. Acta genetica sinica, 1993, 20(6): 541-551 (in Chinese).
- [35] 张桂权, 卢永根, 张华, 等. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究 IV. F<sub>1</sub> 花粉不育性的基因型[J]. 遗传学报, 1994, 21(1): 34-41. ZHANG G Q, LU Y G, ZHANG H, et al. Genetic studies on the hybrid sterility in cultivated rice(*Oryza sativa*) IV. Genotype of pollen sterility in F<sub>1</sub>[J]. Acta genetica sinica, 1994, 21(1): 34-41 (in Chinese).
- [36] 庄楚雄, 张桂权. 栽培稻 F<sub>1</sub> 花粉不育基因 *S-a* 的分子定位[J]. 遗传学报, 1999, 26(3): 213-218. ZHUANG C, ZHANG G Q. Molecular mapping of the *Sa* locus for F<sub>1</sub> pollen sterility in cultivated rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Acta genetica sinica, 1999, 26(3): 213-218 (in Chinese with English abstract).
- [37] 杨存义, 陈忠正, 庄楚雄, 等. 水稻籼粳杂种不育基因座 *S-c* 的遗传图和物理图精细定位[J]. 科学通报, 2004, 49(13): 1273-1277. YANG C Y, CHEN Z Z, ZHUANG C X. Fine mapping of genetic map and physical map of sterile gene locus *S-c* in *indica-japonica* hybrid rice[J]. Chinese science bulletin, 2004, 49(13): 1273-1277 (in Chinese with English abstract).
- [38] LI W, ZENG R, ZHANG Z, et al. Identification and fine mapping of *s-d*, a new locus conferring the partial pollen sterility of intersubspecific F<sub>1</sub> hybrids in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theor Appl Genet, 2008, 116(7): 915-922.
- [39] 朱文银, 李文涛, 丁效华, 等. 水稻 F<sub>1</sub> 花粉不育基因 *S-e* 的初步鉴定[J]. 华南农业大学学报, 2008, 29(1): 1-5. ZHU W Y, LI W T, DING X H, et al. Preliminary identification of F<sub>1</sub> pollen sterility gene *S-e* in *Oryza sativa* [J]. Journal of South China Agricultural University, 2008, 29(1): 1-5 (in Chinese with English abstract).
- [40] MIZUTA Y, HARUSHIMA Y, KURATA N. Rice pollen hybrid incompatibility caused by reciprocal gene loss of duplicated genes[J]. PNAS, 2010, 107: 20417-20422.
- [41] LI G, LI X, WANG Y, et al. Three representative inter and intra-subspecific crosses reveal the genetic architecture of reproductive isolation in rice[J]. Plant J, 2017, 92(3): 349-362.
- [42] 欧阳亦聃. 水稻籼粳杂种不育与广亲和[J]. 科学通报, 2016, 61(35): 3833-3841. OUYANG Y D. Progress of *indica-japonica* hybrid sterility and wide-compatibility in rice[J]. Chinese science bulletin, 2016, 61(35): 3833-3841 (in Chinese with English abstract).
- [43] LONG Y, ZHAO L, NIU B, et al. Hybrid male sterility in rice

- controlled by interaction between divergent alleles of two adjacent genes[J]. PNAS, 2008, 105: 18871-18876.
- [44] SHEN R, WANG L, LIU X, et al. Genomic structural variation-mediated allelic suppression causes hybrid male sterility in rice [J/OL]. Nat Commun, 2017, 8: 1310 [2021-11-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29101356/>. DOI: 10.1038/S41467-017-01400-Y.
- [45] YANG J, ZHAO X, CHENG K, et al. A killer-protector system regulates both hybrid sterility and segregation distortion in rice [J]. Science, 2012, 337: 1336-1340.
- [46] YU Y, ZHAO Z, SHI Y, et al. Hybrid sterility in rice (*Oryza sativa* L.) involves the tetratricopeptide repeat domain containing protein[J]. Genetics, 2016, 203(3): 1439-1451.
- [47] YAMAGATA Y, YAMAMOTO E, AYA K, et al. Mitochondrial gene in the nuclear genome induces reproductive barrier in rice[J]. PNAS, 2010, 107: 1494-1499.
- [48] YU X, ZHAO Z, ZHENG X, et al. A selfish genetic element confers non-Mendelian inheritance in rice[J]. Science, 2018, 360: 1130-1132.
- [49] XIE Y, XU P, HUANG J, Ma S, et al. Interspecific hybrid sterility in rice is mediated by *OgTPR1* at the *S1* locus encoding a peptidase-like protein[J]. Mol Plant, 2017, 10(8): 1137-1140.
- [50] XIE Y, TANG J, XIE X, et al. An asymmetric allelic interaction drives allele transmission bias in interspecific rice hybrids[J/OL]. Nat Commun, 2019, 10: 2501 [2021-11-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31175302/>. DOI: 10.1038/S41467-019-10488-3.
- [51] KOIDE Y, OGINO A, YOSHIKAWA T, et al. Lineage specific gene acquisition or loss is involved in interspecific hybrid sterility in rice[J]. PNAS, 2018, 115(9): 1955-1962.
- [52] NGUYEN G, YAMAGATA Y, SHIGEMATSU Y, et al. Duplication and loss of function of genes encoding RNA polymerase III subunit C4 causes hybrid incompatibility in rice[J]. G3, 2017, 7: 2565-2575.
- [53] QIU S, LIU K, JIANG J, et al. Delimitation of the rice wide compatibility gene *S5n* to a 40-kb DNA fragment[J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 1080-1086.
- [54] CHEN J J, DING J H, OUYANG Y D, et al. A triallelic system of *S5* is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of *indica-japonica* hybrids in rice[J]. PNAS, 2008, 105: 11436-11441.
- [55] ZHU Y F, YU Y M, CHENG K, et al. Processes underlying a reproductive barriers in *indica-japonica* rice hybrids are uncovered by transcriptome analysis[J/OL]. Plant Physiol, 2017, 174(3): 1683-1696.
- [56] OUYANG Y D, LI G, MI J M, et al. Origination and establishment of a trigenic reproductive isolation system in rice[J]. Mol Plant, 2016, 9(11): 1542-1545.
- [57] MI J M, LI G W, XU C H, et al. Artificial selection in domestication and breeding prevents speciation in rice[J]. Mol Plant, 2020, 13(4): 650-657.
- [58] 杨振玉, 陈秋柏, 陈荣芳, 等. 水稻粳型恢复系 C57 的选育[J]. 作物学报, 1981, 7(3): 153-156 YANG Z Y, CHEN Q B, CHEN R F, et al. The breeding of *japonica* rice restorer C57[J]. Acta argonomica sinica, 1981, 7(3): 153-156 (in Chinese with English abstract).
- [59] 杨振玉, 张宗旭, 魏耀林, 等. 粳型特异亲和恢复系 C418 的选育及其特性[J]. 杂交水稻, 1998, 13(3): 31-32. YANG Z Y, ZHANG Z X, WEI Y L, et al. Breeding and characteristics of *japonica* type wide compatibility line C418[J]. Hybrid rice, 1998, 13(3): 31-32 (in Chinese).
- [60] 童汉华, 陈嫩华, 楼卫东, 等. 水稻偏粳型广亲和恢复系 T2070 的选育[J]. 杂交水稻, 2000, 15(2): 10-11. TONG H H, CHEN N H, LOU W D, et al. Breeding of *indica* wide compatibility restorer line T2070[J]. Hybrid rice, 2000, 15(2): 10-11 (in Chinese with English abstract).
- [61] 胡兴明, 钱前. 我国杂交粳稻研究的回顾与思考[J]. 中国稻米, 2021, 27(4): 9-11. HU X M, QIAN Q. Revisiting and thinking on research of japonica hybrid rice in China[J]. China rice, 2021, 27(4): 9-11 (in Chinese with English abstract).
- [62] OUYANG Y D, ZHANG Q F. Understanding reproductive isolation based on the rice model[J]. Annu Rev Plant Biol, 2013, 64: 1-25.
- [63] XIE Y, NIU B, LONG Y, et al. Suppression or knockout of *SaF/SaM* overcomes the *Sa*-mediated hybrid male sterility in rice[J]. J Integr Plant Biol, 2017, 59: 669-679.
- [64] 卢永根, 张桂权. 特异亲和基因及其在杂交水稻育种上利用的设想[J]. 福建稻麦科技, 1992, 10(1): 1-4. LU Y G, ZHANG G Q. Specific affinity gene and its application in hybrid rice breeding[J]. Fujian science and technology of rice and wheat, 1992, 10(1): 1-4 (in Chinese).
- [65] GUO J, XU X M, LI W T, et al. Overcoming inter-subspecific hybrid sterility in rice by developing indica-compatible *japonica* lines[J/OL]. Sci Rep, 2016, 6: 26878 [2021-11-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27246799/>. DOI: 10.1038/srep26878.
- [66] MI J M, LEI Y, KIM S R, et al. An effective strategy for fertility improvement of *indica-japonica* hybrid rice by pyramiding *S5-n*, *f5-n*, and *pf12-j* [J/OL]. Mol Breeding, 2019, 39: 138 [2021-11-14]. <https://doi.org/10.1007/s11032-019-1044-X>.
- [67] 马荣荣, 王晓燕, 陆永法, 等. 晚粳不育系甬梗 2 号 A 及其粳梗杂交晚稻组合的选育及应用[J]. 杂交水稻, 2010(S1): 185-189. MA R R, WANG X Y, LU Y F, et al. Breeding and application of late japonica CMS line Yongjing 2A and its late indica-japonica hybrid rice combinations[J]. Hybrid rice, 2010(S1): 185-189 (in Chinese).
- [68] LIN J, SONG X, WU M. Biological characteristics and heterosis utilization of four *indica-japonica* intermediate type restorer

- lines with wide compatibility[J]. Chinese J Rice Sci, 2012, 26: 656-662.
- [69] 袁隆平. 两系法杂交水稻研究的进展[J]. 中国农业科学, 1990, 23(3): 1-6 YUAN L P. Progress of two-line system hybrid rice breeding[J]. Scientia agricultura sinica, 1990, 23(3): 1-6 (in Chinese with English abstract).
- [70] ZHANG Q F. Purple tomatoes, black rice and food security [J/OL]. Nat Rev Genet, 2021, 22: 414 [2021-11-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33833442/>. DOI: 10.1038/S41576-021-00359-3.
- [71] 张启发. 保障粮食安全, 促进营养健康: 黑米主食化未来可期 [J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(3): 1-2. ZHANG Q F. Ensuring food security and promoting nutrition and health: making black rice staple food for the future[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(3): 1-2 (in Chinese with English abstract).

## Theory and practice of utilizing *xian-geng* inter-subspecific heterosis in rice

MI Jiaming<sup>1</sup>, OUYANG Yidan<sup>2</sup>

1.College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2.College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University/  
National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement/National Plant Gene  
Research Center (Wuhan)/Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, China

**Abstract** Rice is the most successful crop in the utilization of heterosis in China, and it has made a huge contribution to the increase of food production in world. Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.) includes two subspecies of *indica/xian* and *japonica/geng*. The distant heterosis between *indica/xian* and *japonica/geng* subspecies is particularly prominent, which can be used as an important way to increase the yield of rice per area. However, the hybrid fertility between *xian* and *geng* subspecies is generally low, which is the biggest limiting factor in the utilization of distant heterosis. This article analyzed the genetic basis of rice *xian-geng* hybrid sterility, and revealed the molecular mechanism of corresponding hybrid sterility loci. On this basis, the origin of wide-compatibility genes was studied. This type of genetic resources can be used as a “bridge” for the breeding of intersubspecific hybrid rice, and can be used to improve the fertility of *xian-geng* hybrid rice. The theoretical results above have promoted the high efficiency and precision of the genetic improvement of the seed setting rate of *xian-geng* hybrids. The combination of two-line method and three-line method with “*xian* male sterility line and *geng* restorer line” and “*geng* male sterility line and *xian* restorer line” has become an important way for the large-scale utilization of strong intersubspecific heterosis of *xian-geng* hybrid rice. Developing *xian-geng* hybrid rice with high-yield, quality, and nutrition that integrates green, nutritious and healthy traits is one of the important directions for breeding rice in the future.

**Keywords** rice (*Oryza sativa* L.); *indica/xian-japonica/geng* hybrid sterility; wide-compatibility; utilization of inter-subspecific heterosis

(责任编辑: 张志钰)