

光温敏雄性不育水稻的研究进展

范优荣^①, 曹晓凤^②, 张启发^{①*}

① 华中农业大学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), 武汉 430070;

② 植物基因组学国家重点实验室, 国家植物基因研究中心(北京), 中国科学院分子植物卓越中心, 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101

* 联系人, E-mail: qifazh@mail.hzau.edu.cn

2016-09-19 收稿, 2016-09-23 修回, 2016-09-23 接受, 2016-10-20 网络版发表

摘要 50年前, 袁隆平提出杂交水稻生产的设想, 在中国科学家的努力下得以实现并应用. 半个世纪以来, 杂交水稻在中国和多个国家得到了广泛的种植, 为粮食安全提供了有力的保障. 近20年来, 以光温敏两用雄性核不育系为基础的两系杂交稻在水稻生产中占据越来越重要的地位. 中国科学家发现了多个具有实用价值的光温敏雄性不育系, 并开展了系统研究, 对两系法杂交稻的广泛推广发挥了关键作用. 近年来, 几个重要的光温敏雄性不育基因被成功克隆, 并初步阐明了其作用的分子机理, 对于培育新型优良的不育系具有重要意义. 本文将介绍杂交水稻在中国的发现和研究现状, 以庆祝50年前袁隆平先生提出杂交水稻生产的设想.

关键词 杂交稻, 两系不育系, 光敏雄性不育, 温敏雄性不育

袁隆平于1966年发文提出寻找雄性不育水稻并将之用于杂种优势的设想^[1], 从此国内水稻育种界掀起了寻找雄性不育株的热潮, 并开展了轰轰烈烈的杂交稻研究. 雄性不育水稻可分为细胞核质互作雄性不育与细胞核雄性不育. 最初找到的雄性不育株都属于细胞核质互作雄性不育, 并由此发展出了三系杂交稻育种体系. 细胞核雄性不育大多属于隐性核不育, 难以找到保持系进行繁殖, 限制了其在育种上的应用. 直到一批育性受环境影响的细胞核雄性不育水稻的发现, 才使之得以利用, 进而开辟了杂交稻育种的新方向. 第一个受环境影响的细胞核雄性不育水稻由石明松于1973年在湖北沔阳县(今湖北省仙桃市)沙湖原种场种植的晚粳品种农垦58的大田中发现, 后被命名为农垦58S. 农垦58S育性变化受日照长度的影响, 表现出长日照不育、短日照可育的特性^[2]. 因此, 农垦58S可在短日照条件自交结实繁殖; 而在长日照条件下用作不育系进行杂交制种. 这种

光敏雄性不育系能够实现一系两用, 大大简化了三系杂交稻的育种过程. 此后, 育种学家们又陆续发现了育性受温度影响的温敏雄性不育系, 即5460S、安农S-1和衡农S-1. 这3个早粳品种的育性均表现为高温不育、低温可育, 此特性同样被应用于两系杂交稻的培育^[3~6]. 至此, 光敏雄性不育系与温敏雄性不育系奠定了两系杂交稻的核心基础. 与三系杂交稻相比, 两系不育系配组自由、恢复系广、杂交制种过程简化, 在杂交稻生产上占据了越来越重要的地位^[7]. 本文综述了光温敏雄性不育水稻的发现历史、生物学特性、遗传分析、基因的克隆和作用的分子机理, 并对其进一步的利用及未来研究方向提出了设想.

1 水稻光温敏雄性不育系的发现

石明松最初发现雄性不育株农垦58S, 按照选育细胞质雄性不育的传统方法与其他水稻品种进行各种杂交以期寻找保持系. 这一过程中发现农垦58S的

引用格式: 范优荣, 曹晓凤, 张启发. 光温敏雄性不育水稻的研究进展. 科学通报, 2016, 61: 3822–3832

Fan Y R, Cao X F, Zhang Q F. Progress on photoperiod thermo-sensitive genic male sterile rice (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 3822–3832, doi: 10.1360/N972016-01047

育性极不稳定,早播种时不育率和不育度都较高;晚播种时不育性较低,从不育株上割茺再生的分蘖上能收获比较多的种子.1980年和1981年两年的分批播种实验结果表明单株的结实率和日照长度的相关性达到了极显著水平,遮光实验进一步排除了温度对育性的影响,说明日照长度对农垦58S的育性起着关键性作用.进一步用500多份材料与之进行测交,发现都能恢复长日照下农垦58S的育性,因而排除了农垦58S是细胞质雄性不育系的可能性;正反交的 F_2 群体中可育株与不育株符合3:1分离,表明农垦58S育性由一对隐性基因控制.这些实验结果在1985年被总结成文,提出了其在杂交稻育种中的应用价值^[2],一时引起了轰动.接下来的几年中,各省以农垦58S为供体培育出了一大批适应当地气候条件的光、温敏雄性不育系,并且配制的杂交组合表现出比对照明显的杂种优势.农垦58S的发现和应用将育种学家们的眼光从细胞质雄性不育系转到细胞核雄性不育.

1986年,福建农学院从细胞质雄性不育恢复系5460中发现了雄性不育株,5460来自于IR54的辐射后代.最开始认为该雄性不育株属于光敏雄性不育,温度对其育性有一定的影响,因此命名为5460ps^[3].人工气候箱鉴定实验发现5460ps在不同光照时间处理下,高温处理时大部分植株表现为完全不育或者高度不育;而低温处理时则完全可育,故认为5460ps应为温敏型雄性不育系,并将此更名为5460S^[8].湖南杂交水稻研究中心于1987年从超40B/H285//6209-3 F_3 群体中发现了雄性不育株后又经过两代选育,育成了不育系安农S-1^[4].经历与5460S相似的鉴定过程,安农S-1被最终确定为温敏雄性不育系^[5],并成为我国选育新型温敏不育系的主要基因源之一.衡农S-1则是1986年由衡阳市农业科学研究所从长芒野生稻/R0183//测64的 F_2 群体中的不育株87N123S选育而来,也具有温敏特性^[6].

这些光温敏雄性不育系的发现和鉴定提示我们两系不育系的不育性由光照和温度控制,充分利用光温敏雄性不育系,必须对其生物学特性进行详细的分析.

2 光温敏雄性不育水稻的生物学特性

研究表明,光敏不育系农垦58S育性转换的光周期敏感时期为二次枝梗原基分化期、雌雄蕊原基分化期和花粉母细胞形成期,且后两个时期对育性的诱

导作用强于二次枝梗原基分化期,还存在一定的累积效应^[9].感受光周期的敏感植株部位为最上两片叶及叶鞘,尤以心叶为重^[10].同时,农垦58S育性的转换还存在两个温度阈值,即不育和可育的临界温度.在长日照下过低、短日照下过高的温度都会部分恢复育性;而不利于水稻正常生长的极端高温和极端低温会降低育性^[11].因此,只有在一定温度范围内、育性转换的敏感时期确保敏感植株部位接受长度大于14 h,光强高于50 lux的日照才能保证农垦58S的不育,日照长度低于13.5 h则育性得到恢复^[12].此外,在短日条件下进行暗期光中断可诱导不育^[12],并且不同波长的光质对育性转换诱导效果也不同:蓝光和红光具有和白光一样的效应,绿光则没有;红光的效应还能被远红光逆转^[13,14].

温敏不育系安农S-1的育性转育临界温度为26℃,高于此温度时植株表现为雄性不育,低于此温度则为可育^[15];其对温度敏感的时期为花粉母细胞形成期和减数分裂期^[16].

由这些原始光温敏不育系品种为供体培育出一系列籼粳衍生系的育性转换的临界光长和临界温度不尽相同,并与原始供体相差较大,说明遗传背景对育性转换条件存在一定的影响.同时,在光敏感的温度范围内温度对光照长度在育性影响上具有一定的补偿效应,光敏不育系在较高温度下育性转换的临界光长缩短,较低温度下则需要延长临界光长才能保证不育,所以很多光敏不育系尤其是籼型不育系的育性转换普遍受到光照和温度的双重调控;但光周期对温敏不育系的育性没有明显影响.

细胞学观察发现长日照下农垦58S的花粉败育过程始于花粉母细胞形成早期,贯穿整个小孢子发育过程,与绒毡层细胞的异常发育相关:在花粉母细胞时期,绒毡层就开始降解,细胞形态异常,降解过程缓慢,并且不彻底,终结于单核晚期,导致其养料不能正常供给小孢子的发育,使得花粉败育.虽然存在上述异常,其花粉母细胞仍能正常通过减数分裂过程^[17].TUNEL分析表明绒毡层降解过程中伴随的细胞程序性死亡在长日照下的农垦58S中发生要早于农垦58,始于花粉母细胞时期,一直持续到液泡化花粉期;而农垦58中的PCD到单核花粉早期才启动^[18].

高温下安农S-1的小孢子发育在花粉母细胞形成期正常,从减数分裂期开始出现各种异常,不能形成正常的四分体细胞,在不同温度下会出现典败或无

花粉型败育^[19].

早期受研究手段所限, 学者们只能从基础的生理生化及基于生产实际应用的目的展开研究, 探讨了光温敏雄性不育系发育过程中的各种理化性质及各类激素对其育性的影响. 比较分析发现长、短日照下农垦58S敏感期幼穗中游离态IAA的积累及IAA氧化酶的活性、GAs的含量、ABA的含量、以及乙烯的释放量, 都表现出与光周期相关的变化. 过氧化物酶、超氧化物歧化酶、游离氨基酸含量、ATP的含量和叶绿体的光合特性等, 在农垦58S长日照和短日照处理下也存在着差异. 这些数据描述了与农垦58S光敏雄性不育相关的一些现象, 没有阐述根本原因. 归根结底, 很多现象的本质是由基因控制. 直到20世纪90年代分子生物学的发展, 才打破这种泛描述的僵局, 为我们寻找调控光温敏雄性不育基因提供了技术手段, 对光温敏雄性不育的分子机理逐渐有了清晰的认识.

3 光温敏雄性不育系的遗传分析和基因定位

对光温敏雄性不育性的遗传学研究早期都是采用杂交、测交等手段根据经典的孟德尔遗传分离分析光温敏不育系中不育基因的情况. 农垦58S与其他粳稻和籼稻正反交和测交实验表明农垦58S的不育性是由核内隐性基因控制, 与农垦58之间存在一对主效基因的差异^[20], 与其他品种间则存在1~2对主效基因的差异^[21], 并且光敏核不育水稻不育性的稳定性和育性的可恢复性是在两位点互作之外多个QTL加性效应累加的结果^[22]. 农垦58S与其转育而来的粳型光敏不育系间不育基因位点相同, 但与籼型光敏不育系间可能不同^[23].

随着分子标记的发展, 利用RFLP、AFLP、SSR等分子标记结合极端不育-隐性群的分析法对光敏雄性不育基因位点进行分子遗传分析和精细定位的工作才得以展开. Zhang等人^[24]率先在32001S×明恢63的F₂分离群体中检测到两个光敏雄性不育位点*pms1*和*pms2*, 并且位于第7染色体上的*pms1*基因的效应约为第3染色体上*pms2*的2~3倍, 因此将*pms1*作为研究的重点并进行了精细定位, 最终将该基因定位于SSR分子标记Fssr和Rssr之间85 kb的范围内^[25]. 但在此研究过程中发现农垦58S和农垦58之间在*pms1*区域

内存在多态性的标记与这两者之间的育性不存在相关性, 说明农垦58S和农垦58在*pms1*位点上没有育性的分离, 农垦58S中的光敏雄性不育基因另有所在^[26]. 从农垦58S与1514和轮回422这两个组合中鉴定到了除*pms1*外的另一个位于第12染色体上的光敏雄性不育位点*pms3*, 并最终证实*pms3*是导致农垦58突变为农垦58S的位点^[27,28]. 围绕*pms3*进行多次逐步定位, 将之缩小到28.4 kb的范围内^[29]. 此外, 浙江大学利用培矮64S与9311 F₂群体同样在第7染色体上定位到了光敏不育位点*pms1(t)*. 有意思的是, *pms1*位点的共分离标记RG477正好位于*pms1(t)*候选基因LOC_Os07g12130的第二个intron上^[30]. 尽管前期遗传实验表明农垦58S和培矮64S的不育主基因等位^[31], 但这并不能说明这两个位点是一致的, 仍然可能存在两相邻基因控制同一性状的可能性.

绵9S是四川绵阳市农业科学研究所选育的籼型光敏不育系, 其不育基因来源与农垦58S无关^[32], 但该不育性也由单个隐性核不育基因控制, 位于第4染色体上, 命名为*pms4*^[33].

相较于光敏雄性不育基因来源单一、绝大部分都是由农垦58S转育而来的情况, 温敏雄性不育材料较为丰富, 不育基因来源广泛, 并且不育系之间的温敏雄性不育位点并不完全等位^[34]. 尽管光敏不育系农垦58S与温敏不育系培矮64S不育性都由同一基因控制, 但农垦58S与安农S-1及其衍生系都不存在等位的不育基因^[35]. 因此定位到的温敏雄性不育位点远多于光敏雄性不育位点, 分布在多条染色体上(表1). 遗传研究表明安农S-1和衡农S-1的不育性都是由一对隐性基因控制^[36], 并且安农S-1与其衍生的不育系之间具有等位点的温敏不育基因^[35]. 相对而言, 安农S-1的不育性遗传较农垦58S简单, 并且安农S-1在生产中广泛应用, 因此对安农S-1中温敏雄性不育基因的定位和克隆研究也较多. 最早在大连召开的第一届全国植物基因组大会摘要中由中国科学院遗传与发育生物研究所提及了他们对安农S-1不育基因连锁图谱的构建和定位, 将其定位于第2染色体上, 命名为*tms5*, 后来利用安农S-1和南京11的RIL F₈群体将*tms5*定位到标记C365-1和G221-7之间, 遗传距离分别为1.04和2.08 cM^[37]. 随后华南农业大学用了3个群体进一步将该基因范围缩小至181 kb, 这个定位结果与之前遗传所的定位位置非常相近, 但并不重叠^[38]. 表1归纳了这些基因的相关信息.

表 1 水稻中已定位的光温敏雄性不育基因相关信息

Table 1 The information of photoperiod thermo-sensitive genic male sterile genes in rice

类型	位点	染色体	不育亲本	候选区间	功能	参考文献
光敏	<i>pms1</i>	7	32001S	85 kb	—	[25,39]
光温敏	<i>pms1(t)</i>	7	培矮64S	101.1 kb	—	[30]
光敏	<i>pms2</i>	3	32001S	17.6 cM	—	[39]
光敏	<i>pms3</i>	12	农垦58S	LDMAR	long non-coding RNA	[18,29]
光敏	<i>pms4</i>	4	绵9S	6.5 cM	—	[33]
光温敏	<i>p/tms12-1</i>	12	培矮64S	osa-smR5864m	small RNA	[39]
短光敏	CSA	1	<i>csa</i> 突变体	LOC_Os01g16810	参与糖分配	[40,41]
短光敏	<i>rpms1</i>	8	宜D1S	998 kb	—	[42]
短光敏	<i>rpms2</i>	9	宜D1S	68 kb	—	[42]
光温敏	<i>ptgms2-1</i>	2	广占63S	50.4 kb	—	[43]
温敏	<i>tms1</i>	8	5460S	6.7 cM	—	[44]
温敏	<i>tms2</i>	7	Norin PL12	1.7 cM	—	[45]
温敏	<i>tms3(t)</i>	6	IR32364TGMS	2.4 cM	—	[46]
温敏	<i>tms4(t)</i>	2	TGMS-VN1	3.3 cM	—	[47]
温敏	<i>tms5</i>	2	安农S-1, 株1S	LOC_Os02g12290	RNase Z	[37,38,48]
温敏	<i>tmsX</i>	2	粳S	183 kb	—	[49]
温敏	<i>tms6</i>	5	Sokcho-MS	2.0 cM	—	[50]
温敏	<i>tms9</i>	2	株1S	107.2 kb	—	[51]
温敏	<i>tms9-1</i>	9	衡农S-1	162 kb	—	[52]
温敏	TGMS	9	SA2	11.5 cM	—	[53]
温敏	<i>Ugp1</i>	9	Ugp1共抑制	LOC_Os09g38030	UDP葡萄糖焦磷酸化酶	[54]
反温敏	<i>tms6(t)</i>	10	G20S	1455 kb	—	[55]
反温敏	<i>rtms1</i>	10	J207S	7.6 cM	—	[56]

4 光温敏雄性不育基因的克隆和分子机理研究

21世纪初水稻基因组测序的完成和水稻转基因技术的成熟为基因的克隆和验证提供了必要的条件。2012年华中农业大学和华南农业大学相继报道了对光敏雄性不育基因*pms3*的成功克隆和功能分析, 研究结果表明他们分别利用不同的光温敏核不育系——农垦58S和培矮64S定位的不育位点*pms3*和*p/tms12-1*实为同一个基因。培矮64S由农垦58S转育而来, 两者存在等位点的核不育基因^[31], 但更多地表现为温敏雄性不育: 高温下不育, 低温下可育。遗传互补实验证明, *p/tms12-1*的候选基因片段在长日高温条件下都能恢复农垦58S和培矮64S的育性。由于两种不育系对光温反应的不同, 因此两个课题组对*pms3*功能的解析略有不同。前期研究已经表明是

*pms3*基因的突变导致了农垦58变为光敏不育的农垦58S^[27], Ding等人^[18]发现这种突变是由*pms3*转录本上单个碱基造成的, 农垦58中碱基G变为了农垦58S中的碱基C, 引起*pms3*编码的1236 bp长的long non-coding RNA LDMAR的RNA二级结构发生了改变, 并造成其启动子区域DNA甲基化中CG甲基化程度的升高, 抑制了基因在长日照下幼穗中的表达量, 导致雄性不育。此后进一步深入研究发现是由LDMAR启动子区长度为21-nt的小RNA Psi-LDMAR介导了该区间的DNA甲基化, 属于典型的RNA介导的DNA甲基化(RNA-directed DNA methylation, RdDM)^[57]。Zhou等人^[39]也证实了从培矮64S中鉴定到的*p/tms12-1*位点上的同一个碱基突变造成了光温敏雄性不育, 该碱基突变恰好位于21 nt的小RNA osa-smR5864m的第11位上, osa-smR5864m和野生型osa-smR5864w都在幼穗中优先表达, 但两者之间的

表达差异并不受光照长度和温度的影响,推测其作用的发挥并不是通过小RNA的表达量来体现,可能是通过对小RNA结合的下游靶基因进行调控: *osa-smR5864w* 会抑制其下游靶基因的表达,而 *osa-smR5864m* 则不存在这种抑制作用,使得光温敏雄性不育得以体现. 因此 *p/tms12-1* 单碱基的突变导致 *osa-smR5864m* 丧失功能,使其在粳稻和籼稻背景中分别表现出光敏雄性不育和温敏雄性不育. 此前有研究报道将水稻低分子量GTP结合蛋白编码基因 *osRACD* 转化农垦58S能使其育性得到一定程度的恢复,抑制 *osRACD* 的表达会降低农垦58的育性,说明其表达参与了长日照下农垦58S育性的转换^[58],但还没有证据表明 *osRACD* 与 *pms3* 之间存在联系,是否作为 *pms3* 的下游靶基因参与光敏雄性不育尚待进一步的研究证实.

基于上述 *pms3* 基因定位的例子,同样是利用农垦58S和矮矮64S分别定位到的光敏雄性不育基因 *pms1* 和光温敏雄性不育基因 *pms1(t)* 的候选基因区间存在部分重叠的现象,推测这两个位点极有可能也是由同一个基因控制.

之前中国科学院遗传与发育生物学研究所和华南农业大学独立对 *tms5* 的定位结果并不一致,后来两个单位展开合作,最终完成 *tms5* 的克隆. 他们利用两个群体(不育系分别为株1S和安农S-1的衍生系香125S)将温敏不育基因定位在第2染色体上的同一位置. 遗传互补实验表明 *LOC_Os02g12290* 能够恢复高温下安农S-1和株1S的育性,证明该基因就是 *TMS5*^[48]. *TMS5* 编码一个保守的短版本的RNA酶Z,故将此基因命名为 *RNase Z^{SI}*. 单碱基突变造成株1S和安农S-1中 *RNase Z^{SI}* 蛋白质翻译的提前终止. 进一步的实验结果表明 *RNase Z^{SI}* 本身的转录和翻译水平并不受温度的影响,其mRNA和蛋白质丰度在高、低温下无明显差异. 与其他 *RNase Z* 功能相似, *RNase Z^{SI}* 具有核酸内切酶活性. 体外酶活实验表明 *RNase Z^{SI}* 可对tRNA前体的3'端进行加工,但成熟的tRNA丰度在不育系和正常品种间没有显著差异,表明该基因可能通过其他底物来行使功能. 通过RNA-seq的方法找到了 *RNase Z^{SI}* 加工的底物为 *Ub_{L40}* (泛素核糖体L40蛋白). 体外酶活实验证明 *RNase Z^{SI}* 能将3个 *Ub_{L40}* 的mRNA加工成多个片段,在温敏不育系中由于 *RNase Z^{SI}* 功能的缺失,不能正常加工 *Ub_{L40}*,推测其过度积累引起了雄性不育;而常规品种中的 *Ub_{L40}*

mRNA能被 *RNase Z^{SI}* 正常降解,不会造成积累,育性正常^[48].

此外,扬州大学从广占63S中定位的温敏不育位点 *ptgms2-1* 也将 *LOC_Os02g12290* 作为候选基因,并检测到了同样的单碱基突变,说明 *ptgms2-1* 实际上就是 *tms5*,遗憾的是当时没有进行遗传转化验证^[43]. *RNase Z^{SI}* 基因位于 *tmsX* 的定位区间内^[49],并且毗邻 *tms9* 的候选基因区段^[51],说明这些位点可能都由同一基因控制. 有意思的是用于定位 *tms5* 的温敏不育系安农S-1是在超40B/H285//6209-3 F₅群体中发现的不育株^[4],株1S是在抗罗早//4342/02428的F₂群体中发现的^[59],广占63S是从转育自农垦58S的广亲和性不育系N422S与广占63杂交F₂中选育而来^[60],籼S是在籼黄占中发现的自然突变株^[49],并且这些不育系的不育性都由一对隐性主效基因控制,但实际上他们的不育基因来源完全不同,都是在不同群体中独立发现的自然不育株. 广占63S中的 *RNase Z^{SI}* 基因序列与常规品种1587之间除了已报道的功能性单碱基突变,还存在2个SNP^[43]. 未来分析这些不育系中 *RNase Z^{SI}* 基因的序列变异,可能有助于加深对 *tms5* 作用机理的理解.

20世纪末开始的应用突变体库对雄性不育的研究,为寻找光敏雄性不育基因提供了新的思路和方法. *csa* 突变体(*carbon starved anther*)最初是单纯作为一个雄性不育材料进行研究,后来发现其育性受光照长度的影响,在长日照下可育,短日照下不育,具有典型的短光敏雄性不育系特性^[41]. 相对于野生型, *csa* 突变体叶片和茎中糖的含量升高,而花器官中糖和淀粉的积累降低,尤其是在花药发育后期花药中的碳水化合物含量降低,这种糖分配的不均最终导致了雄性不育^[40],但这种糖分配缺陷在长日照下能得以恢复,进而育性恢复^[41]. 无论是在籼稻还是粳稻中, *CSA* 基因的突变都能表现出短光敏雄性不育,不受遗传背景的影响,具有较大的应用价值. 后续研究表明油菜素内酯BR能促进 *CSA* 基因的表达;抑制油菜素内酯信号因子 *OsBZR1* 的表达会降低花粉育性, *OsBZR1* 通过结合到 *CSA* 基因的启动子上调控 *CSA* 的表达^[61]. 不过尚未有证据表明油菜素内酯是否会影 响 *CSA* 基因参与的光敏雄性不育.

通过反向遗传学的方法鉴定到抑制水稻UDP葡萄糖焦磷酸化酶同源基因 *Ugp1* 的表达会引起花粉细胞发育过程中正常的胍胍质积累过程被干扰,导致

雄性不育。Ugp1的RNAi植株表现为稳定的雄性不育，而其共抑制植株的育性受温度影响：高温下不育，低温下可育^[54]。研究表明Ugp1的mRNA选择性剪切受温度调控：在这些共抑制植株中由于转化所用的载体超量表达，使得体内还存在大量内含子未被剪切的mRNA，在低温下Ugp1共抑制植株的共抑制过程也是正常的，而在小花中这些内含子未被剪切的mRNA跟高温条件下相比，能进一步产生更多被正确剪切的转录本，翻译出足够的UGPase蛋白质，胍蒧质积累正常，育性不受影响^[54]。

除了从单个基因出发研究光温敏雄性不育外，基因芯片、RNA-seq、small RNA-seq等检测手段为研究提供了大量数据，有助于从全基因组水平上分析参与光温敏雄性不育过程的基因调控网络，为进一步阐明光温敏雄性不育的机理提供了有力线索。基因芯片分析农垦58S长、短日照下颖花原基分化期和雌雄蕊原基形成期叶片中的差异表达基因发现长日照下有更多基因的表达量下降，一些与光周期和开花相关的基因存在表达量差异^[62]；同样发现高温下Ugp1共抑制植株发展的温敏雄性不育系TGMS-Co27减数分裂时期幼穗中基因的表达也被抑制，包括一些与花粉发育相关的重要基因^[63]；RNA-seq分析冷处理的光温敏雄性不育系Y58S和培矮64S得到许多与转录因子、信号转导和代谢相关的差异表达基因^[64]。甲基化测序结果表明培矮64S在不育条件下全基因组甲基化水平更高^[65,66]。此外，对光温敏不育系武香S进行small RNA-seq分析找到了许多与育性转换相关的miRNA^[67]。这些数据的分析丰富了对光温敏雄性不育调控机理的认识(图1)。

5 光温敏雄性不育系的利用

光温敏雄性不育系的利用主要是应用于杂交稻的生产，包括两方面：一是作为不育基因源，选育适于配置杂交种和不同生态型的籼型或粳型优良不育系；另外就是直接用于配制强优势杂交种。农垦58S属于晚粳品种，采用单交、复交、回交等多种杂交方式，培育出了粳型光敏不育系N5047S, N5088S, 7001S, WD1S等，及籼型光敏不育系湖农5S, 8902S, W9451S等，和籼型温敏不育系培矮64S, GD-2S, 8087S, 蜀光612S等。籼型不育系香125S, 安湘S等是从安农S-1选育而来。国内用于生产的光温敏雄性不育系主要来自于农垦58S和安农S-1的衍生系^[7]。国家水稻数据

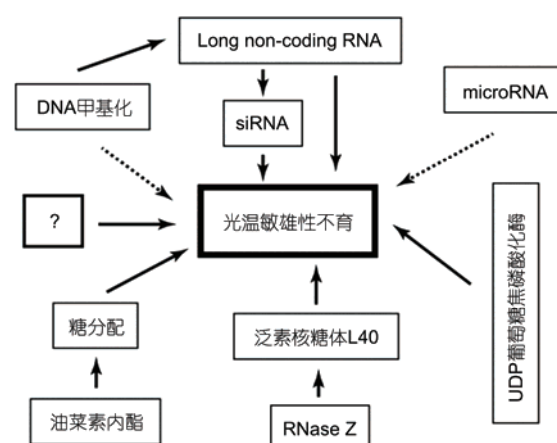


图1 水稻光温敏雄性不育调控机理

Figure 1 The molecular regulatory mechanism of photoperiod thermo-sensitive genic male sterility in rice

中心(<http://www.ricedata.cn/variety/>)统计数据显示截至目前为止通过省级以上审定的两系不育系共有99个。从20世纪80年代初期成功选育出来一批光温敏雄性不育系后就开始了两系杂交稻组合的选配，1989年首批组合开始进入生产示范。到目前为止共有856个两系杂交组合通过了省级以上的品种审定，其中有75个获得了品种权授权。1996~2013年，两系杂交稻占杂交水稻的面积比例由最初的0.92%逐年上升，直至33.59%，在安徽、江苏、湖北省份，两系杂交稻面积甚至超过了三系杂交稻^[68]。两系杂交稻已经成为了杂交稻越来越重要的组成部分。

6 展望

针对LDMAR和RNase Z^{S1}的功能性碱基突变设计CAPS标记分析了90个光温敏雄性不育系中所携带的这两个基因的情况，发现以农垦58S为唯一不育基因源的光温敏不育系中也有部分携带RNase Z^{S1}，或者均不含这两个基因；由安农S-1和株1S衍生的不育系则都含有RNase Z^{S1}；其他不育基因与农垦58S及安农S-1和株1S无关的两系不育系中也会携带其中一个基因。衡农S-1中不携带这两个基因。携带RNase Z^{S1}的不育系在目前两系杂交稻生产中占据主导地位^[69]。该结果也从侧面表明了两系不育系中光温敏雄性不育基因的复杂性；而且不育性的体现还包含了光敏不育和温敏不育基因之间的互作。已报道的几个光温敏雄性不育基因作用机理各不相同，这些基因之间的分子调控网络是否存在交叉点是未来研究的一个方向。

与传统光温敏雄性不育系光温反应相反, 研究者们又发现了一些反光温敏雄性不育系: 短光敏感不育系宜D1S, 反温敏不育系TB7S和Go543S等. 宜D1S在长日照下可育、短日照下不育^[70]; TB7S, Go543S则表现为在较高温度下可育, 较低温度下育性下降. 这些反光温敏雄性不育系在一定光温条件下也存在稳定的不育期和可育期, 因此也具有利用价值, 但控制其光温敏雄性不育的基因遗传相对复杂, 相关研究报道不多. 光温敏雄性不育基因的克隆为这些反光温敏雄性不育系的研究提供了有利的技术支持.

同时, 新型的光温敏雄性不育基因的分离和克隆也为水稻分子育种提供了新的思路. *csa*突变体与珍汕97进行杂交和回交后获得的*csa*突变位点纯合单

株表现出反光敏雄性不育特性, 且*csa*突变体与粳稻恢复系JP69杂交后代育性正常, 还具有较强的杂种优势^[41]. 同时应用CRISPR/Cas9技术对粳稻品种9522, 交优5B和空育131中的CSA基因进行编辑, 分别获得了无转化载体的反光敏雄性不育系9522^{csa}, JY5B^{csa}和KY131^{csa-4}, 可应用于杂交稻生产育种^[71]. 该实例很好地展示了CRISPR/Cas9技术定点编辑光温敏雄性不育基因在杂交稻培育方面的潜力, 并且减少了传统育种过程中复杂基因组遗传背景的影响, 可更好地应用于杂交稻的选育和改良. 因此, 可以预见对LDMAR和RNase Z^{SI}等已克隆的光温敏雄性不育基因进行基因编辑创造新型光温敏不育系将为杂交稻培育提供广阔前景.

参考文献

- 1 Yuan L P. A preliminary report on male sterility in rice, *Oryza sativa* L. Chin Sci Bull, 1966, 11: 322 [袁隆平. 水稻的雄性不孕性. 科学通报, 1966, 17: 185–188]
- 2 Shi M. The discovery and preliminary studies of the photoperiod-sensitive recessive male sterile rice (*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*) (in Chinese). Sci Agric Sin, 1985, 2: 44–48 [石明松. 对光照长度敏感的隐性雄性不育水稻的发现与初步研究. 中国农业科学, 1985, 2: 44–48]
- 3 Yang R, Li W, Wang N, et al. Discovery and preliminary study on *indica* photosensitive genic male-sterile germplasm 5460ps (in Chinese). Chin J Rice Sci, 1989, 3: 47–48 [杨仁崔, 李维明, 王乃元, 等. 籼稻光敏核不育种质 5460 ps 的发现和初步研究. 中国水稻科学, 1989, 3: 47–48]
- 4 Deng H, Shu F, Yuan D. An overview of research and utilization of Annon S-1 (in Chinese). Hybrid Rice, 1999, 14: 1–3 [邓华凤, 舒福北, 袁定阳. 安农 S-1 的研究及其利用概况. 杂交水稻, 1999, 14: 1–3]
- 5 Zhou G, Li X, Tan Z, et al. Studies on the expression condition of male-sterile genes and fertility changes in An-Nong_{S-1} (*indica* type) male-sterile rice (in Chinese). Acta Sci Nat Univ Norm Hunan, 1990, 13: 365–372 [周广洽, 李训贞, 谭周铤, 等. 水稻籼型不育系安农_{S-1}不育基因表达条件和育性转换规律的研究. 湖南师范大学自然科学学报, 1990, 13: 365–372]
- 6 Jiang Z, Xu Q, Dong Y. Studies on the fertility changes and heredity in Hengnong S-1 (*indica* type) male-sterile rice (in Chinese). Crop Res, 1992, 6: 12–14 [蒋佐升, 徐庆国, 董延瑜. 籼型两用不育系衡农 S-1 育性转换及育性遗传的研究. 作物研究, 1992, 6: 12–14]
- 7 Si H, Liu W, Fu Y, et al. Current situation and suggestions for development of two-line hybrid rice in China (in Chinese). Chin J Rice Sci, 2011, 25: 544–552 [斯华敏, 刘文真, 付亚萍, 等. 我国两系杂交水稻发展的现状和建议. 中国水稻科学, 2011, 25: 544–552]
- 8 Sun Z, Xiong Z, Min S, et al. Identification of the temperature sensitive male-sterile rice (in Chinese). Chin J Rice Sci, 1989, 3: 49–55 [孙宗修, 熊振民, 闵绍楷, 等. 温度敏感型雄性不育水稻的鉴定. 中国水稻科学, 1989, 3: 49–55]
- 9 Yuan S, Zhang Z, Xu C. Studies on the critical stage of fertility change induced by light and its phase development in HPGMR (in Chinese). Acta Agron Sin, 1988, 14: 7–13 [元生朝, 张自国, 许传桢. 光照诱导湖北光敏感核不育水稻育性转变的敏感期及其发育阶段的探讨. 作物学报, 1988, 14: 7–13]
- 10 Zhang P, Ding J, Zhang Q. The leaves and sites for inducing fertility change by photoperiod in photoperiod-sensitive genic male sterile rice (in Chinese). Mol Plant Breed, 2010, 8: 641–646 [张平博, 丁寄花, 张启发. 光敏核不育水稻对日照长度处理反应的叶片及部位. 分子植物育种, 2010, 8: 641–646]
- 11 Liu Y, He H, Rao Z, et al. Studies of mechanism of fertility in dual-purpose genic male sterile line (*O. Sativa* L.) under different light length and temperature conditions (in Chinese). Acta Agric Univ Jianxi, 1991, 13: 1–7 [刘宜柏, 贺浩华, 饶治祥, 等. 光温条件对水稻两用核不育系育性的作用机理研究. 江西农业大学学报, 1991, 13: 1–7]
- 12 Zhang Z, Yuan S, Xu C. The influence of photoperiod on the fertility changes of Hubei Photo-sensitive Genic Male-sterile Rice (HPGMR) (in Chinese). Chin J Rice Sci, 1987, 1: 137–143 [张自国, 元生朝, 许传桢. 光周期条件对湖北光敏感核不育水稻育性转变的影响. 中国水稻科学, 1987, 1: 137–143]

- 13 Chen K, Xiao Y. Effect of night-break with different wavelengths light on fertility in HPGMR (in Chinese). J Wuhan Univ (Nat Sci Ed), 1991, 127–128 [陈克成, 肖翊华. 不同波长的光进行黑夜—中断对 HPGMR 育性的影响. 武汉大学学报(理学版), 1991, 127–128]
- 14 Li H, Lu S. Preliminary study on the relationships between the alteration between sterility and fertility of Hubei light-inducing nuclear sterility rice and phytochrome (in Chinese). J Huazhong Agric Univ, 1987, 6: 397–398 [李合生, 卢世峰. 湖北光敏感核不育水稻育性转换与光敏色素相关性的初步研究. 华中农业大学学报, 1987, 6: 397–398]
- 15 Zeng H, Zhang Z, Zhang D, et al. Development of photo-(thermo)-sensitive genic male sterile rice and identification on photo-thermo-responses characters of fertility transformation (in Chinese). Hubei Agric Sci, 1996, Suppl: 33–37 [曾汉来, 张自国, 张端品, 等. 光(温)敏核不育水稻发育与育性转换光温反应特性鉴定. 湖北农业科学, 1996, 增刊: 33–37]
- 16 Chen L, Zhou G. Effect of temperature and photoperiod on fertility and physiological activities of rice Annong S-1 and Hengnong S-1 (in Chinese). Acta Bot Sin, 1994, 36: 119–123 [陈良碧, 周广治. 温光条件对水稻安农 S-1, 衡农 S-1 的育性及生理的影响. 植物学报, 1994, 36: 119–123]
- 17 Shi Y, Zhao S, Yao J. Premature tapetum degeneration: A major cause of abortive pollen development in photoperiod sensitive genic male sterility in rice. J Integr Plant Biol, 2009, 51: 774–781
- 18 Ding J, Lu Q, Ouyang Y, et al. A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: 2654–2659
- 19 Huang Y, Chen L, Zhou J, et al. Cytological observation on male-sterility of thermo-sensitive genic male-sterile rice at different temperature (in Chinese). Acta Sci Nat Univ Norm Hunan, 2000, 23: 65–67 [黄玉祥, 陈良碧, 周建林, 等. 不同温度条件下温敏核不育水稻雄性不育的细胞学观察. 湖南师范大学自然科学学报, 2000, 23: 65–67]
- 20 Shi M, Deng J. The discovery, determination and utilization of the Hubei photosensitive genic male-sterile rice (*Oryza sativa* subsp. *japonica*) (in Chinese). Acta Genet Sin, 1986, 2: 107–112 [石明松, 邓景扬. 湖北光感核不育水稻的发现、鉴定及其利用途径. 遗传学报, 1986, 2: 107–112]
- 21 Mei M, Li Z. Analysis of genetic relationships between PGMS (TGMS) lines and CMS lines in rice (in Chinese). Hereditas (Beijing), 1995, 17: 199–204 [梅明华, 李泽炳. 水稻光(温)敏核不育系与核质互作不育系的遗传关系剖析. 遗传, 1995, 17: 199–204]
- 22 He Y, Yang J, Xu C, et al. Genetic bases of instability of male sterility and fertility reversibility in photoperiod-sensitive genic male-sterile rice. Theor Appl Genet, 1999, 99: 683–693
- 23 Mei M, Li Z. Studies on the allelism of gene (s) for photoperiod-and thermo-sensitive genic male sterility in rice (in Chinese). J Huazhong Agric Univ, 1993, 12: 407–413 [梅明华, 李泽炳. 籼、粳型光(温)敏核不育系的不育基因等位性的研究. 华中农业大学学报, 1993, 12: 407–413]
- 24 Zhang Q, Shen B Z, Dai X K, et al. Using bulked extremes and recessive class to map genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 8675–8679
- 25 Liu N, Shan Y, Wang F, et al. Identification of an 85-kb DNA fragment containing *pms1*, a locus for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice. Mol Genet Genomics, 2001, 266: 271–275
- 26 Wang F, Mei M, Xu C, et al. Pms1 is not the locus relevant to fertility difference between the photoperiod-sensitive male sterile rice Nongken 58S and normal rice “Nongken 58” (in Chinese). Acta Bot Sin, 1997, 39: 922–925 [王凤平, 梅明华, 徐才国, 等. 光敏核不育水稻农垦 58S 与正常品种“农垦 58”在 *pms1* 区段无育性基因分离. 植物学报, 1997, 39: 922–925]
- 27 Mei M, Chen L, Zhang Z, et al. *pms3* is the locus causing the original photoperiod-sensitive male sterility mutation of ‘Nongken 58S’. Sci China Ser C: Life Sci, 1999, 42: 316–322
- 28 Mei M, Dai X, Xu C, et al. Mapping and genetic analysis of the genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice using the original mutant Nongken 58S. Crop Sci, 1999, 39: 1711–1715
- 29 Lu Q, Li X, Guo D, et al. Localization of *pms3*, a gene for photoperiod-sensitive genic male sterility, to a 28.4-kb DNA fragment. Mol Genet Genomics, 2005, 273: 507–511
- 30 Zhou Y, Zhang X, Xue Q. Fine mapping and candidate gene prediction of the photoperiod and thermo-sensitive genic male sterile gene *pms1(t)* in rice. J Zhejiang Univ Sci B, 2011, 12: 436–447
- 31 Deng X, Li R, Zhou K, et al. The allelism of sterile genes of photo-thermo-sensitive genic male sterile lines in rice, *Oryza sativa* (in Chinese). Southwest China J Agric Sci, 1997, 10: 1–6 [邓晓建, 李仁端, 周开达, 等. 水稻光温敏核不育系不育基因的等位性研究. 西南农业学报, 1997, 10: 1–6]
- 32 Wang Z, Wu F, Tang Y, et al. Selection of the dual-purpose genic male sterile line Mian 9S, a new germplasm of *indica* rice (in Chinese). Southwest China J Agric Sci, 1999, 12: 11–14 [王志, 吴凡, 唐益文, 等. 水稻新资源籼型两用核不育系绵 9S 的选育. 西南农业学报, 1999, 12: 11–14]
- 33 Huang T, Wang Z, Hu Y, et al. Genetic analysis and primary mapping of *pms4*, a photoperiod-sensitive genic male sterility gene in rice (*Oryza sativa*). Rice Sci, 2008, 15: 153–156

- 34 Chen S, Lu H, Yang J. Allelism of thermo-sensitive genic male sterile genes of *indica* rice (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 1996, 29: 27–33 [陈顺辉, 卢浩然, 杨聚宝. 籼型温敏核雄性不育基因的等位性研究. *中国农业科学*, 1996, 29: 27–33]
- 35 Xiang Y, Li B, Wu H, et al. Studies on allelism of photosensitive and thermo-sensitive genic male-sterile rice genes (in Chinese). *Seed*, 2002, (4): 37–39 [向阳, 李必湖, 吴厚雄, 等. 光敏、温敏核不育水稻核不育基因等位性及基因对数的研究. *种子*, 2002, (4): 37–39]
- 36 Deng Q, Sheng X, Duan M, et al. Genetic studies on photo- and thermo-sensitive genic male sterility of *indica* rice (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2001, 16: 47–51 [邓启云, 盛孝邦, 段美娟, 等. 籼型光温敏核不育水稻雄性不育性遗传研究. *杂交水稻*, 2001, 16: 47–51]
- 37 Wang Y, Xing Q, Deng Q, et al. Fine mapping of the rice thermo-sensitive genic male-sterile gene *tms5*. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 917–921
- 38 Jiang D, Lu S, Zhou H, et al. Mapping of the rice (*Oryza sativa* L.) thermo-sensitive genic male sterile gene *tms5* with EST and SSR markers. *Chin Sci Bull*, 2006, 51: 417–420
- 39 Zhou H, Liu Q, Li J, et al. Photoperiod- and thermo-sensitive genic male sterility in rice are caused by a point mutation in a novel noncoding RNA that produces a small RNA. *Cell Res*, 2012, 22: 649–660
- 40 Zhang H, Liang W, Yang X, et al. *Carbon starved anther* encodes a MYB domain protein that regulates sugar partitioning required for rice pollen development. *Plant Cell*, 2010, 22: 672–689
- 41 Zhang H, Xu C, He Y, et al. Mutation in *CSA* creates a new photoperiod-sensitive genic male sterile line applicable for hybrid rice seed production. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 110: 76–81
- 42 Peng H, Zhang Z, Wu B, et al. Molecular mapping of two reverse photoperiod-sensitive genic male sterility genes (*rpms1* and *rpms2*) in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2008, 118: 77–83
- 43 Xu J, Wang B, Wu Y, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of *ptgms2-1*, the photoperiod-thermo-sensitive genic male sterile gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2011, 122: 365–372
- 44 Wang B, Xu W W, Wang J Z, et al. Tagging and mapping the thermo-sensitive genic male-sterile gene in rice (*Oryza sativa* L.) with molecular markers. *Theor Appl Genet*, 1995, 91: 1111–1114
- 45 Yamaguchi Y, Ikeda R, Hirasawa H, et al. Linkage analysis of thermosensitive genic male sterility gene, *tms-2* in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed Sci*, 1997, 47: 371–373
- 46 Subudhi P K, Borkakati R P, Virmani S S, et al. Molecular mapping of a thermosensitive genetic male sterility gene in rice using bulked segregant analysis. *Genome*, 1997, 40: 188–194
- 47 Dong V N, Subudhi K P, Luong N P, et al. Molecular mapping of a rice gene conditioning thermosensitive genic male sterility using AFLP, RFLP and SSR techniques. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 727–734
- 48 Zhou H, Zhou M, Yang Y, et al. RNase Z^{S1} processes *Ubl40* mRNAs and controls thermosensitive genic male sterility in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4884–4892
- 49 Peng H F, Chen X H, Lu Y P, et al. Fine mapping of a gene for non-pollen type thermosensitive genic male sterility in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2010, 120: 1013–1020
- 50 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.). *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 1271–1277
- 51 Sheng Z, Wei X, Shao G, et al. Genetic analysis and fine mapping of *tms9*, a novel thermosensitive genic male-sterile gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed*, 2013, 132: 159–164
- 52 Qi Y, Liu Q, Zhang L, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of the novel thermo-sensitive genic male sterility *tms9-1* gene in rice. *Theor Appl Genet*, 2014, 127: 1173–1182
- 53 Reddy K O U, Siddiq A E, Sarma P N, et al. Genetic analysis of temperature-sensitive male sterility in rice. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 794–801
- 54 Chen R, Zhao X, Shao Z, et al. Rice UDP-glucose pyrophosphorylase1 is essential for pollen callose deposition and its cosuppression results in a new type of thermosensitive genic male sterility. *Plant Cell*, 2007, 19: 847–861
- 55 Liu X, Li X, Zhang X, et al. Genetic analysis and mapping of a thermosensitive genic male sterility gene, *tms6(t)*, in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome*, 2010, 53: 119–124
- 56 Jia H J, Zhang S D, Li Y C, et al. Molecular mapping of the reverse thermo-sensitive genic male-sterile gene (*rtms1*) in rice. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 607–612
- 57 Ding J, Shen J, Mao H, et al. RNA-directed DNA methylation is involved in regulating photoperiod-sensitive male sterility in rice. *Mol Plant*, 2012, 5: 1210–1216
- 58 Ye J, Huang M, Zhao S, et al. The relationship between the expression of *osRACD* and the fertility changes of photoperiod-sensitive genic male sterile rice (in Chinese). *Prog Nat Sci*, 2004, 14: 166–172 [叶建荣, 黄美娟, 赵淑慧, 等. *osRACD* 基因表达与光敏核不育水稻光周期育性转换的相关性. *自然科学进展*, 2004, 14: 166–172]

- 59 Yang Y, Tang P, Yang W, et al. Breeding and utilization of TGMS line Zhu 1S in rice (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2000, 15: 6–7 [杨远柱, 唐平徕, 杨文才, 等. 水稻广亲和温敏不育系株 1S 的选育及应用. 杂交水稻, 2000, 15: 6–7]
- 60 Yang Z, Zhang G, Zhang C, et al. Breeding of fine quality PTGMS line Guangzhan 63S in medium *indica* rice (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2002, 17: 4–6 [杨振玉, 张国良, 张从合, 等. 中籼型优质光温敏核不育系广占 63S 的选育. 杂交水稻, 2002, 17: 4–6]
- 61 Zhu X, Liang W, Cui X, et al. Brassinosteroids promote development of rice pollen grains and seeds by triggering expression of Carbon Starved Anther, a MYB domain protein. *Plant J*, 2015, 82: 570–581
- 62 Wang W, Liu Z, Guo Z, et al. Comparative transcriptomes profiling of photoperiod-sensitive male sterile rice Nongken 58s during the male sterility transition between short-day and long-day. *BMC Genomics*, 2011, 12: 462
- 63 Pan Y, Li Q, Wang Z, et al. Genes associated with thermosensitive genic male sterility in rice identified by comparative expression profiling. *BMC Genomics*, 2014, 15: 1–17
- 64 Bai B, Wu J, Sheng W-T, et al. Comparative analysis of anther transcriptome profiles of two different rice male sterile lines genotypes under cold stress. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 11398
- 65 Hu J, Chen X, Zhang H, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation in photoperiod- and thermo-sensitive male sterile rice Peiai 64S. *BMC Genomics*, 2015, 16: 1–14
- 66 Chen X, Hu J, Zhang H, et al. DNA methylation changes in photoperiod-thermo-sensitive male sterile rice PA64S under two different conditions. *Gene*, 2014, 537: 143–148
- 67 Zhang H, Hu J, Qian Q, et al. Small RNA profiles of the rice PTGMS line Wuxiang S reveal miRNAs involved in the fertility transition. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 514
- 68 Hu X, Tian Y, Xu Q. Review of extension and analysis on current status of hybrid rice in China (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2016, 31: 1–8 [胡忠孝, 田妍, 徐秋生. 中国杂交水稻推广历程及现状分析. 杂交水稻, 2016, 31: 1–8]
- 69 Zhang H, Chen X, Huang J, et al. Identification and transition analysis of photo-/thermo-sensitive genic male sterile genes in two-line hybrid rice in China (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 2015, 48: 1–9 [张华丽, 陈晓阳, 黄建中, 等. 中国两系杂交水稻光温敏核不育基因的鉴定与演化分析. 中国农业科学, 2015, 48: 1–9]
- 70 Li S, Xiong G, Gao Y. Discovery and exploitation of the genetic male sterility induced by short daylength in rice (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2006, 21: 10–13 [黎世龄, 熊国新, 高一枝. 水稻短光敏雄性核不育性的发现与利用. 杂交水稻, 2006, 21: 10–13]
- 71 Li Q, Zhang D, Chen M, et al. Development of *japonica* photo-sensitive genic male sterile rice lines by editing *Carbon Starved Anther* using CRISPR/Cas9. *J Genet Genomics*, 2016, 43: 415–419

Progress on photoperiod thermo-sensitive genic male sterile rice

FAN YouRong¹, CAO XiaoFeng² & ZHANG QiFa¹

¹National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, National Centre of Plant Gene Research (Wuhan), Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

²State Key Laboratory of Plant Genomics and National Center for Plant Gene Research, CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Hybrid rice has been cultivated worldwide since Yuan LongPing initially proposed the idea of developing and applying hybrid rice in rice production 50 years ago. Hybrid rice has provided a strong guarantee for the food security in China. The application of hybrid rice was firstly based on cytoplasmic male sterility using a 3-line system, including the sterile line, the maintainer line, and the restorer line. Later, the discovery of some environment-sensitive genic male sterile lines whose fertility changed in different environments, indicated their strong application potential in hybrid rice production. Shi MingSong accidentally found a natural male sterile mutant Nongken 58S in the field when planting normal *japonica* variety Nongken 58. The pollen of Nongken 58S was sterile under long-day conditions, while was fertile under short-day conditions. Based on this special property, Nongken 58S could be developed as a photoperiod-sensitive genic male sterile line for hybrid rice: it would be a sterile line at longdays, meanwhile served as a maintainer line at shortdays. Since then, the theory of 2-line system has been improving. Furthermore, the discovery of some other thermosensitive genic male sterile lines such as 5460S, Annong S-1 and Hengnong S-1 enriched this system. They were sterile under high temperatures, but converted to fertility under low temperatures. The 2-line hybrid rice based on the photoperiod thermo-sensitive genic male sterile lines has played important roles in the hybrid rice production. From 1996 to 2013, the proportion of 2-line hybrid rice increased from 0.92% to 33.59%. Some early genetic analysis indicated that the fertility of most photoperiod thermo-sensitive genic male sterile lines was controlled by a recessive allele. And the genetic linkage map of these loci has been established. But only until recent years, with the completion of rice genome and the development of new sequencing technologies and rice transgenic techniques, several genes controlling photoperiod-sensitive genic male sterility or thermo-sensitive genic male sterility in rice have been cloned. Among them, *pms3* was the first reported, the mutation of which caused Nongken 58S. *pms3* encodes a long non-coding RNA LDMAR. A SNP of LDMAR altered its RNA secondary structure, resulting in increased siRNA-directed DNA methylation in the promoter, which reduced the expression of LDMAR in Nongken 58S under long-day conditions. Another group found that the SNP was located in a siRNA (termed as *osa-smR5864m*); loss-of-function of this siRNA may fail to suppress the expression of its target genes. Shortly after, *tms5*, a thermosensitive genic male sterility gene in Annong S-1 was characterized to encode RNase Z^{S1} processing *Ubl40* mRNAs. Overaccumulation of *Ubl40* mRNAs resulting from a premature stop codon of RNase Z^{S1} gene created by a SNP in the *tms5* mutant caused the male sterility under high temperatures. Elucidation of the molecular mechanism of these genes have important implications for breeding new types of excellent and stable two-line male sterile lines in the future.

hybrid rice, two-line male sterile line, photoperiod-sensitive genic male sterility, thermo-sensitive genic male sterility

doi: 10.1360/N972016-01047