

Penyebab Kehampaan Gabah pada Persilangan Padi antar Subspesies

Effecting Factors of Unfilled Grain in Intersubspecific Hybridization

Rini Hermanasari^{1*}, Hajrial Aswidinnoor², Trikoesoemaningtyas² dan Suwarno¹

Diterima 4 Januari 2008/Disetujui 7 Mei 2008

ABSTRACT

The objective of the research was to study the factors effecting unfilled grains in intersubspecific hybridization. The research was conducted at Muara, Bogor from April 2005 to February 2006. The materials used in the research were ten F1 hybrid combinations. The evaluation was done by crossing the hybrids to Ciherang and it was reciprocal. A randomized block design with three replications were arranged in greenhouse. The results showed that five cross combinations produced higher unfilled grains and lower pollen fertility due to defective male gamets. The cross combinations that is Akitakomaci/IR64, Akitakomaci/Wayrare, Akitakomaci/Salumpikit, Akitakomaci/Ketupat, and Akitakomaci/Kewal. Another five cross combinations produced normal pollen fertility but high unfilled grains. The high unfilled grains of four cross combinations was due to defective female gamets. The cross combination that is IR64/Sirendah Pulen, IR64/Lampung Putih, IR64/Lampung Kuning, and IR64/Mesir. The other cross combination was due to defective male and female gamets namely IR64/Brentel.

Key words: Unfilled grain, F1 hybrids, male gamets, female gamets

PENDAHULUAN

Persilangan antar subspesies maupun antar varietas yang berasal dari agroekosistem berbeda sering menghasilkan F1 dengan kehampaan tinggi. Dalam program pemuliaan inbrida hal ini tidak menjadi masalah karena pada generasi lanjut akan diperoleh tanaman yang normal, namun hal ini menjadi masalah dalam pemuliaan padi hibrida. Menurut Virmani *et al.* (1997) padi hibrida merupakan generasi F1 dari persilangan antara dua tetua yang secara genetik berbeda yang dikembangkan dengan memanfaatkan terjadinya heterosis pada F1.

Pengembangan varietas hibrida perlu memperhatikan nilai heterosis yang diperoleh dari suatu hibrida. Taraf heterosis ini ditingkatkan dengan menggunakan tetua-tetua yang secara genetik mempunyai kekerabatannya lebih jauh seperti persilangan antar subspesies (*intersubspecific*) (Virmani *et al.*, 1997). Menurut Sun *et al.* (2002) persilangan *intersubspecific* seperti persilangan *indica* x *japonica* memberikan potensi hasil lebih tinggi dibandingkan dengan persilangan *intrasubspecific* karena kedua tetuanya secara genetik sangat jauh.

Usaha peningkatan hasil melalui persilangan antar subspesies menjadi sulit karena masalah kehampaan yang terjadi pada hibrida F1. Kehampaan yang terjadi

disebabkan oleh interaksi antar alel-lel pada lokus S₅ yang melibatkan tiga alel yaitu : S₅ⁱ (*indica*), S₅^j (*japonica*) dan S₅ⁿ (netral). Zygot yang terbentuk dari pasangan alel-alel tersebut memiliki fertilitas yang normal kecuali pasangan alel S₅ⁱ x S₅^j menjadi steril. Kehampaan yang terjadi pada F1 dapat diatasi dengan menggunakan gen *wide compatibility* (WC) yaitu alel S₅ⁿ yang menghasilkan hibrida yang normal pada persilangan dengan varietas *japonica* dan *indica* (Virmani, 1999).

Lokus S₅ⁿ diintroduksi ke dalam kultivar *japonica* atau *indica* untuk mengatasi masalah sterilitas pada F1 *indica-japonica*. Banyak hibrida *indica-japonica* yang tidak stabil dalam hal fertilitas serbuk sari. Beberapa hibrida F1 memperlihatkan fertilitas serbuk sari normal, namun persentase gabah isi rendah yang disebabkan oleh kegagalan pada gamet betina. Di samping itu ditemukan juga adanya F1 yang menunjukkan fertilitas serbuk sari rendah dan persentase gabah isi rendah yang disebabkan oleh aborsi gamet jantan (Hairmansis, 2005).

Penyebab kehampaan gabah pada F1 dengan sterilitas serbuk sari tinggi, bukan disebabkan kerusakan gamet jantan saja, melainkan disebabkan juga oleh kerusakan pada gamet betina. Hal ini dapat terjadi karena kemampuan untuk membentuk biji yang bernas hanya dibutuhkan satu butir serbuk sari. Apabila tidak

¹ Balai Besar Penelitian Padi, Kebun Percobaan Muara, Jl. Muara Ciapus No. 25 A Muara, Bogor 16610
Telp/Fax: (0251) 322064 (* Penulis untuk korespondensi)

² Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB, Bogor 16680
Telp/Fax (0251) 8629353

ada masalah dengan gamet betina, maka biji yang bernas dapat dihasilkan lebih banyak. Dengan demikian penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai penyebab kegagalan pembentukan benih pada persilangan intersubspesifik dengan menggunakan kombinasi-kombinasi persilangan yang sudah diketahui menghasilkan kehampaan gabah tinggi.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilakukan di Rumah kaca dan Kebun percobaan Muara, Bogor pada bulan April 2005 sampai dengan Februari 2006. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebelas varietas meliputi

satu genotipe termasuk kelompok *japonica* yaitu Akitakomaci, dua genotipe termasuk kelompok *indica* yaitu IR64 dan Wayrare, serta delapan genotipe termasuk kelompok *tropical japonica* yaitu Ketupat, Salumpikit, Kewal, Brentel, Lampung Kuning, Lampung Putih, Mesir dan Sirendah Pulen. Pemilihan bahan tetua yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan kepada informasi dari hasil penelitian Hairmansis (2005) dimana terdapat kombinasi-kombinasi F1 yang memiliki kehampaan gabah tinggi serta fertilitas serbuk sari tinggi. Kombinasi hibrida lainnya memiliki kehampaan gabah tinggi dan fertilitas serbuk sari rendah. Kombinasi persilangan yang digunakan pada percobaan ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Daftar persilangan untuk mempelajari mekanisme kehampaan

No	Kombinasi persilangan (F1)	Keterangan
1	Akitakomaci / Ketupat	Kehampaan gabah tinggi Fertilitas serbuk sari rendah
2	Akitakomaci / Salumpikit	
3	Akitakomaci / Way rarem	
4	Akitakomaci / IR64	
5	Akitakomaci / Kewal	
6	IR64 / Brentel	Kehampaan gabah tinggi Fertilitas serbuk sari tinggi
7	IR64 / Lampung Kuning	
8	IR64 / Lampung Putih	
9	IR64 / Mesir	
10	IR64 / Sirendah Pulen	

Penelitian ini dilaksanakan selama dua musim. Kegiatan yang dilakukan pada musim pertama adalah membuat persilangan untuk mendapatkan benih F1 (Tabel 1). Benih F1 hasil persilangan dan tetua ditanam di sawah pada musim berikutnya untuk dievaluasi kehampaannya. Setiap genotipe ditanam dalam satu baris sebanyak 10 tanaman dengan jarak tanam di dalam dan antar barisan 25 cm.

Pengamatan utama yang dilakukan pada penelitian ini meliputi identifikasi serbuk sari atau tepung sari secara mikroskopis, identifikasi sterilitas gamet jantan dan gamet betina, menghitung jumlah gabah total per malai dan gabah isi per malai serta persentase gabah isi pada tanaman F1 yang tidak diserbuki dengan genotipe Ciherang sebagai perlakuan kontrol atau pembanding. Selain pengamatan utama terdapat pengamatan penunjang yang meliputi : umur berbunga 50%, tinggi tanaman dan jumlah anakan per rumpun.

Identifikasi serbuk sari atau tepung sari yang fertil dan steril dilakukan secara mikroskopis. Serbuk sari diambil paling sedikit dari 10 bunga dalam satu individu tanaman pada stadia *heading* lalu serbuk sari dimasukkan ke dalam botol vial yang sudah diisi alkohol 70%. Dua sampai tiga kepala sari (*anther*) diambil setiap bunga lalu ditempatkan pada kaca obyek kemudian serbuk sari ditekan hingga keluar, dengan menggunakan jarum dalam larutan I₂KI. Serbuk sari dinyatakan fertil apabila setelah diberi larutan I₂KI 1%

berubah menjadi warna biru, sedangkan serbuk sari dinyatakan steril apabila tidak memberikan reaksi pewarnaan. Persentase serbuk sari steril merupakan rasio dari jumlah serbuk sari steril terhadap jumlah total serbuk sari pada tiga daerah pengamatan mikroskop. Virmani (1997) mengklasifikasikan kemandulan serbuk sari secara mikroskopis seperti disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi kemandulan serbuk sari menurut virmani (1997)

Mandul jantan (%)	Kategori
100	Steril tinggi
91-99	Steril
71-90	Semi steril
31-70	Semi fertil
21-30	Fertil
0-20	Fertil tinggi

Pengamatan sterilitas gamet betina maupun gamet jantan dilakukan dengan cara melihat perkembangan tanaman F1. Identifikasi sterilitas gamet betina dilakukan dengan cara mengamati perkembangan pembentukan biji setelah 10 kombinasi persilangan F1 diserbuki dengan serbuk sari normal (genotipe Ciherang). Apabila dari hasil evaluasi tersebut diperoleh kehampaan gabah tinggi, maka kerusakan memang terjadi pada gamet betina.

Pengujian sterilitas gamet jantan dilakukan dengan cara membuat persilangan resiprokal yaitu genotipe Ciherang sebagai tetua betina dengan 10 kombinasi persilangan F1 sebagai tetua jantan. Apabila dari hasil evaluasi tersebut diperoleh kehampaan gabah tinggi, maka kerusakan memang terjadi pada gamet jantan.

Pengujian sterilitas gamet betina maupun gamet jantan dilakukan pada saat tanaman berbunga. Pengujian tersebut dilakukan dengan cara mengambil sebanyak tiga tanaman yang terpilih sebagai tetua betina dan sesuai dengan program persilangan, dipindahkan masing-masing ke dalam ember, lalu diambil dua malai untuk disilangkan. Ember-ember tersebut diletakan di rumah kaca disusun dengan rancangan acak lengkap. Panen biji F1 dilakukan pada hari ke-21 atau 25. Kemudian dihitung jumlah biji yang terbentuk.

Analisis data untuk mengevaluasi pasangan kombinasi persilangan yang diberi perlakuan terhadap pembandingnya, yaitu menggunakan uji beda nilai tengah dua populasi. Sebagai pembanding adalah kombinasi persilangan tersebut yang tidak diberi perlakuan.

Uji Beda Nilai Tengah Dua Populasi

$$t_{hitung} = \frac{\bar{d} - \mu_{do}}{\frac{S_d}{\sqrt{n}}}$$

• dimana:

\bar{d} = nilai tengah dari beda dua populasi

μ_{do} = populasi satu dikurangi populasi dua ($\mu_1 - \mu_2$)

S_d = galat baku

n = banyaknya populasi

• α = nilai t-tabel dengan derajat bebas galat, α = taraf nyata 5%

Statistik uji : jika $t_{hitung} > \alpha$, maka populasi satu berbeda nyata dengan populasi dua.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi serbuk sari yang fertil dan steril dilakukan secara mikroskopis dengan cara mengamati perubahan warna yang terjadi pada serbuk sari setelah diwarnai dengan larutan I₂KI. Serbuk sari yang fertil akan terwarnai, sedangkan serbuk sari yang steril tidak terwarnai atau terwarnai sebagian.

Hasil identifikasi sterilitas serbuk sari secara mikroskopis menunjukkan bahwa hasil pengujian beberapa hibrida F1 memperlihatkan fertilitas serbuk sari yang normal (>70%) akan tetapi menghasilkan persentase gabah isi yang rendah. Hibrida tersebut adalah : IR64/Brentel, IR64/Lampung kuning, IR64/Lampung putih, IR64/Mesir, IR64/Sirendah Pulen (Tabel 3). Keadaan ini sesuai dengan hasil pengujian viabilitas serbuk sari yang dilakukan Hairmansis (2005). Hairmansis (2005) menduga bahwa kehampaan yang

terjadi pada persilangan antara dua tetua yang secara genetik berbeda bukan disebabkan oleh aborsi gamet jantan akan tetapi kemungkinan akibat kegagalan pada gamet betina. Model interaksi alelik yang diungkapkan Ikehasi dan Araki (1986) menunjukkan bahwa mekanisme genetik sterilitas hibrida *indica japonica* tergolong tipe egg-killer yang menyebabkan terjadinya aborsi megaspora. Bentuk heterozigot yang dibawa alel S¹₅S²₅, S¹₅ dari tipe *indica* dapat menginduksi aborsi megaspora yang dibawa alel S¹₅ sehingga alel S¹₅ berperilaku sebagai eggkiller terhadap alel S²₅.

Hal yang berbeda terjadi pada 5 kombinasi persilangan yaitu hibrida Akitakomaci/Ketupat, Akitakomaci/Salumpikit Akitakomaci/Kewal Akitakomaci/IR64, dan Akitakomaci/Wayrarem, menunjukkan persentase serbuk sari fertil dan persentase gabah isi yang rendah (Tabel 3). Keadaan ini sesuai dengan percobaan viabilitas serbuk sari yang dilakukan oleh Hairmansis (2005), yaitu semi sterilitas yang terjadi pada hibrida-hibrida tersebut diduga disebabkan oleh aborsi gamet jantan.

Hasil pengujian sterilitas gamet jantan dan gamet betina pada kombinasi persilangan yang menghasilkan kehampaan gabah tinggi dan serbuk sari fertil rendah menunjukkan bahwa kehampaan gabah yang terjadi disebabkan karena gamet jantannya rusak. Kombinasi persilangan yang menunjukkan keadaan tersebut adalah Akitakomaci/Salumpikit, Akitakomaci/IR64 dan Akitakomaci/Kewal. Ketiga kombinasi persilangan tersebut setelah berperan sebagai tetua jantan terjadi penurunan rata-rata persentase gabah isi yang nyata lebih rendah dengan pembandingnya. Kombinasi persilangan lainnya seperti Akitakomaci/ Wayrarem dan Akitakomaci/Ketupat setelah diuji sterilitas gamet jantan maupun gamet betina menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata dengan pembandingnya. Akan tetapi kedua kombinasi persilangan tersebut memiliki rata-rata persentase serbuk sari fertil rendah sehingga kehampaan yang terjadi pada kedua hibrida tersebut diinterpretasikan karena gamet jantannya rusak (Tabel 3).

Evaluasi sterilitas gamet jantan dan gamet betina terhadap hibrida-hibrida yang menghasilkan kehampaan gabah tinggi dan serbuk sari fertil tinggi menunjukkan bahwa kehampaan yang terjadi diasumsikan sebagai akibat kerusakan gamet betina. Kombinasi persilangan yang menunjukkan terjadinya kehampaan akibat kerusakan gamet betina adalah IR64/Lampung Putih, IR64/Lampung Kuning, IR64/Mesir, dan IR64/Sirendah Pulen. Hasil evaluasi tersebut menunjukkan bahwa rata-rata persentase gabah isi pada hibrida F1 yang diserbuki genotipe Ciherang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrolnya. Demikian pula peningkatan maupun penurunan rata-rata persentase gabah isi pada hibrida F1 yang berperan sebagai tetua jantan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan pembandingnya. Namun keempat kombinasi persilangan tersebut diketahui memiliki rata-rata persentase serbuk sari fertil yang tinggi (Tabel 3).

Tabel 3. Rata-rata persentase serbuk sari fertil (SSF) dan persentase gabah isi (PGI) pada 10 kombinasi persilangan intersubspesifik.

No	Kombinasi persilangan	SSF (%)	PGI (%)	Interpretasi
1	F Akitakomaci/Wayrarem	20	9	Gamet jantan rusak
	e Akitakomaci/Wayrarem//Ciherang		54 ^{tn}	
	r Ciherang//Akitakomaci/Wayrarem		10 ^{tn}	
2	t Akitakomaci/Salumpikit	40	31	Gamet betina rusak
	i Akitakomaci/Salumpikit//Ciherang		27 ^{tn}	
	l Ciherang//Akitakomaci/Salumpikit		4*	
3	i Akitakomaci/Ketupat	53	27	Gamet betina rusak
	t Akitakomaci/Ketupat//Ciherang		11 ^{tn}	
	a Ciherang//Akitakomaci/Ketupat		4 ^{tn}	
4	s Akitakomaci/IR64	57	24	Gamet jantan rusak
	p Akitakomaci/IR64//Ciherang		27 ^{tn}	
	o Ciherang//Akitakomaci/IR64		6*	
5	l Akitakomaci/Kewal	68	45	Gamet jantan rusak
	l Akitakomaci/Kewal//Ciherang		53 ^{tn}	
	l Ciherang//Akitakomaci/Kewal		17*	
6	IR64/Mesir	75	37	Gamet betina rusak
	F IR64/Mesir//Ciherang		46 ^{tn}	
	e Ciherang//IR64/Mesir		14 ^{tn}	
7	r IR64/Lampung kuning	78	28	Gamet betina rusak
	t IR64/Lampung kuning//Ciherang		39 ^{tn}	
	i Ciherang//IR64/Lampung kuning		33 ^{tn}	
8	l IR64/Sirendah Pulen	78	32	Gamet betina rusak
	i IR64/Sirendah Pulen//Ciherang		20 ^{tn}	
	t Ciherang//IR64/Sirendah Pulen		34 ^{tn}	
9	a IR64/Lampung putih	90	50	Gamet betina rusak
	s IR64/Lampung putih//Ciherang		26 ^{tn}	
	l Ciherang//IR64/Lampung putih		32 ^{tn}	
10	p IR64/Brentel	92	54	Gamet betina rusak
	o IR64/Brentel//Ciherang		22*	
	l Ciherang//IR64/Brentel		24*	

Keterangan : *,** =nyata pada $\alpha=0.05$ dan 0.01 , tn =tidak nyata

Penyebab kehampaan gabah pada kombinasi persilangan IR64/Brentel selain gamet betina rusak, juga gamet jantannya rusak. Keadaan ini ditunjukkan dari rata-rata persentase gabah isi setelah diserbuki genotipe Ciherang atau resiprokalnya ternyata terdapat perbedaan yang nyata dengan pembandingnya (Tabel 3).

Hasil evaluasi F1 tersebut menunjukkan bahwa persilangan antar dua tetua yang secara genetik berbeda seperti persilangan antara *Japonica* dengan *Indica* dapat meningkatkan heterosis, namun semakin jauh jarak genetik antara kedua tetua akan semakin tinggi kehampaan gabahnya. Kehampaan yang terjadi pada hibrida *indica/japonica* tidak hanya disebabkan oleh fertilitas gamet betina akan tetapi juga akibat aborsi gamet jantan (Zichao *et al.*, 1996). Aksi gen *wide compatible* (WC) yaitu gen yang mengendalikan sifat *wide compatibility* pada persilangan diantara tetua yang mempunyai kekerabatan jauh menyebabkan terjadinya dua tipe aborsi, yaitu aborsi gamet betina (*female-gamet abortion*) dan aborsi gamet jantan (*male-gamet abortion*) (Zhuang *et al.*, 2002).

Sifat-sifat yang diamati untuk pengamatan penunjang adalah karakter agronomi meliputi umur berbunga 50%, tinggi tanaman dan jumlah anakan produktif per rumpun. Umur berbunga dari F1 yang diamati terlihat beragam, yang paling genjah adalah berumur 64 hari pada hibrida Akitakomaci/Salumpikit, sedangkan yang paling dalam adalah F1 IR64/Lampung kuning yang berbunga pada umur 97 hari (Tabel 4). Semua hibrida F1 yang berasal dari turunan genotipe Akitakomaci (tipe *japonica*) memiliki waktu berbunga yang lebih cepat dibanding persilangan lainnya, hal ini diduga akibat pengaruh *photoperiod sensitivite* karena genotipe ini berasal dari daerah temperate yang panjang harinya berbeda dengan tropis. Menurut Banga (1998) umur berbunga hibrida yang lebih awal merupakan akibat laju pertumbuhan awal yang cepat terutama pada tanaman-tanaman yang *photosensitive* atau *photo-insensitive* dimana pembungaan dimulai setelah berakhirnya fase kritis vegetatif.

Tabel 4. Rata-rata umur berbunga 50 %, tinggi tanaman dan jumlah anakan produktif 10 hibrida F1

No	Kombinasi persilangan	Umur berbunga (hari)	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah anakan produktif (anakan/rumpun)
1	Akitakomaci/Ketupat	72	87.67	12.33
2	Akitakomaci/Salumpikit	64	92.00	17.67
3	Akitakomaci/IR64	70	71.00	16.33
4	Akitakomaci/Wayrarem	70	83.67	18.67
5	Akitakomaci/Kewal	77	115.67	20.00
6	IR64/Brentel	81	103.00	11.67
7	IR64/Lampung kuning	97	118.67	10.67
8	IR64/Lampung putih	90	114.33	10.67
9	IR64/Mesir	82	88.67	12.00
10	IR64/Sirendah Pulen	82	121.67	11.33

Genotipe F1 menunjukkan tinggi tanaman yang beragam, yang terendah 83.67 cm yaitu pada hibrida Akitakomaci/Wayrarem, sedangkan yang tertinggi yaitu 121.67 cm pada F1 IR64/Lampung kuning. 10 kombinasi persilangan F1 yang diuji rata-rata tinggi tanaman untuk hibrida asal keturunan Akitakomaci lebih pendek dibandingkan kombinasi persilangan asal keturunan IR64. Di antara turunan genotipe Akitakomaci yang rata-rata tinggi tanamannya paling tinggi adalah hibrida Akitakomaci/Kewal mencapai 115.67 cm, sedangkan diantara turunan genotipe IR64 yang memiliki rata-rata tinggi tanaman paling pendek adalah kombinasi persilangan IR64/Mesir mencapai 88.67 cm. Jumlah anakan hibrida F1 berkisar antara 10 sampai dengan 20 anakan. Anakan paling banyak terdapat pada hibrida Akitakomaci/Kewal, sedangkan yang terendah adalah pada hibrida IR64/Lampung kuning dan IR64/Lampung putih.

KESIMPULAN

1. Kehampaan gabah yang terjadi pada lima kombinasi persilangan F1 yang menghasilkan kehampaan gabah tinggi dan serbuk sari fertil rendah disebabkan karena gamet jantannya rusak. Kombinasi persilangan tersebut yaitu Akitakomaci/IR64, Akitakomaci/Wayrarem, Akitakomaci/Salumpikit, Akitakomaci/Ketupat, dan Akitakomaci/Kewal.
2. Kehampaan gabah yang terjadi pada lima kombinasi persilangan F1 lainnya yang memiliki fertilitas serbuk sari normal dan kehampaan gabah tinggi, empat diantaranya disebabkan oleh kerusakan pada gamet betina yaitu IR64/Sirendah Pulen, IR64/Lampung Putih, IR64/Lampung Kuning, dan IR64/Mesir. Sisanya kedua gametnya rusak yaitu IR64/Brentel.

DAFTAR PUSTAKA

- Banga, S.S. 1998. Heterosis: An introduction. *In*: Banga, S.S., S.K. Banga, editor. Hybrid Cultivar Development. New Delhi: Narosa Publishing House. p. 1-16.
- Hairmansis, A. 2005. Identifikasi dan pengujian efektifitas genotipe padi yang membawa gen wide compatibility pada persilangan antar varietas dan antar subspecies. (Tesis). Sekolah Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Ikehashi, H., H. Araki. 1986. Genetics of F1 sterility in remote crosses of rice, p. 119-130. *In* : IRRI (eds). Rice Genetics. Manila. IRRI.
- Virmani, S.S., B.C. Viraktamath, C.L. Casal, R.S. Toledo, M.T. Lopez, J.O. Manalo. 1997. Hybrid Rice Breeding Manual. IRRI. Manila.
- Virmani, S.S. 1999. Exploitation of heterosis for shifting the yield frontier in rice. *In*: Coors, J.G., S. Pandey (Eds.). Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. Mexico City. 17-22 August 1997. American Society of Agronomi and Crop Science Society of America. Wisconsin. p. 423-438.
- Sun, C.Q., T.B. Jiang, Y.C. Fu, X.K. Wang. 2002. Indica-Japonica differentiation of paddy rice and its relationship with heterosis. *Plant Breeding*. 121: 330-337.
- Zichao, L., L. Dihui, Z. Shixu, W. Xianokun. 1996. Haematoxylin staining for determining pollen fertility of Indica-Japonica F1 hybrids and study on its gamete fertility. *Rice Gen. Newslett.* 13: 125-126.
- Zhuang, C.X., Yan Fu, G.Q. Zhang, M.T. Mei, Y.G. Lu. 2002. Molecular mapping of S-c, an F1 pollen sterility gene in cultivated rice. *Euphytica*. 127: 133-138.

