植物学通报 *Chinese Bulletin of Botany* 2007, **24** (3): 399–413, www.chinbullbotany.com

·综述·

植物细胞质雄性不育及其育性恢复的分子基础

吴豪[1], 徐虹[1, 2], 刘振兰[1,3], 刘耀光[1*]

[1] 华南农业大学生命科学学院, 广东省教育厅植物功能基因组与生物技术重点实验室, 广州 510642

[2] 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨凌 712100

[3] 加拿大不列颠哥伦比亚大学植物系食品与土地资源部, 温哥华 V6T 1Z4

摘要 植物细胞质雄性不育是广泛存在于高等植物中的现象, 其表现为母性遗传、花粉败育, 但雌蕊正常。细胞质雄性不育在杂交种子生产中起着重要作用, 研究其分子作用机制有利于更有效地利用细胞质雄性不育。随着一些不育基因和恢复基因相继被克隆, 人们对一些细胞质雄性不育和恢复系统的分子作用机理已经有一定了解。本文综述了近年来对植物细胞质雄性不育基因和恢复基因作用机理研究的进展。

关键词 细胞质雄性不育, 线粒体基因, 恢复基因

吴豪, 徐虹, 刘振兰, 刘耀光 (2007). 植物细胞质雄性不育及其育性恢复的分子基础. 植物学通报 **24**, 399–413.

细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)是广泛存在于高等植物的现象, 表现为雄性器官不能形成有活力的花粉, 而雌性器官的发育和植株的营养生长正常, 其遗传方式是母性遗传。Jones和Clarke(1943)首先在洋葱中发现了CMS现象, 并将其应用于杂交制种。恢复系含有显性恢复基因(fertility restorer, *Rf*), 与不育系杂交F_1的育性被恢复。雄性不育植株的表型多种多样, 如雄蕊缺失、花药瘦小、花药不开裂、花粉败育或是成熟花粉不能萌发等。人们根据不育细胞质的来源、花粉发生败育的时期、不育系的恢保关系等多个方面对CMS系进行分类。

CMS不仅在植物杂种优势利用方面具有重要的作用, 而且也是遗传学研究的好材料, 涉及遗传学的多个方面, 如细胞质遗传、核质互作、细胞质对植物小孢子发育的影响、环境因素对线粒体基因表达的调控、以及物种进化。CMS对了解植物生命活动的遗传机制等方面都具有重要意义。因此, 对植物CMS的研究也一直受到遗传学、育种学、生理生化、细胞生物学、分子生物学等各个领域的广泛关注(Schnable and Wise, 1998)。

到目前为止, 已在近200种植物中证实存在细胞质雄性不育, 其中大部分是粮食或园艺植物, 如洋葱、菜豆、甜菜、萝卜、辣椒、胡萝卜、大白菜、向日葵、矮牵牛、烟草、棉花、水稻、高粱、油菜、玉米和小麦等。经过多年的研究, 人们已经对萝卜、油菜、高粱、玉米和水稻等多种植物的CMS现象有了较深入的了解。

研究者们普遍认为, 导致植物CMS的主要因素与细胞质中的遗传系统, 即线粒体或叶绿体基因组有关。Levings和Pring(1976)根据对玉米T型CMS系统的研究结果, 提出线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)就是CMS因子的载体。之后, 大量的遗传学、细胞学和生物化学的研究结果证明mtDNA的变异与CMS有关, 线粒体基因组的变异或特异的线粒体基因表达会导致雄性不育(Hanson, 1991; Schnable and Wise,1998; Budar and Pelletier, 2001; Budar et al., 2003)。

相对于线粒体而言, 叶绿体基因组较为保守、也较小(120-210 kb), 人们对它的认识也更深入。Frankel等 (1979)、李继耕(1983, 1992)、Komarnitskii等(1985)、Chen等(1990, 1995)的研究表明, 多种作物不

收稿日期: 2006-12-18; **接受日期**: 2007-01-16
基金项目: 国家自然科学基金(No. 30571052)
* **通讯作者**。E-mail: ygliu@scau.edu.cn

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

育系的叶绿体蛋白质、叶绿体超微结构、叶绿体基因组结构与其相应的保持系之间存在一些差异。刘一农和李继耕(1983)在玉米、小麦和油菜中都发现了不育系与保持系叶绿体DNA间的差异。范昌发等(2002)和孙春昀等(2002)发现高粱CMS系叶绿体中的*ndhD*基因与保持系的序列不同。但是, 目前尚没有植物的叶绿体基因组变异产生了细胞质雄性不育的确切证据。

1 高等植物线粒体基因组特点

线粒体是真核生物细胞内一种重要而独特的细胞器, 它有自身的基因组, 也有独立的转录、翻译体系, 使用的遗传密码偏好性与核基因稍有不同。与动物、真菌及一些低等植物的线粒体基因组相比, 高等植物线粒体基因组庞大, 而且不同物种间线粒体基因组大小相差悬殊, 从200 kb到2 500 kb不等(Ward et al., 1981)。这种差异主要是由于高度重组和外源DNA整合引起的基因组结构变化造成的(Mackenzie and Mclntosh, 1999)。这种易变性是由于植物线粒体基因组中有一个非常活跃的重组系统(Schardl et al., 1984)。

植物线粒体基因组构型复杂多变, 主要有开环、闭环、超螺旋、线状和多聚体等形式。环状结构有主环和次环之分。次环分子的种类和数目可变, 还有一个或多个呈线状或环状的类质粒(plasmid-like DNA)。线形类质粒DNA比环状类质粒DNA大(Oldenburg and Bendich, 1998)。多数类质粒DNA与线粒体主基因组序列无同源性, 而与核基因组有同源性, 且类质粒DNA可在细胞核与细胞质之间转移。

植物线粒体基因的表达与核基因不同。线粒体RNA(mtRNA)具有较长的5'和3'非编码区, 而且没有5'端帽子结构, 大部分基因的3'端没有polyA结构。许多线粒体基因存在多个启动子序列, 启动多个转录起始(Yan and Pring, 1997; Zhang and Liu, 2006)。同一转录物中许多是多顺反子, 转录后存在RNA剪切和剪接, 增加了转录本大小的变化(Gray, 1992)。植物线粒体基因表达的一个特点是转录物存在广泛的RNA编辑, 大部分编码蛋白质的线粒体基因被编辑。mtRNA编辑的程度受核基因型、组织类型、发育时期核生长条件的显著影响(Grosskopt and Mulligan, 1996)。编辑和未编辑的mtRNA似乎都能翻译, 但未编辑的RNA翻译的蛋白质常常没有功能(Phreaner et al., 1996)。

2 CMS相关基因和恢复基因

20世纪80年代以来, 随着分子生物学的发展及细胞器DNA分离技术的完善, 人们对CMS的研究已经取得了突破, 对植物细胞质雄性不育以及育性恢复的分子机理研究也逐渐深入。现已发现CMS与线粒体基因组的结构变化和新的嵌合基因的产生有关(Hanson and Bentolia, 2004)。

线粒体基因组的重排, 是在线粒体进化过程中频繁发生的事件(Sugiyama et al., 2005; Ogihara et al., 2005)。很多CMS现象都涉及基因重组及其产生的新的开放阅读框(open reading frame, ORF), 使mtDNA的转录和翻译产物发生变化(Schnable and Wise,1998; Hanson and Bentolia, 2004)。Arrieta-Montiel等(2001)认为CMS基因的产生要经过多次mtDNA重组和重排事件。

不同植物线粒体中与不育相关的mtDNA区域有一些共有的特征: (1)都有一段嵌合的阅读框序列, 由线粒体基因组保守基因的部分序列、线粒体基因组非编码序列和来源未知的序列通过非同源重组(illegitimate recombination)产生; (2)几乎每一个与CMS相关的ORF都是物种或细胞质特异的; (3)嵌合基因通常与一至多个线粒体基因共同转录。现在已经鉴定了10多个与植物CMS相关的由线粒体重排产生的嵌合基因(Hanson and Bentolia, 2004)。这些基因大部分都编码膜结合蛋白, 如玉米的*T-urf13*(Levings and Siedow, 1992)、萝卜的*orf138*(Grelon et al., 1994)、小麦*orf256*(Song et al.,1994)、菜豆的*orf239*(Abad et al., 1995)和水稻的*orf79*(Wang et al., 2006)。

已在许多CMS类型中发现有相应的核恢复基因。第一个被克隆的恢复基因是T型不育玉米的*Rf2*(Cui et al., 1996)。近几年, 几个编码PPR (pentatricopeptide

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

repeat) 蛋白的恢复基因也从矮牵牛、萝卜和水稻中克隆(Bentolila et al., 2002; Koizuka et al., 2003; Brown et al., 2003; Komori et al., 2004, Wang et al., 2006), 为从分子水平阐明CMS恢复性的分子机理打开了新的一页(Wise and Pring, 2002)。

2.1 玉米CMS相关基因及其恢复基因

玉米细胞质雄性不育有T型(Texas)、S型(USDA)和C型(Charrua)三大类, 其中T型细胞质(CMS-T)曾在生产上广泛利用, 对其分子机制研究得最深入。

Dewey等(1986)利用不育和可育细胞质的mtRNA分别同不育系mtDNA文库差减杂交, 发现了1个CMS-T系特有的片段。该片段包含2个ORF: *T-urf13*和*orf*25。*orf*25是一个正常的线粒体基因, 而*T-urf13*则编码一个不育系特有的13 kDa多肽(Wise et al.,1987a; Dewey et al.,1987; Korth et al., 1991)。

CMS-T属于孢子体不育, 其育性恢复需要2个互补的显性核基因*Rf1*和*Rf2*。*Rf1*可以促进*T-urf13*转录本加工, 产生并积累1.6 kb和0.6 kb的转录本, 抑制*T-urf13*表达; 用转座子插入使*Rf1*突变为*rf1*, *T-urf13*不能产生1.6 kb和0.6 kb的转录本(Wise et al.,1996)。另外2个恢复基因*Rf*8和*Rf**可替代*Rf1*的功能, 但产生的*T-urf13*转录本比*Rf1*参与的加工后*T-urf13*转录本更小。*Rf1*基因可使*T-urf13*编码的蛋白质URF13丰度降低80%。而*Rf8*的效应较小, 它降低URF13丰度的效应取决于器官, 也只能使育性部分恢复(Dill et al., 1997)。

*Rf2*已被克隆(Cui et al., 1996), 它编码的蛋白序列与哺乳动物乙醛脱氢酶(ALDH)基因有很高的同源性, 具有线粒体靶向信号, 基因编码产物积累于小孢子发生的绒毡层中。

玉米CMS-S不育性与线粒体基因组中一段被称为R区的重复序列(Zabala et al., 1997)有关。玉米CMS-C不育系*atp6*、*atp9*和*coxII*基因区域和正常可育的结构有差异, 推测可能与玉米CMS-C不育性有关(Dewey et al., 1991)。CMS-S与CMS-C的育性分别由*Rf3*和*Rf4*恢复, 分别定位于2号和8号染色体上(王泽立等, 2001)。

2.2 水稻CMS相关基因及其恢复基因

根据细胞质来源的不同, 水稻细胞质雄性不育系被分为野败型(CMS-WA)、包台型(CMS-BT)、红莲型(CMS-HL)等。CMS-WA属于孢子体不育类型, CMS-BT和CMS-HL属于配子体不育类型(Shinjyo, 1969; 朱英国, 2000; 袁隆平, 2002)。另外, 育种专家还以不同栽培稻或野生稻材料为细胞质供体育成了多种不育系, 称为矮败型(DA)、冈型(G)、D型、K型、马协型、印尼水田谷型和滇一型等。杂交稻生产上利用最广泛的是野败型系统。

CMS-BT来源于印度籼稻Chinsurah Boro II (Shinjyo, 1969), 其育性恢复受第10染色体的单座位*Rf-1*控制(Shinjyo, 1975)。Iwabuchi等(1993)发现在不育系中*atp6*基因存在2个拷贝, 分别命名为*N-atp6*和*B-atp6*; 在引入恢复基因后, *B-atp6*基因的转录本则被剪切, 未加工*B-atp6* mRNA的编辑率低于被加工的RNA转录本, 因此认为这种编辑率差异与细胞质雄性不育及其恢复相关。Akagi等(1994, 1995)发现, 在CMS-BT的重复*atp6*拷贝(即*B-atp6*)区域产生一些反义的转录本, 推测可能与CMS有关; 他们在*B-atp6*下游发现1个共转录的阅读框*orf79*, 其5' 端和*cox1*序列高度同源, 但未能证实*orf79*与CMS有关。Komori等(2004)克隆了CMS-BT系的1个恢复基因*Rf-1*, 编码一个791个氨基酸的线粒体靶向PPR蛋白。Wang等(2006)证实*orf79*编码一个细胞毒素蛋白, 并通过遗传转化确定了*orf79*是CMS基因, 还克隆了该CMS系统的2个紧密连锁(相距约105 kb)的恢复基因*Rf1a*和*Rf1b*。*Rf1a*和*Rf1b*是第10染色体上的一个编码PPR蛋白的多基因簇的成员, 其中*Rf1a*即是Komori等(2004)克隆的*Rf-1*, 因此*Rf-1*基因座实际包含2个相关基因。*Rf1a*和*Rf1b*均编码线粒体定位蛋白, 具有独立的育性恢复功能; 隐性(无恢复功能)的*rf1a*是由于发生碱基缺失引起的移码, *rf1b*是由于1个氨基酸的突变导致功能丧失(Wang et al., 2006)。

CMS-HL来源于海南红芒野生稻, 其育性恢复受第

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

10染色体上2个紧密相邻的恢复基因*Rf5*和*Rf6(t)*的控制(Liu et al., 2004)。CMS-HL 线粒体基因组含有与CMS-BT的*orf79*几乎相同序列(编码区只有5个碱基的差异), 称为 *orfH79*(易平等, 2002)。*orfH79* 表达产物也是毒蛋白, 将其转化水稻能产生雄性不育(刘耀光等, 未发表结果)。因此, 包台型和红莲型属于共同起源但有分化的CMS系统。另外, 滇一型不育系含有与CMS-BT 完全相同的 *orf79* 序列(刘耀光等, 未发表资料)。

CMS-WA是从普通野生稻(*Oryza rufipogon*)发现的不育株为细胞质供体转育而成。综合许多研究报道, 可以认为CMS-WA的育性恢复主要受2对主效显性基因 *Rf3* 和 *Rf4* 控制。*Rf3* 位于第 1 染色体上(Zhang et al., 1994, 1997; Yao et al., 1997), *Rf4* 位于第 10 染色体上(Yao et al., 1997; Tan et al., 1998; 张群宇等, 2002)。最近, CMS-WA 基因已被克隆, 并发现矮败型、冈型、D 型、K 型、马协型及印尼水田谷型等多种孢子体不育系都含有与 CMS-WA 相同的不育基因。表明育成这些不育系(包括典型的野败)所用的不同栽培稻或野生稻材料含有共同起源的不育基因, 因此可以推测它们相应的恢复基因也是共同的(刘耀光等, 未发表资料)。

因此, 从起源进化的角度看, 上述的水稻CMS系统实际上归为2大类: 与*orf79*相同或其变异体控制的配子体不育类型和与野败不育基因相同或其变异体控制的孢子体不育类型。另外, Fujii and Toriyama(2005)报道了1种不同于上述类型的水稻CMS-CW系统, 其不育性表现为花粉外形正常但花粉管不能萌发, 其育性恢复受第 4 染色体上的单座位恢复基因 *Rfcw* 控制。

2.3 矮牵牛CMS相关基因及其恢复基因

矮牵牛只发现有一种 CMS 类型。Boeshore 等(1983)发现在CMS亲本及其体细胞杂种中存在一特异mtDNA区段, 推断这一区段与 CMS 有关, 命名为 *S-Pcf* (Boeshore et al., 1983, 1985; Clark et al., 1988)。*S-Pcf* 由 *pcf* (*Petunia* CMS-associated fused)基因、*nad3* 和 *rps12* 三个阅读框组成。*pcf* 基因 5' 端的 35 个密码子与 *atp9* 相同, 中间是来自 *coxII* 的 2 个外显子的 158 个密码子, 3' 端的 205 个密码子来源不明, 称 *urfs*。在CMS系线粒体基因组中, 缺失了可育系线粒体基因组中与 *nad3*、*rps12* 共转录的上游基因 *orf143/orf161*。*Pcf*位点和*orf143/nad3/rps12*位点转录十分复杂, 有多个转录起始和终止位点。

矮牵牛CMS恢复基因*Rf-PPR592*已被克隆, 它编码一个 592 氨基酸的 PPR 蛋白(Bentolila et al., 2002)。

2.4 萝卜和油菜CMS相关基因及其恢复基因

CMS-ogura和CMS-kos均是在萝卜中发现的CMS类型(Yamagishi and Terachi,1996)。CMS-ogura的线粒体基因组中有1个2.5 kb片段(NOC 2.5)与不育的特异性有关(Grelon et al., 1994)。此片段包含了2个ORF: *orf138* 和 *orf158*。*orf138* 编码一个 19 kDa 的多肽, 包括有一个 N 端的疏水区和一个 C-端的亲水区。恢复基因对*orf138*的转录水平没有影响, 但能降低ORF138蛋白的水平(Subbiah and Christopher, 1994)。Nakajima 等(2001)在萝卜中发现了另一种与CMS相关的嵌合基因 *orfB*。

油菜的CMS主要有Ogura、pol和nap等类型, 其中CMS-pol在生产上应用较广。CMS-pol和CMS-nap的线粒体基因组存在一段特异的4.5 kb片段; CMS-pol包含一特异阅读框*orf224*, 位于*atp6*基因上游, 与*atp6*基因共转录; CMS-nap 含有的特异开放阅读框是*orf222*, 与*orf224*高度同源, 位于*nad5c*和*orf139*上游, 并与它们共转录(L'Homme et al.,1997)。

萝卜的CMS-ogura和CMS-kos经杂交或原生质融合导入到油菜中也能稳定表现 CMS, 而且这 2 种 CMS 类型的恢保关系相同(Iwabuchi et al., 1999)。与CMS-kos有关的线粒体基因是*orf125*, 它是由*orf138*内部删除 39 bp 和替换第 95 和 99 位核苷酸产生的, 编码 1 个 17 kDa 多肽。

油菜恢复基因位点上至少有 3 个不同的等位基因 *Rfp*、*Rfn* 和 *Rfo*。*Rfp* 恢复 CMS-pol 的育性, 调控 *orf224*/*atp6*转录本的加工; *Rfn*恢复 CMS-nap的育性, 调控*nad4*、*yccl-1* 和 *orf222*/*nad5*/*orf139* 转录本的加

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

工; *Rfo*基因使CMS-ogura恢复育性, 基因表达产物使ORF-138蛋白稳定性降低, 导致该蛋白积累减少(Bellaoui et al., 1998)。*Rfo*已被克隆, 它编码一个PPR蛋白(Koizuka et al., 2003; Brown et al., 2003)。

2.5 菜豆CMS相关基因及其恢复基因

在菜豆中发现了5种CMS细胞质, 其中3种来源于*Phaseolus coccineus*, 1种来源于*P. polyanthus*, 1种来源于*P.vulgaris* cv.Sprite (CMS-Sprite)。在CMS-Sprite中有一段3 736 bp的特异片段, 称为*pvs*, (Mackenzie et al., 1988; Mackenzie and Chase, 1990; Johns et al., 1992)。*pvs*区含有3个ORF, 即*orf98*、*orf97*和*orf239*; *atpA*、*orf209*和*pvs*共转录形成CMS特异转录本。*orf239*编码一个27 kDa的多肽, 定位于花粉的胼胝质和初级细胞壁, 只在生殖组织中特异表达(Abad et al., 1995)。在营养器官中该多肽可能被依赖于ATP的丝氨酸型蛋白酶在翻译后降解(Sarria et al., 1998)。用*pvs-orf239*转化烟草, 证明了*orf239*与花粉败育直接相关(He et al., 1996)。

有多个基因可以恢复CMS-Sprite的育性, 它们的作用方式分为2类: 一类以恢复基因*Fr*为代表, 导入*Fr*基因, 可使含有*pvs*区的一部分mtDNA丢失, 使育性永久恢复(He et al., 1995); 另一类以*Fr2*为代表, 导入*Fr2*基因后, 不影响mtDNA分子, 而是促进生殖组织中*orf239*编码的27 kDa多肽降解, 使育性得到恢复(Sarria et al., 1998)。

2.6 向日葵CMS相关基因及其恢复基因

在向日葵(*Helianthus annuus*)中已经发现70种CMS, 其中有33种能找到育性恢复基因。CMS-PET1是生产上应用的一种CMS类型, 现在大部分向日葵杂交种来源于该细胞质类型(Horn and Friedt, 1999)

比较CMS-PET1细胞质与可育细胞质的mtDNA发现, 在CMS系中存在1个由重排产生的特异区段, 该区段由*atpA*基因、*cob*基因和1个11 kb的倒位、1个5 kb的插入构成, 并导致1个新的*orfH522*(*ORFC*)的产生(Laver et al., 1991)。*orfH522*与*atpA*基因共转录, 产生2.9 kb的转录本, 编码16 kDa膜结合蛋白。

大多数栽培种向日葵有2个显性的恢复基因*Rf1*和*Rf2* (Leclercq, 1984)。

2.7 高粱CMS相关基因及其恢复基因

已报道的高粱细胞质雄性不育类型有22种, 可划分为7个类型, 即A1、A2、A3、A4、A5和A6和9E, 又可以分成两大类:A1、A2、A5和A6为一类, A3、A4和9E为另一类。高粱7种不同类型的CMS, 在不同的核背景下有不同的核质基因互作形式, 表现为不同的遗传模式(Chen et al., 1990, 1995)。

高粱CMS细胞质的研究主要集中在A3型。A3型线粒体基因组有2个特有的开放阅读框, *orf265*/*orf130*和*orf107* (Tang et al., 1996)。*orf265*和*orf130*是由玉米*T-urf13*和*atp6* 5' 端、高粱*orf209*、高粱*atp6-2* 5' 端同源序列和未知来源的DNA序列组成的嵌合基因。*orf107*是由高粱*atp9*、未知来源的DNA序列以及与水稻BT型不育基因*orf79*部分同源的序列组成的嵌合基因, 编码12 kDa多肽。CMS-A3育性恢复受2个互补的基因*Rf3*和*Rf4*控制, 但促进*orf107*转录本剪切加工仅需*Rf3*(Tang et al., 1996)。

2.8 小麦CMS相关基因及其恢复基因

Kihara (1951)最早在山羊草与小麦的杂交种中发现细胞质雄性不育现象, 并开始进行小麦的杂交制种。目前, 国内外已培育出不同细胞质源不育系, 包括粘果山羊草(*Aegilops kotschyi*)、易变山羊草(*A. variabilis*) 和偏凸山羊草(*A. ventricosa*)的小麦雄性不育系40余种。其中以T型、V型和K型等不育系的研究较多, 并基本实现了三系配套, 选育出一批杂交组合已在生产上小面积示范推广。一种光敏型细胞质雄性不育系也已经用于小麦的杂交制种, 其不育细胞质来源于粗厚山羊草(*A. crassa*) (Murai, 1998, 2001)。

T型小麦不育的恢复性可能受多个主效恢复基因调控, 其中*Rf3*和*Rf4*被定位在染色体1BS和6BS上(张萃等, 2003)。K型不育的恢复基因被定位在1BS上(Liu et al., 2002)。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

3 CMS相关基因的分子作用机理

在不同植物中或同种植物的不同类型CMS系统, CMS相关基因各不相同, 引起不育的机理也不相同。

对已经克隆的CMS基因如玉米的*T-urf13*、油菜的*orf224*、菜豆的*orf239*、矮牵牛的*pcf*、向日葵的*orfH522*、水稻的*orf79*和萝卜的*orf138*等进行遗传转化, 但只有*orf239*和*orf79*能产生转基因植株的花粉败育的报道(He et al., 1996; Wang et al., 2006)。将*T-urf13*、*orfH522*、*orf138*、*orf79* /*orfH79*等基因转化到大肠杆菌中进行体外表达, 其表达产物具有毒性, 表现出对大肠杆菌的致死性 (Dewey et al., 1988; Nakai et al., 1995; Duroc et al., 2005; Wang et al., 2006)。这说明CMS相关基因编码有功能的蛋白, 而且对于表达宿主来说是有毒或有害的(Hanson and Bentolia, 2004; Duroc et al., 2006)。

植物CMS基因引起雄性不育的原因主要有以下几个方面。

3.1 CMS基因产物可能破坏线粒体的膜结构

线粒体在绒粘层细胞、雄性生殖细胞以及正在发育的小孢子中起着重要的作用。在这个发育阶段, 需要大量的能量或更多来自于线粒体合成的特殊活性分子, 线粒体结构功能的损坏会对雄性器官的发育造成严重的伤害(Hanson and Bentolia, 2004)。

根据大多数已发现的重组CMS基因序列预测, 这些基因编码多肽的二级结构中都有跨膜结构域, 推测可以从表面结合或完整地插入线粒体内膜, 引起线粒体膜结构的破坏。实验证明了这些蛋白能够嵌入线粒体内膜或与线粒体膜有关联, 如矮牵牛CMS系的*pcf*基因先翻译成43 kDa的蛋白质前体, 然后加工成25 kDa的多肽, 结合在线粒体内膜上(Nirision and Hanson, 1989; Nivision et al., 1994)。但是目前还不知道这些蛋白是否破坏了线粒体膜上的某些成分或者在线粒体膜上形成小孔。

玉米CMS-T基因*T-urf13*编码的13 kDa蛋白URF13具有跨膜结构, 其二级结构包括3个跨膜的α-螺旋, 可以组装成四聚体横跨于线粒体内膜上, 形成一个孔洞, 可引起线粒体内膜通透性的改变, 影响线粒体的正常代谢与功能(Rhoads et al., 1995; Siedow et al., 1995)。*T-urf13*在营养器官也能表达, 但只有花粉粒的发育异常, 推测只有在早期花药中才能产生一些能与URF13相互识别、合并形成孔洞结构导致细胞死亡的生物分子(Wise et al., 1987b; Dewey et al., 1987; Siedow et al., 1995)。URF13蛋白本身是一种毒蛋白, 它可直接致死大肠杆菌和昆虫细胞(Korth et al., 1991; Korth and Leving, 1993)。

CMS-T玉米除了表现雄性不育外, 还对玉米小斑病菌(*Cochliobolus heterostrophus*)产生的T毒素和杀虫剂灭多威敏感。当有T毒素存在时, URF13蛋白就会使线粒体的内膜形成小孔(Rhoads et al., 1995)。该蛋白能与T毒素或灭多威特异性结合, 使线粒体迅速膨胀, 激发NADH氧化, 抑制苹果酸诱导的呼吸作用, 并在线粒体内膜上形成膜孔, 造成线粒体内的小分子、离子等物质通过膜孔泄漏。进而线粒体的电子传递链遭到破坏, 氧化磷酸化解偶联, 能量代谢紊乱, 最终导致细胞死亡(Levings and Siedow, 1992) 。

3.2 CMS基因表达产物在植物器官中特异性积累

在花粉发育的时期, 花药细胞对能量的需求量远远大于植物营养生长时期。早期的解剖学研究表明, 在花粉粒发育过程中, 花药绒毡层细胞中, 线粒体含量是其体细胞的40倍, 小孢子细胞中的线粒体含量是其体细胞的20倍, 这种线粒体数目急剧增加的现象在其它细胞类型中均未观察到(Warmke and Lee, 1978)。因此, CMS基因表达产物有可能使线粒体大量增加, 或破坏线粒体的电子传递链及磷酸化过程, 而花粉细胞则对这种影响最为敏感。

为什么CMS基因只在花药或花粉中特异地起作用? Sarria等(1998)研究菜豆CMS发现, 菜豆CMS基因*orf239*是组成型表达, 但表达产物仅在CMS系花药的绒毡层组织或花粉母细胞及小孢子中积累, 引起小孢子败育。*orf239*编码27 kDa的多肽定位于花粉的胼胝质

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

和初级细胞壁(Abad et al., 1995), 在营养器官中该多肽被依赖于ATP的丝氨酸型蛋白酶降解, 而雄性器官里的该蛋白水解酶表达被抑制(Sarria et al., 1998)。在CMS胡萝卜中, *orfB*也仅在不育系2566A的花器官中有表达产物的累积(Nakajima et al., 2001)。类似地, 水稻CMS-BT型的*B-atp6/orf79*是组成型表达, 但ORF79蛋白只在小孢子有较高水平的积累, 而在花药壁细胞和其它体细胞积累的水平较低(Western blot不能检测到), 因此推测这种差异是由于小孢子以外的细胞存在某种特异的翻译, 或翻译后水平的调控机制抑制ORF79的产生, 使该不育系统表现为配子体模式(Wang et al., 2006)。另一方面, CMS基因对抽穗期延迟和最上节间伸长的影响(包颈现象)也产生一定的作用, 说明体细胞中对不育基因翻译产物积累的抑制是不完全的。

3.3 CMS基因可能影响ATP酶或细胞色素氧化酶的正常功能

已经鉴定的CMS相关的嵌合基因大多都与ATP合成酶或细胞色素氧化酶有关(Hanson and Bentolia, 2004)。其中一部分直接由部分ATP合成酶亚基编码基因(*atp4*、*atp6*、*atp8*、*atp9*和*atpA*)的启动子区或编码区序列参与重组, 或新的ORF距离ATP酶基因的位置非常近, 如玉米中的*urf13-T*、*orf77*, 油菜中的*orf 224*、*orf222*, 向日葵中的*orf522*, 萝卜中的*orf138*, 高粱中的*orf107*, 水稻的*orf79* (*orfH79*)等。另外一类参与重组的重要功能基因是细胞色素氧化酶基因(*cox1*、*cox2*), 如水稻的*orf79*、小麦中的*orf256*及矮牵牛中的*orf402*。特别是矮牵牛的*pcf*基因(*orf402*)有*atp9*和*cox2*编码区序列共同参与重组。另外还有核糖体蛋白编码基因、核糖体RNA和tRNA编码基因等参与重组 。

CMS相关基因编码的蛋白质含有与ATP合成酶某一亚基相类似的结构。有一种假说认为向日葵CMS-PET1系产生的ORF522的N-端的头18个氨基酸与ORFB相同, 导致2种蛋白在新的C端区发生竞争, 使得F_1 F_0-ATP酶磷酸化作用解偶联, 导致ATP合酶活性也明显降低, 能量供应难以满足花粉发育所需, 引起花粉败育(Nakajima et al., 2001; Balk adn Leaver, 2001; Serieys, 2002; Sabar et al., 2003)。研究表明, CMS烟草花芽中的ATP:ADP的比率低于正常可育烟草(Bergman et al., 2000)。还有一些与CMS有关的基因与电子传递链中的细胞色素氧化酶基因重排有关, 如小麦的*cox1*上游的*orf256*(Song and Hedgcoth,1994), 以及*atp6*基因和*orf25*基因的重排(Mohr et al.,1993); 甜菜的*atpA*、*atp6*位点(Xue et al.,1994)和*coxII*位点(Senda, 1991)。这些基因的改变可能影响细胞色素氧化酶的活性, 进而影响ATP合成, 最后影响花粉的育性。Sabar等(2000)比较矮牵牛和烟草的CMS系和正常可育植株中氧化酶活性, 发现它们之间有明显的差异。Gutierres等(1997)也发现CMS烟草植株中由于线粒体NADH脱氢酶功能失调而导致氧化酶的表达得到加强。呼吸链上各组分在CMS系和正常可育植株之间的差异很可能就是导致不育的原因。

3.4 CMS基因引起花粉细胞程序性死亡

在细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)这种现象被确认以前, 很多学者都报道过在显微镜下观察到CMS花药的绒粘层细胞未成熟就崩解以及败育的花粉中线粒体形态发生变化(Laser and Lersten, 1972; Kaul, 1988)。与动物一样, 植物线粒体似乎也为细胞死亡起到传递信号的作用(Lam et al., 2001)。Balk和Leaver (2001)证明了向日葵CMS不育系的绒粘层细胞表现出PCD的特性, 包括细胞色素C的释放。

3.5 CMS及其恢复与RNA编辑的关系

RNA编辑是指RNA水平的核苷酸改变引起密码子发生变化的一种预定修饰, 它使转录产物的核苷酸序列不能忠实地反映模板DNA的一级序列。转录后的RNA编辑改变了特定转录本的编码能力, 并产生多态性的基因表达产物。目前已知植物线粒体中几乎所有的编码蛋白的基因转录产物都被编辑, 编辑位点常在密码子的第1、2位, 且大多数为C→U (Mackenzie and McIntosh, 1999)。一旦编辑错误就可能改变编码蛋白质的氨基酸序列, 甚至造成蛋白质分子的截断或延

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

长，影响蛋白质功能。

一些研究认为CMS的产生和育性恢复与特定的线粒体基因的RNA编辑率有关。把编辑和未编辑*atp6*基因转入烟草，结果显示导入编辑*atp6*基因的植株全部可育，而导入未编辑*atp6*基因的植株表现出雄性不育(Hemould et al.,1993)。Howad和Kempken (1997)报道，在高粱的细胞质雄性不育系中，线粒体*atp6* mRNA的编辑率在花药中较低，只有在恢复基因存在的条件下，*atp6*转录本的编辑频率才得以恢复。Iwabuchi等(1993)报告BT型水稻不育系的*atp6* mRNA的编辑水平比复育系的低，因此认为可能是CMS的原因。但Wang等(2006)的结果表明，BT型水稻不育系的*atp6* mRNA的编辑率与保持系的相当，表明花粉育性与其编辑率没有关联性；同时发现，其中1个恢复基因*Rf1a*对*atp6* mRNA的编辑有一定的促进作用，认为这可能是*Rf1a*的原始功能，这个功能与CMS育性恢复无关，其对CMS基因*orf79*的表达抑制即育性恢复功能为进化过程中产生的派生功能。在高粱的CMS-A3系统中，Pring等(1999)认为*Rf4*通过调控*atp6*的编辑频率使育性得到恢复。但是，由于该系统的CMS基因是*orf107*而非*atp6*，即使*Rf4*具有影响*atp6*的编辑率的作用，也不能由此认定与育性恢复有关。反之，当发现恢复基因对某个线粒体基因的mRNA的编辑有影响时，也不能因此认为该基因就是CMS基因，还应该考察该基因在不育系和保持系的mRNA编辑状态，如果无明显差别，表明其与CMS无关。

3.6 环境因素对CMS表型的影响

影响CMS表型的环境因素包括光照、温度和光周期等。Murai和Tsunewaiki (1995)报道了一种光周期敏感细胞质雄性不育(photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility, PCMS)的异源细胞质小麦cr-N26，它在长日照条件(15小时)下表现出完全不育，短日照条件(<15小时)下则表现为高度可育。Ogihara等(1999)认为PCMS小麦雄性不育的发生是由于光照时间影响其核基因的表达，进而诱导线粒体基因组结构和基因表达方式的改变，导致细胞质雄性不育的产生。

油菜CMS系育性也受温度影响。傅廷栋等(1989)对35个CMS-pol系进行鉴定，发现高温不育型占62.9%，低温不育型占28.8%，稳定不育型占8.5%。

4 恢复基因的作用机理

4.1 恢复基因的分子特征

已克隆的4个恢复基因除了玉米的*Rf2*以外，矮牵牛的*Rf-PPR592*、萝卜的*Rfo*，和水稻的*Rf-1*(*Rf1a, Rf1b*)基因的编码蛋白都含有PPR基序。PPR基因是高等植物基因组中存在的超基因家族，含有由35个氨基酸形成的PPR(pentatrico-peptide repeat)基序重复(Small and Peeters, 2000)。许多PPR蛋白被认为通过与目标RNA的特异结合，在其它因子的共同作用下对目标RNA进行剪切、降解等加工(Lurin et al., 2004)。在克隆的编码PPR蛋白的恢复基因座位附近，总是存在几个拷贝的同源重复基因。如水稻的*Rf-1*座位附件约350 kb内存在8-9个PPR同源基因，形成一个基因簇，其中2个成员(*Rf1a*和*Rf1b*)对CMS-BT有恢复功能。与恢复系的功能恢复基因相比，不育系(保持系)中的等位基因序列往往出现序列缺失或碱基变异而失去功能。已克隆的恢复基因的编码蛋白N末端均有一个线粒体靶向序列，其表达产物都是以线粒体为作用目标。

4.2 恢复基因的作用机理

大多数CMS/restoration系统的育性恢复是受少数主效基因控制，如玉米S型、油菜nap型和pol型、菜豆的sprite型以及矮牵牛的育性恢复均受一对恢复基因控制；玉米T型、水稻BT型、HL型、WA型的育性恢复分别受2对主效恢复基因控制；向日葵的CMS恢复的遗传比较复杂，至少需要2对恢复基因。有些CMS系统的育性恢复也可能受微效恢复基因的影响。

对恢复基因的作用，推测有2类可能的机制。一类是恢复基因的功能是抑制线粒体基因组的特定CMS基因的表达；另一种是恢复基因的功能是补偿或纠正CMS线粒体某个必需基因的功能缺陷。目前研究结果几乎都支持第一类机制，即恢复基因表达产物通过特定的方

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

式改变CMS基因的转录本模式, 或对其翻译产物进行修饰或降解等, 使CMS基因的表达受到抑制而消除其毒害效应。对大部分CMS/restoration系统来说, 恢复基因对CMS基因转录模式的改变与基因沉默(蛋白翻译的抑制)之间的具体机制仍然不是很清楚。例如, 矮牵牛的恢复基因虽然只能降解CMS基因*pcf*的多种转录本中的一种的丰度, 但不清楚其PCF蛋白水平如何被大幅度降低(Pruitt and Hanson, 1991; Bentolila et al., 2002)。

玉米的CMS-T恢复基因*Rf2*不影响*T-urf13*转录本的加工和URF13蛋白质的丰度, 其恢复育性的功能在于它的ALDH活性抑制URF13的活性(Liu et al., 2001)。

最近, Wang等(2006)清楚地阐明了水稻恢复基因*Rf1a*和*Rf1b*抑制CMS-BT基因*orf79*表达的机制。RF1A在3个主要位点介导切断*B-atp6/orf79* mRNA, 其中1个切点位于*orf79*上游50多碱基处。虽然被切断的*orf79* mRNA片段(0.45 kb)还存在, 但其核糖体结合区已被破坏, 不能有效翻译出ORF79蛋白。当存在有功能的*Rf1b*但缺乏*Rf1a*时(基因型为*rf1a rf1a/Rf1b rf1b*), RF1B能介导*B-atp6/orf79* mRNA的完全降解。这2种不同的作用模式都使*orf79*的表达沉默, 从而恢复花粉的育性。有趣的是, 在RF1A和RF1B同时存在时(*Rf1a rf1a/Rf1b rf1b*), RF1A具有优先的作用, 表现为上位性效应, RF1B不能进一步介导被切断的RNA片段的降解, 推测这是由于被切断的mRNA片段中的RF1B识别位点已被破坏。但是, 由于这2种PPR蛋白本身都没有RNA酶活性的结构域, 它们可能是作为复合体的成员, 起到识别和结合靶标RNA的作用, 由复合体对靶标RNA进行切割或降解(Wang et al., 2006)。

Xiao等(2006)报道, 玉米CMS-S的不育相关转录本(1.6 kb)在导入恢复基因后其5’端被缺失9个碱基, 导致一个茎环结构的破坏, 使该RNA不稳定而降解, 产生育性恢复。

5 对CMS一些问题的理解

在一些文献中, 常将CMS的发生笼统地归结为核质不协调, 或细胞质基因与隐性核恢复基因共同控制的不育性, 因而归类为“核质互作雄性不育”。如上所述, 有确切证据表明: CMS系统几乎都是线粒体基因组中存在的特定的、“多余”的有害基因表达的结果。隐性恢复基因, 如水稻BT型隐性恢复基因*rf1a*, 是受破坏的无活性基因。CMS的发生并不需要隐性恢复基因的作用, 它们只是对抑制CMS基因的表达即育性恢复没有作用。因此我们认为, 当只考虑CMS的发生时, 应该狭义地将其称为“细胞质雄性不育”。这时不适宜用广义的概念去理解CMS的发生是否需要其它核基因的作用, 因为广义地说, 高等生物的任何生理生化过程都需要直接或间接的核质互作, 而不限于CMS等现象。但是, 当将CMS及其育性恢复(CMS/restoration)作为一个完整的系统论述时, 由于显性恢复基因能直接作用于CMS基因(抑制其表达或蛋白活性), 在狭义上它也是一个典型的核质互作的遗传系统。另外, 一些文献报道通过正常可育的种间或种内材料杂交“创造”了CMS细胞质, 或从正常可育的材料诱导突变或自然突变在后代产生了CMS。CMS相关基因是长期的进化过程中通过多次重组和功能分化的产物, 不是现有功能基因的简单突变产生的。因此, 对这些现象的正确理解应该是, 这些可育的母本材料的线粒体基因组已存在有功能CMS基因, 同时核基因组也存在相应的功能(显性)恢复基因抑制着CMS基因的表达, 因此表现为可育。当作为母本与另一个不含功能恢复基因的材料(相当于保持系)杂交, 杂种后代就能分离出不携带显性恢复基因的个体, 显现出CMS表型。类似地, 当含有CMS基因的可育材料的核恢复基因发生了突变而丧失功能时, 其自交后代也能分离出CMS植株。1970年李必湖先生在海南发现的雄性不育野生稻株(野败), 就应该是这种例子。

6 展望

植物细胞质雄性不育及其育性恢复现象涉及核质互作、基因表达调控以及环境因素影响等诸多方面。它之所以成为人们研究的热点, 是因为在杂种优势的利用中起到关键性的作用, 研究其机理能更好地为生产服务。另一方面, 植物CMS基因和核恢复基因构成了一个很有价

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

值的研究细胞核和细胞质基因组的相互作用的体系。虽然目前对植物细胞质雄性不育的分子机理的了解还不够深入，恢复基因与CMS基因的相互作用也比较复杂，但我们相信，随着更多的CMS基因和恢复基因的克隆，将会更好地了解和应用植物细胞质雄性不育及其育性恢复性。

参考文献

范昌发，孙春昀，郭骁才，张福耀，孙毅，牛天堂，贾敬芬 (2002). 细胞质雄性不育高粱叶绿体 *ndhD* 基因的序列变异．遗传学报 **29**, 907-914.

傅廷栋，杨小牛，杨光圣 (1989).甘蓝型油菜波里马雄性不育的选育研究. 华中农业大学学报 **3**, 201-207.

李继耕 (1983). 叶绿体遗传与细胞质雄性不育性. 中国农业科学 **1**, 49-52.

李继耕 (1992). 细胞质雄性不育的分子基础. 遗传 **4**, 37-40.

刘一农，李继耕 (1983)．叶绿体DNA(ctDNA)与细胞质雄性不育性．遗传学报 **10**, 114-12.

孙春昀，范昌发，张福耀，牛天堂，孙毅，郭骁才 (2002). CMS高粱保持系叶绿体基因 *ps1A1* 和 *ps1A2* 片段的克隆与序列比对. 应用与环境生物学报 **5**, 59-65.

王泽立，王鲁昕，戴景瑞，王斌，李新征 (2001). 运用近等基因系(NIL)、AFLP、RFLP和SCAR标记对玉米S组恢复基因(Rf3)的研究. 遗传学报 **28**, 465-470.

易平，汪莉，孙清萍，朱英国 (2002). 红莲型细胞质雄性不育水稻线粒体相关嵌合基因的发现. 科学通报 **47**, 130-133.

袁隆平 (2002). 杂交水稻学. 北京: 中国农业出版社.

张萃，王宏英，沈银柱，赵宝存，朱正歌，黄占景 (2003). 用微卫星标记定位小麦T型CMS的恢复基因. 遗传学报 **30**, 459-464.

张群宇，刘耀光，张桂权，梅曼彤 (2002). 野败型水稻细胞质雄性不育恢复基因 *Rf-4* 分子标记定位. 遗传学报 **29**, 1001-1004.

朱英国 (2000). 水稻雄性不育生物学. 武汉: 武汉大学出版社.

Abad AR, Mehrtens BJ, Mackenzie SA (1995). Specific expression in reproductive tissues and fate of a mitochondrial sterility-associated protein in cytoplasmic male-sterile bean. *Plant Cell* **7**, 271-285.

Akagi H, Sakamoto M, Shinjyo C, Shimada H, Fujimura T (1994). A unique sequence lacated down stream from the rice mitochondrial atp6 may cause male sterility. *Theor Appl Genet* **25**, 52-58.

Akagi H, Nakamura A, Sawada R, Oka M, Fujimura T (1995). Genetic diagnosis of cytoplasmic male-sterile cybrid plants of rice. *Theor Appl Genet* **90**, 948-951.

Arrieta-Montiel M, Lyznik A, Woloszynska M, Janska H, Tohme J, Mackenzie S (2001).Tracing evolutionary and developmental implications of mitochondrial stoichiometric shifting in the Common Bean. *Genetics* **158**, 851-864.

Balk J, Leaver CJ (2001). The PET12 CMS mitochondrial mutation in sunflower is associated with premature programmed cell death and cytochrome release. *Plant Cell* **13**, 1803-1818.

Bellaoui M, Martin-Canadell A, Pelletier G, Budar F (1998) . Low-copy-number molecules are produced by recombination, actively maintained and can be ampli85fied in the mitochondrial genome of *B rassicaceae*: relationship to reversion of the male sterile phenotype in some cybrids. *Mol Gen Genet* **257**, 177-185.

Bentolila S, Alfonso AA, Hanson MR (2002). A pentatricopeptide repeat-containing gene restores fertility to cytoplasmic male-sterile plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 10887-10892.

Bergman P, Edqvist J, Farbos I, Glimelius K (2000). Male-sterile tobacco displays abnormal mitochondrial atpl transcript accumulation and reduced floral ATP/ADP ratio. *Plant Mol Biol* **42**, 531-544.

Boeshore ML, Lifshits I, Hanson MR, Izhar S (1983). Novel composition of mitochondrial genomes in *Petunia* somatic hybrids derived from cytoplasmic male sterile and fertile plants. *Mol Gen Genet* **190**, 459-467.

Boeshore ML, Hanson MR, Izhar S (1985). A variant mitochondrial DNA arrangement specific to *Petunia* sterile somatic hybrids. *Plant Mol Biol* **4**, 125-132.

Brown GG, Formanova N, Jin H, Wargachuk R, Dendy C, Patil P, Laforest M, Zhang JF, Cheung WY, Landry BS (2003). The radish *Rfo* restorer gene of *Ogura* cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *Plant J* **35**, 262-272.

Budar F, Pelletier G (2001). Male sterility in plants: occurrence, determinism, significance and use. *Life Sciences* **324**, 543–550.

Budar F, Touzet P, de Paepe R (2003). The nucleo-mitochondrial conflict in cytoplasmic male sterilities revisited. *Genetica* **117**, 3-16.

Chen ZJ, Liang GH, Muthukrishnan S, Kafoid KD (1990). Chloroplast DNA polymorphism in fertile and male-sterile cyto-

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

plasm of sorghum [*sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theor Apple Genet* **80**, 727-731.

Chen ZJ, Schertz KF, Mullet JE, DuBell A, Hart GE (1995). Characterization and expression of *rpoC2* in CMS and fertile lines of sorghum . *Plant Mol Biol* **28**, 799-809.

Clark E, Gafni Y, Izhar S (1988). Loss of CMS-specific mitochondrial DNA arrangement in fertile segregants of *Petunia* hybrids. *Plant Mol Biol* **4**, 125-132.

Cui XQ, Wise RP, Schnable PS (1996). The *rf2* nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. *Science* **272**, 1334-1336.

Dewey RE, Levings CS, Timothy DH (1986). Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the Texas male-sterile cytoplasm. *Cell* **44**, 439- 449.

Dewey RE, Siedow JN, Timothy DH, Levings III CS (1988). A 13-kilodalton maize mitochondrial protein in *E. coli* confers sensitivity to Bipolaris maydis toxin. *Science* **239**, 293-295.

Dewey RE, Timothy DH, Levings CS (1991).Chimeric mitochondrial genes expressed in the C male-sterile cytoplasm of maize. *Curr Genet* **20**, 475-482.

Dewey RE,Timothy DH, Levings CS (1987). A mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in the T cytoplasm of maize. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**, 5374-5378.

Dill CL, Wise RP, Schnable PS (1997). *Rf8* and *Rf** mediated unique T-urf13-transcript acculation, revealing a conserved motif associated with RNA processing and restoration of pollen fertility in T-cytoplasm maize. *Genetics* **147**, 1367-1379.

Duroc Y, Gaillard C, Hiard S, Defrance MC, Pelletier G, Budar F (2005). Biochemical and functional characterization of ORF138, a mitochondrial protein responsible for *Ogura* cytoplasmic male sterility in Brassiceae. *Biochimie* **87**, 1089–1100.

Duroc Y, Gaillard C, Hiard S, Tinchant C, Berthome R, Pelletier G, Budar F (2006). Nuclear expression of a cytoplasmic male sterility gene modifies mitochondrial morphology in yeast and plant cells. *Plant Sci* **170**, 755-767.

Frankel R, Scowcroft WR, Whitfeld PR (1979). Chloroplast DNA variation in isonuclear male-sterile lines of Nicotiana. *Mol Gen Genet* **169**, 129-135.

Fujii S, Toriyama K (2005). Molecular mapping of the fertility restorer gene for ms-CW-type cytoplasmic male sterility of rice. *Theor Appl Genet* **111**, 696–701.

Gray MW (1992). The endosymbiont hypothesis revisited. *Int Rev Cytol* **141**, 233-257.

Grelon M, Budar F, Bonhomme S, Pelletier G (1994). Ogura cytoplasmic male-sterility (CMS)-associated orf138 is translated into a mitochondrial membrane polypeptide in male-sterile *Brassica cybrids*. *Mol Gen Gene* **243**, 540- 547.

Grosskopt D, Mulligan RM (1996). Developmental and tissue-specificity of RNA editing in mitochondria of suspension-cultured maize cells and seedlings. *Curr Genet* **29**, 556-563.

Gutierres S, Sabar M, Lelandais C, Chetrit P, Diolez P, Degand H, Boutry M, Vedel F, de Kouchkovsky Y, DePaepe R (1997). Lack of mitochondrial and nuclear-encoded subunits of complex I and alteration of the respiratory chain in *Nicotiana sylvestris* mitochondrial deletion mutants. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 3436-3441.

Hanson MR, Bentolila S (2004). Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *Plant Cell* **16**(Suppl.), S154-S169.

Hanson MR (1991). Plant mitochondrial mutations and male sterility. *Annu Rev Genet* **25**, 461-486.

He S, Yu ZH, Vallejos CE, Mackenzie SA (1995). Pollen fertility restoration by nuclear gene Fr in CMS common bean: an Fr linkage map and the mode of Fr action. *Theor Appl Genet* **95**, 321-328.

He S, Abad AR, Gelvin SB (1996). A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial protein causeses pollen disruption in transgenic tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 11763-11768.

Hemould M, Suharsono S, Litvak S, Araya A, Mouras A (1993). Male-sterility induction in transgenic tobacco plants with an unedited atp6 mitochondrial gene from wheat. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**, 2370-2374.

Horn R, Friedt W (1999). CMS sources in sunflower : different origin but same mechanism? *Theor Appl Genet* **98**, 195-201.

Howad W, Kempken F (1997). Cell type-specific loss of *atp6* RNA editing in cytoplasm male sterile *Sorghum bicolor*. *Proc Nail Acad Sci USA* **94**, 11090-11095.

Iwabuchi M, Koizuka N, Fujimoto H, Sakai T, Imamura J (1999). Identification and expression of the Kosena radish (*Raphaus sativus* cv. Kosena) homologue of the Orgura radish CMS-associated gene ,orf138. *Plant Mol Biol* **39**, 183-188.

Iwabuchi M, Kyozuka J, Shimamoto K (1993). Processing followed by complete editing of an altered motochondrial atp6

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

RNA restores fertility of cytoplasmic male sterile rice. *EMBO J* **12**, 1437-1446.

Johns L, Lu M, Lyznik A, Mackenzie S (1992). A mitochondrial DNA sequence is associated with abnormal pollen development in cytoplasmic male sterile bean plants. *Plant Cell* **4**, 435-449.

Jones HA, Clarke AE (1943). Inheritance of male sterility in the onion and the production of hybrid seed. *Proc Natl Acad Sci USA* **43**, 189-194.

Kaul MLH (1988). Male Sterility in Higher Plants. Berlin: Springer pp.10-22.

Kihara H (1951). Substitution of nucleus and its effects on genome manifestations. *Cytologia* **16**, 177–193.

Koizuka N, Imai R, Fujimoto H, Hayakawa T, Kimura Y, Murase JK, Sakai T, Kawasaki S, Imamura J (2003). Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*, that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile Kosena radish. *Plant J* **34**, 407-415.

Komarnitskii IK, Samoilov AM, Grebenkin AA (1985). Analysis of ribulose-bisphosphate carbo- xylase and chloroplast DNA in cytoplasmically male sterile forms of Nicotiana. *Genetika*, *USSR* **21**, 1535-1541.

Komori T, Ohta S, Murai N, Takakura Y, Kuraya Y, Suzuki S, Hiei Y, Imaseki H, Nitta N (2004). Map-based cloning of a fertility restorer gene *Rf-1*, in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant J* **37**, 315-325.

Korth KL, Struck F, Kaspi CI, Siedow JN, Levings III CS (1991). URF13, a maize mitochondrial pore-forming protein, is oligomeric and has a mixed orientation in *Escherichia coli* plasma membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**, 10865-10869.

Korth KL, Leving III CS (1993). Baculovirus expression of maize mitochondrial protein URF13 confers insecticidal activity in cell culture and larvae. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**, 3388-3392.

L'Homme Y, Stahl RJ, Li XQ, Hameed A, Brown GG (1997). Brassica nap cytoplasmic male sterility is associated with expression of a mtDNA region containing a chimeric gene similar to the pol CMS-associated orf224 gene. *Curr Genet* **31**, 325-335.

Lam E, Kato N, Lawton M (2001). Programmed cell death, mitochondria and the plant hypersensitive response. *Nature* **411**, 848-853.

Laser KD, Lersten NR (1972). Anatomy and cytology of microspore genesis in cytoplasmic male-sterile angi-sperm. *Bot Rev* **38**, 425-454.

Laver HK, Reynolds SJ, Moneger F, Leaver CJ (1991). Mitochondrial genome organization and expression associated with cytoplasmic male sterility in sunflower (*Helianthus annuus*). *Plant J* **1**, 185-193.

Leclercq P (1984). Identification de genes de restauration de fertilite sur cytoplasms sterilisants chez le tournesol. *Agronomie* **4**, 573–576.

Levings CS, Siedow JN (1992). Molecular basis of disease susceptibility in the Texas cytoplasm of maize. *Plant Mol Biol* **19**, 135-147.

Levings CS, Pring DR (1976). Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from normal and Texas cytoplasmic male-sterile maize. *Science* **193**, 158-160.

Liu BS, Sun QX, Sun LZ, Gao QR, Xie CJ, Dou BD, Ni ZF, Wei YL, Zhang YC (2002). RAPD and ISSR markers of fertility restoring gene for *Aegilops kotschyi* cytoplasmic male sterility in wheat. *Acta Bot Sin* **44**, 446-450.

Liu F, Cui XC, Hrner HT, Weiner H, Schnable PS (2001). Mitochondrial Aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. *Plant Cell* **13**, 1063-1078.

Liu XQ, Xu X, Tan YP, Li SQ, Hu J, Huang JY, Yang DC, Li YS, Zhu YG (2004). Inheritance and molecular mapping of two fertility-restoring loci for Honglian gametophytic cytoplasmic male sterility in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Genet Genomics* **271**, 586-594.

Lurin C, Andres C, Aubourg S, Bellaoui M, Bitton F, Bruyere C, Caboche M, Debast C, Gualberto J, Hoffmann B, Lecharny A, le Ret M, Martin-Magniette ML, Mireau H, Peeters N, Renou JP, Szurek B, Taconnat L, Small I (2004). Genome-wide analysis of Arabidopsis pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis. *Plant Cell* **16**, 2089-2103.

Mackenzie S, Chase CD (1990). Fertility restoration is associated with loss of a portion of the mitochondrial genome on cytoplasmic male-sterile common bean. *Plant Cell* **2**, 905-912.

Mackenzie S, McIntosh L (1999). Higher plant mitochondria. *Plant Cell* **11**, 571-586.

Mackenzie S, Pring DR, Bassett MJ, Chase CD (1988). Mitochondrial DNA rearrangement associated with fertility restoration and reversion to fertility in cytoplasmic male sterile *Phaseolus vulgaris* L. *Proc Natl Acad Sci USA* **86**, 2714-

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

2717.

Mohr S, Schulte-Kappert ES, Odenbach W (1993). Mitochondrial DNA of cytoplasm male-sterile *Triticum timopheevi* : rearrangement of upstream sequences of the *atp*6 and *orf*25 genes. *Theor Appl Genet* **86**, 259-268.

Murai K, Tsunewaiki K (1995). Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility induced in Japanese wheat cultivars by transferring *Aegilops crassa* cytoplasm. *Breed Sci* **45**, 199-203.

Murai K (1998). F_1 seed production efficiency by using photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility and performance of F_1 hybrid lines in wheat. *Breed Sci* **48**, 35-40.

Murai K (2001). Factors responsible for level of male sterility in photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility (PCMS) wheat lines. *Euphytica* **117**, 111-116.

Nakai S, Noda D, Kondo M, Terachi T (1995). High-level expression of a mitochondrial *orf522* gene from the male-sterile sun-flower is lethal to *E. coli*. *Breeding Sci* **45**, 233-236.

Nakajima Y, Yamamoto T, Muranaka T, Oeda K (2001). A novel *orfB*-related gene of carrot mitochondrial genomes that is associated with homeotic cytoplasmic male sterility (CMS). *Plant Mol Biol* **46**, 99-107.

Nivision HT, Hanson MR (1989). Identification of a mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in *Petunia*. *Plant Cell* **1**, 1121-1130.

Nivison HT, Sutton CA, Wilson RK, Hanson MR (1994). Sequencing processing and localization of the Petunia cms-associated mitochondrial protein. *Plant J* **5**, 613-623.

Ogihara Y, Kurihara Y, Futami K, Tsuji K, Murai K (1999) Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat: nuclear-mitochondrial incompatibility results in differential processing of the mitochondrial *orf25* gene. *Curr Genet* **36**, 354-362.

Ogihara Y, Yamazaki Y, Murai K, Kanno A, Terachi T, Shiina T, Miyashita N, Nasuda S, Nakamura C, Mori N, Takumi S, Murata M, Futo S, Tsunewaki K (2005). Structural dynamics of cereal mitochondrial genomes as revealed by complete nucleotide sequencing of the wheat mitochondrial genome. *Nucleic Acids Res* **33**, 6235-6250.

Oldenburg DJ, Bendich AJ (1998). The structure of mitochondrial DNA from the liverwort, *Marchantia polymorpha*. *J Mol Biol* **276**, 745-758.

Phreaner CG, Williams MA, Mulligan RM (1996). Incomplete editing of rps12 transcripts results in the synthesis of polymorphic polypeptides in plant mitochondria. *Plant Cell* **8**, 107-117.

Pring DR, Tang HV, Howad W, Kempken F (1999). A unique two-gene gametophytic male sterility system in sorghum involving a possible role of RNA editing in fertility restoration. *J Hered* **90**, 386-393.

Pruitt KD, Hanson MR (1991). Transcription of the Petunia mitochondrial CMS-associated pcf locus in male sterile and fertility-restored lines. *Mol Gen Genet* **227**, 348-355.

Rhoads DM, Levings OS, Siedow JN (1995). URF13, a ligand-gated, pore-forming receptor for T-toxin in the inner membrane of cms-T mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* **27**, 437-445.

Sabar M, de Paepe R, de Kouchkovsky Y (2000). Complex I impairment, respiratory compensations, and photosynthetic decrease in nuclear and mitochondrial male sterile mutants of Nicotiana sylvestris. *Plant Physiol* **124**, 1239-1249.

Sabar M, Gagliardi D, Balk J, Leaver CJ (2003). ORFB is a subunit of F1F0-ATP synthase: Insight into the basis of cytoplasmic male sterility in sunflower. *EMBO Rep* **4**, 1-6.

Sarria R, Lyznik A, Vallejos CE, Mackenzie SA (1998). A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial peptide in common bean is post-translationally regulated. *Plant Cell* **10**, 1217-1228.

Schardl CL, Lonsdale DM, Pring DR, Rose KR (1984). Linearization of maize mitochondrial chromosomes by recombination with linear episomes. *Nature* **310**, 292-296.

Schnable PS, Wise RP (1998). The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trend Plant Sci* **3**, 175-180.

Senda M (1991). Genomic organization and sequence analysis of the cytochrome oxidase subunit II gene from normal and male sterile mitochondrial in sugar beat. *Curr Genet* **19**, 175-181.

Serieys H (2002). Identification, study and utilization in breeding programs of new CMS sources. In: the FAO Subnetwork. Proceedings of Sunflower Subnetwork Progress Report. Rome: FAO.

Shinjyo C (1969). Cytoplasmic genetic male sterility in cultivated rice, *Oryza sativa* L. II. The inheritance of male sterility. *Jpn J Genet* **44**, 149-156.

Shinjyo C (1975). Genetical studies of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in rice, *Oryza sativa* L. *Sci Bull Coll*

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

Agr Univ Ryukyus **22**, 1-57.

Siedow JN, Rhoads DM, Ward GC, Levings CS (1995). The relationship between the mitochondrial gene T-urfl3 and fungal pathotoxin sensitivity in maize. *Biochim Biophys Acta* **1271**, 235-240.

Small ID, Peeters N (2000). The PPR motif**?** a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends Biochem Sci* **25**, 46-47.

Song J, Hedgcoth C (1994). A chimeric gene (*orf256*) is expressed as protein only in cytoplasmic male-sterile lines of wheat . *Plant Mol Biol* **26**, 535-539.

Subbiah K, Christopher AM (1994). Organ-specific reduction in the abundance of a mitochondrial protein accompanies fertility restoration in cytoplasmic male-sterile radish. *Plant Mol Biol* **26**, 935-936.

Sugiyama Y, Watase Y, Nagase M, Makita N, Yagura S, Hirai A, Sugiura M (2005). The complete nucleotide sequence and multipartite organization of tobacco mitochondrial genome: comparative analysis of mitochondrial genomes in higher plants. *Mol Gen Genomics* **272**, 603-615.

Tan XL, Vanavichit A, Amorsilpa S, Trangoonrung S (1998). Genetic analysis of rice CMS-WA fertility restoration based on QTL mapping. *Theor Appl Genet* **96**, 994-999.

Tang HV, Pring DR, Shaw LC, Salazar RA, Muza FR, Yan B, Schertz KF (1996). Transcript processing internal to a mitochondrial open reading frame is correlated with fertility restoration in male-sterile sorghum. *Plant J* **10**, 123-133.

Wang Z, Zou Y, Zhang Q, Li X, Chen L, Wu H, Su D, Guo J, Chen Y, Luo D, Long Y, Zhong Y, Liu YG (2006). Cytoplasmic male mterility of rice with Boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing. *Plant Cell* **18**, 676-687.

Ward BL, Anderson RS, Bendich AJ (1981). The mitochondrial genome is large and variable in a family of plants (Cucurbitaceae). *Cell* **25**, 793-803.

Warmke HE, Lee SLJ (1978). Pollen abortion in T cytoplasmic male sterility corn: a suggested machanism. *Science* **200**, 561-563.

Wise RP, Pring DR, Gengenbach BG (1987a). urf13-T of T cytoplasm maize mitochondria encodes a 13 kD polypeptide. *Plant Mol Biol* **9**, 121-126.

Wise RP, Pring DR, Gengenbach BG (1987b). Mutation to male fertility and toxin insensitivity in Texas cytoplasm maize is associated with a frame shift in a mitochondrial open reading frame. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**, 2858-2862.

Wise RP, Dill CL, Schnable PS (1996c). Mutator-induced mutations of the rf1 nuclear fertility restorer of T-cytoplasm maize alter the accumulation of the T-urf13 mitochondrial transcripts. *Genetics* **143**,1383-1394.

Wise RP, Pring DR (2002). Nuclear-mediated mitochondrial gene regulation and male fertility in higher plants Light at the end of the tunnel? *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 10240-10242.

Xiao H, Zhang F, Zheng Y (2006). The 5' stem-loop and its role in mRNA stability in maize S cytoplasmic male sterility. *Plant J* **47,** 864-872.

Xue Y, Collin S, Davies RD, Thomas CM (1994) Differential screening of mitochondrial cDNA libraries from male -fertile and cytoplasmic male-sterile sugar-beet reveals genome rearragemets at *atp6* and *atpA* loci. *Plant Mol Boil* **25,** 91-103.

Yamagishi H, Terachi T (1996). Molecular and biological studies on male-sterile cytoplasm in the Cruciferae.III. Distrbution of Ogura-type cytoplasm among Japanese wild radishes and Asian radish cultivars. *Thero Appl Genet* **93**, 325-332.

Yan B, Pring DR (1997). Transcriptional Initiation sites in sorghum mitochondrial DNA indicate conserved and variable features. *Curr Genet* **32**, 287-295.

Yao FY, Xu CG, Yu SB, Li JX, Gao YJ, Li XH, Zhang QF (1997). Mapping and genetic anlysis of two fertility restorer loci in the wild-abortive cytoplasmic male sterility system of rice (*Oryza sative* L.). *Euphytica* **98,** 183-187.

Zabala G, Gabay-Laughnan S, Laughnan JR (1997). The nuclear gene Rf3 affects the expression of the mitochondrial chimeric sequence R implicated in S-type male sterility in maize. *Genetics* **147**, 847-860.

Zhang G, Lu Y, Huang N (1994). Molecular analysis of introgressed chromosomal segments in a set of near-isogenic lines of rice for fertility-restoring genes. *Rice Genet News* **11,** 147-149.

Zhang G, Bharaj TS, Lu Y, Virmani SS, Huang N (1997). Mapping of Rf-3 nuclear-fertility restoring gene for WA cytoplasmic male sterility in rice using RAPD and RLFP markers. *Theor Appl Genet* **94,** 27-33.

Zhang Q, Liu YG (2006). Rice mitochondrial genes are transcribed by multiple promoters that are highly diverged. *J Integr Plant Biol* **48,** 1473-1476.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455

Molecular Basis of Plant Cytoplasmic Male Sterility and Fertility Restoration

Hao Wu[1], Hong Xu [2], Zhenlan Liu[3], Yaoguang Liu[1*]

[1]*Key Laboratory of Plant Functional Genomics and Biotechnology of Education Department of Guangdong, College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China*

[2]*College of Life Sciences, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling 712100, China*

[3]*Faculty of Food and Land Systems, and Department of Botany, University of British Columbia, 6270 University Blvd, Vancouver, BC, V6T 1Z4, Canada*

Abstract Cytoplasmic male sterility (CMS), a maternally inherited trait, is widespread among plant species. Because of the importance of CMS in hybrid seed production, understanding the molecular basis of CMS and its restoration is critical for better utilization of heterosis in crops. A number of CMS and restorer genes have been isolated, and the molecular mechanisms for the CMS-restoration interaction of some systems have been elucidated. In this paper, we review the progress in study of CMS and restorer genes in plants.

Key words cytoplasmic male sterility (CMS), mitochondrial genes, restorer gene

Wu H, Xu H, Liu ZL, Liu YG (2007). Molecular basis of plant cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Chin Bull Bot* **24**, 399–413.

* Author for correspondence. E-mail: ygliu@scau.edu.cn

(**责任编辑**: **韩亚琴**)

第五届全国化学生物学学术会议通知

由中国化学会主办, **中国科学院昆明植物研究所承办的“第五届全国化学生物学学术会议”定于** 2007 **年** 8 **月** 10 **日至** 12 **日在云南省昆明市召开。会议拟邀请国内外著名专家学者与会，欢迎广大学者和研究生参加本次学术会议。本次会议的主题是中国化学生物学的崛起，其宗旨是交流我国化学生物学各领域的最新研究成果，回顾和展望学科发展。**

会议网址：http://www.kib.ac.cn/chemicalbiology/index.htm**，网上报名现已开通，我们热诚欢迎化学生物学界的各位同仁踊跃参加此次学术盛会！**

联系人: **谭宁华研究员**

电话或传真: 0871-5223800

E-mail: nhtan2007@mail.kib.ac.cn

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-455