植物学通报 2006, **23** (6): 613~624
Chinese Bulletin of Botany

·综述·

几种农作物细胞质雄性不育恢复基因的定位和分子标记研究进展

程计华[1,2], 李云昌[2], 梅德圣[2], 胡琼[2*]

[1] 华中农业大学植物科技学院, 武汉 430070

[2] 中国农业科学院油料作物研究所国家油料作物改良中心, 农业部油料作物遗传改良重点实验室, 武汉 430062

摘要 利用杂种优势提高作物产量时, 生产杂交种的主要授粉控制系统是细胞质雄性不育及其恢复系统。在杂交品种的选育过程中, 优良恢复系选育至关重要。为了高效并准确地鉴定选择恢复材料, 同时更深入地研究恢复基因的作用机理, 近年来植物细胞质雄性不育恢复基因分子标记研究受到了广泛重视。本文综述了主要农作物水稻、油菜、小麦、棉花和玉米等细胞质雄性不育类型恢复基因的定位和分子标记研究进展, 并讨论了恢复基因的精确定位和分子标记鉴定在基因克隆和分子标记辅助选择育种中的意义和应用前景。

关键词 细胞质雄性不育系, 恢复基因, 基因定位, 分子标记辅助选择, 杂种优势

Molecular Mapping and Markers for Fertility Restorer Genes of Cytoplasmic Male Sterility in Major Crops

Jihua Cheng[1,2], Yunchang Li[2], Desheng Mei[2], Qiong Hu[2*]

[1]*College of Plant Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*

[2]*National Center for Oil Crops Improvement, Institute of Oil Crops Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Agricultural Ministry for Oil Crops Improvement, Wuhan 430062, China*

Abstract Cytoplasmic male sterility (CMS) and its restoration are a main pollination control system for hybrid seed production in the application of heterosis. The development of elite fertility restorer lines is essential for selecting a hybrid combination with high heterosis. In recent years, mapping and identification of molecular markers associated with fertility restorer genes have gained much attention for efficiency of restorer selection as well as understanding the restorer gene function. This paper reviews the progress in the molecular mapping and development of molecular markers for CMS restoration genes in agronomically important crops, including rice, wheat, rapeseed, cotton and maize. The prospects of fine mapping and marker identification of fertility restorer genes for gene cloning and marker-assisted selection in molecular breeding of hybrids are discussed.

Key words cytoplasmic male sterility, restorer gene, mapping, marker-assisted selection, heterosis

植物细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)**是指植物不能产生花粉或只产生**

收稿日期: 2006-02-20; **接受日期**: 2006-07-07
基金项目: **国家** 863 **项目**(No. 2003AA2222101, 2002AA2007009)
* Author for correspondence. E-mail: huqingy@public.wh.hb.cn

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

没有活力的花粉的一种母性遗传现象, 普遍存在于高等植物中, 现已在 43 个科、617 个物种和 150多种植物中观察到, 包括一些在农业生产上发挥重要作用的农作物(Laser and Lersten, 1972; 郝岗平等, 2003)。由于 CMS 育性能被恢复基因*RF*所恢复, 是植物杂种优势利用的主要授粉控制系统, 它已在水稻、油菜和玉米等主要作物杂交种选育中得到广泛的利用。常规育种中选育恢复系的有效方法是杂交转育, 从早期分离世代F2或F3代开始就采取成对测交鉴定来选择含恢复基因的单株或株系, 这种方法工作量大, 耗时长, 每次测交鉴定都需要到第二个生殖生长季节才能获得结果。分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)在早期世代对恢复基因进行鉴定, 可以极大地加速恢复材料的选育过程、缩短育种周期且提高育种效率。因此, 细胞质雄性不育恢复基因的分子标记研究近年来深受重视。

本文对几种主要农作物细胞质雄性不育恢复基因的定位和分子标记研究及其在育种中的应用情况进行了较为详细的综述, 以期为进一步开发作物恢复基因的分子标记、建立恢复基因分子标记辅助选择技术体系、加快转育和鉴定优良恢复系提供参考。

1 水稻

已报道的水稻雄性不育胞质多达35种, 但是在生产上利用的仅有少数, 其中遗传研究较深入的类型有野败型(CMS-WA)、矮败型(CMS-DA)、红莲型(CMS-HL)、包台型(CMS-BT)和滇型(CMS-Dian)5 种。

1.1 CMS-WA恢复基因的鉴定和分子标记

野败型细胞质雄性不育系(CMS-WA)是我国杂交水稻生产中应用的主要不育系。研究表明, CMS-WA的育性恢复性状受两对独立主效基因控制, 具有修饰作用, 两对基因一强一弱, 并存在加性效应(梁国华等, 2001)。Zhang 和 Huang (1994)与Zhang等(1997)通过遗传分析确认恢复系IR24有两对恢复基因, 命名为*RF3* 和 *RF4*, 并以恢复系IR24为轮回亲本,与珍汕97A回交建立了恢复基因*RF3*和*RF4*的近等基因系, 将*RF3* 定位于第1染色体的RFLP标记RG532和 RG458 之间, 但未能定位到 *RF4*。Yao 等(1997)利用RFLP技术在一个较大的F2分离群体中将明恢63的两对恢复基因分别定位于第1和第10染色体上, 与第1染色体上的标记RG532距离为6.0 cM, 与第10染色体上的标记G4003相距仅3.3 cM。在利用回交分离群体构建由57个RFLP及61个AFLP标记组成的遗传连锁图谱的基础上, Tan等(1998)将两个具加性效应的主效恢复基因分别定位于第10染色体的长臂和短臂上, 这两个基因位点各解释71.5%和27.3%的表型变异。

为了将另一恢复基因*RF4*精确定位, 张群宇等(2000)将第10染色体分子遗传图上分子标记R1877和G2155之间的对应区域YAC物理图谱上的6个YAC克隆进行了亚克隆, 获得119个片段。以这些亚克隆为探针对不育系珍汕97A和*RF4*的近等基因系进行多态性筛查, 获得了2个多态性分子探针。用珍汕97A和恢复系的杂种F2分离群体中的117个完全不育株进行连锁分析表明, 这两个亚克隆Y3-8和Y1210与*RF4*的遗传距离分别为 0.9 cM 和 3.2 cM。

利用群分法(bulked segregation analysis, BSA)以汕优63的F2育性分离群体为材料进行AFLP分析, 何光华等(2000)获得了CMS-WA恢复基因的一个标记AP1, 在含73个单株的群体中连锁分析表明其与恢复基因的遗传距离为4.76 cM。而利用 302 对 SSR 引物对同一群体进行分析, 找到了3个与两对恢复基因连锁的分子标记。其中位于第 1 染色体上的 RM1 与恢复基因相距 1.9 cM, 位于第 10 染色体上的RM258与恢复基因相距2.9 cM, 而另一位于第10染色体上标记RM304在53株完全不育单株中没有找到一个交换个体, 表明其与恢复基因呈现共分离,并推测水稻中存在于第10染色体上

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

的WA、BT和HL 3种雄性不育细胞质的恢复基因可能属于同一个基因家族。这些紧密连锁且位置明确的分子标记的鉴定,为恢复基因的克隆和分子标记辅助育种奠定了基础(何光华等, 2000)。

对野败型珍汕97A、IR24及其F2群体中的极端不育株研究发现, ISSR引物UBC2835可在珍汕97A和IR24两亲本中检测出多态性, 在珍汕97A中扩增片断长度为420 bp, 而在恢复系中扩增片断的长度为400 bp, 且在210个极端不育株中只找到15个交换类型, 表明ISSR-400与恢复基因紧密连锁(景润春等, 2000)。将ISSR标记转换成SSLP标记OSR33后, 连锁分析获得与ISSR标记相同的结果, 标记与恢复基因的遗传距离为3.58 cM。

1.2 CMS-BT恢复基因的分子标记

水稻BT型细胞质雄性不育系是粳型杂交稻中最主要的类型, 其恢复基因*RF1*主要来源于籼稻, 为1对基因。Shinjyo(1975)用染色三体和遗传连锁分析技术确定了*RF1*基因在第10染色体上, 与叶色缺绿基因*FGL*和浅色叶基因*PGL*连锁。Yu等(1992)及Akagi和Yokozeki (1996)用分子标记证明了*RF1*位于第10条染色体上。通过对近等基因系的RAPD分析, Ichikawa等(1997)找到了恢复材料中特有的fL601片断, 并将其转化为SCAR标记, 与恢复基因的交换率约为4%。Komori等(2003)将9个位于第10染色体上RFLP标记转化为PCR标记后, 用包含1 042个单株的分离群体将*RF1*基因定位于标记S12564 Tsp509I和C1361 MwoI之间0.3 cM范围内。在此基础上, 以标记S12564 Tsp5091为起点, 对*RF1*基因更精确定位后, 通过构建覆盖*RF1*候选基因区的λ噬菌体重叠群克隆及互补试验, 成功克隆了*RF1*基因(Komori et al., 2004)。Kazama和Toriyama (2003)、Akagi等(2004)及Wang等(2006)都成功通过图位克隆法克隆了*RF1*基因。我国生产上所用的BT型细胞质雄性不育恢复系的恢复基因来源于IR8, 曾推测其可能与前面研究的日本水稻材料中的*RF1*来源不同(滕利生和申宗坦, 1996)。但梁国华等(2001)利用分布在水稻第10染色体且位于*RF1*区段的探针对在我国广泛应用的BT型细胞质雄性不育恢复系C9083的恢复基因进行了分子标记定位, 表明这个恢复基因与已报道的*RF1*基本上位于同一位点, 认为C9083中的恢复基因就是*RF1*。

1.3 其他类型胞质不育恢复基因鉴定和分子标记

红莲型(CMS-HL)是另一大类水稻雄性不育细胞质。Huang等(2003)在恢保回交群体中成功地筛选出CMS-HL的恢复基因*RF5(t)*的SSR标记, 并将恢复基因定位于第10染色体上。为了确定CMS-HL的恢复基因是否与CMS-WA(*RF4*)、CMS-BT(*RF1*)的恢复基因不同, Liu等(2004)对3个BCF1群体进行了RAPD和SSR标记分析, 鉴定出两个恢复基因*RF5*、*RF6(t)*, 它们虽然都位于第10染色体上, 但是与*RF1*、*RF4*位于不同的区域。一个SSR标记RM3150与*RF5*共分离, 另两个标记RM1108、RM5373位于其两侧, 距离分别为0.9 cM和1.3 cM。*RF6(t)*则与RM5373共分离, 两侧的RM6737和SBD07标记都与其有0.4 cM的距离 。

Tan等(2004)报道了利用196个保持系和62个恢复系筛选鉴定出滇型(CMS-Dian)细胞质不育系恢复基因*RF-D1(t)*的两个SSR分子标记OSR33和RM228。用不育系和恢复系杂交的F2代育性分离群体对这两个分子标记进行验证, 发现利用OSR33和RM228标记筛选恢复基因的准确率分别为96.2%和91.7%, 认为这两个标记可以用来进行恢复基因*RF-D1(t)*的辅助选择, 其中OSR33使用起来更为有效。

ms-CW型雄性不育胞质来自于野生稻种*Oryza rufipogon*, 其恢复基因只存在于该细胞质的来源种, 并经杂交实现了向栽培种的转育。最近Fujii和Toriyama(2005)利用SCAR和SSR

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

标记将该恢复基因定位在第4染色体上, 所找到的最近的一个SSR标记距恢复基因仅0.6 cM。

2 油菜

油菜细胞质雄性不育系类型较多, 主要有同源和异源细胞质雄性不育两种, 同源雄性不育细胞质来源于油菜栽培种本身, 如pol CMS和nap CMS, 异源雄性不育细胞质来源于芸薹属或十字花科近缘种, 如Ogu CMS、tour CMS (袁美等, 2002)和Nsa CMS (胡琼等, 2004), 往往比同源不育胞质的不育性稳定(付春华和余龙江, 2005)。目前生产上主要应用的油菜细胞质雄性不育系统为pol CMS和ogu CMS, 恢复基因的分子标记研究也主要集中于这两个不育胞质, tour CMS的恢复基因分子标记研究也有少许报道。

大量研究表明, pol CMS 的恢复基因为1～2 对主效基因 (Yang and Fu, 1990)。Jean 等(1997)在分别含有恢复基因*RFp1*和*RFp2*的父本配制BC1回交群体中, 鉴定出与恢复基因紧密连锁的10个RFLP标记以及1个RAPD标记, 其中一个RFLP 标记cRF1b与*RFp1*和*RFp2*完全连锁, 认为 pol CMS 两个恢复基因 *RFp1* 和 *RFp2* 极可能是位于第 18 连锁群上的等位基因。他们(Jean et al., 1998)还对近等基因系法(near isogenic lines, NILs)和群分法(bulked segregation analysis, BSA)定位恢复基因进行了比较, 发现这两种方法都受到一定遗传因素的限制, 但是在恢复基因分子标记定位的效率上没有明显的差别。用湘油13的突变体681A和恢复系714杂交, Liu等(2005)以F2代分离群体进行了恢复基因遗传和定位研究, 发现育性恢复受单一显性基因控制, 找到的RAPD标记$Sl039_{520}$与恢复基因的遗传距离为5.47 cM。利用这个标记进一步研究还发现恢复基因可能来源于恢复系的芥菜型父本。王俊霞等(2000)利用优质杂交种华杂3号与保持系构建回交群体, 鉴定出与pol CMS育性恢复基因*RFp*连锁的两个RAPD标记$S1019_{720}$和$S1036_{810}$。转换成的SCAR标记在含138个单株的回交群体中的连锁情况与原来各自的RAPD标记相同, 遗传距离分别为5.8 cM和12.3 cM。将这些标记与抗菌核病基因的分子标记联合起来应用, 实现了对恢复基因和抗病基因的同时筛选, 在较短时间内提高了恢复系的抗病性(Wang et al., 2000)。

Ogu CMS是通过种间有性杂交获得的, 其细胞质和恢复基因都来源于萝卜, 分别通过有性杂交和体细胞杂交转入油菜(Giancola et al., 2003)。Delourme等(1998)利用3个分离群体鉴定出与 Ogu CMS 恢复基因完全连锁的 4 个RAPD标记, 并将转移到甘蓝型油菜中带有恢复基因的萝卜染色体片段定位在第 15 连锁群上。Bartkowiak-Broda和Poplawska(1999)利用同工酶标记和RAPD标记进行辅助选择, 获得了低硫苷及恢复基因纯合的植株, 从根本上解决了甘蓝型油菜Ogu CMS恢复系的恢复基因与硫苷合成基因连锁的问题。在萝卜中有3个恢复基因 *RF1*、*RF2* 和 *RF3* 都能使 Ogura 不育胞质的育性恢复, Bett 和 Lydiate(2004)利用BC1、F2和一个有育性分离的随机交配群体中可育株自交后代群体R8等3个群体对这3个恢复基因进行定位, 结果将 *RF1* 定位于 Rs1 连锁群的上部区域, *RF2*、*RF3* 则分别定位在连锁群Rs2中部和Rs7的上部区域, 3个恢复基因是不连锁的非等位基因。Brown 等(2003)、Desloire等(2003)及Koizuka等(2003)分别独立地利用图位克隆技术分离获得了一个序列相同的恢复基因。

tour CMS(又称Anand CMS)最早是在芥菜型油菜中发现的(Rawat and Anand, 1979), 其细胞质来源于洋基芥(*Brassica tournefoutii*)。Szasz等(1991)通过体细胞杂交将其从芥菜型油菜转入甘蓝型油菜。Janeja 等(2003)发现其育性恢复受两个显性基因控制, 一个为主效基因 *RFt1*, 一个为微效基因*RFt2*。用一对近等基因系对恢复基因进行标记研究, 鉴定出的AFLP标

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

记中, EACC/MCTT105与*RFt1*连锁, 遗传距离为 18.1 cM, 与 *RFt2* 相距 33.2 cM。另一标记 EAAG/MCTC80 位于 *RFt1* 另一侧, 与之相距 18.1 cM。这种分子标记与恢复基因的距离较大, 用于分子标记辅助选择的效率往往不高。

Nsa是我国具有自主知识产权的异源细胞质雄性不育系(胡琼等, 2004), 其3系的成功配套使其在杂种优势利用中的应用成为可能。但由于其恢复基因仅来源于其细胞质来源种, 培育新的恢复系必须通过杂交转育, 因而其恢复基因的分子标记鉴定至关重要。我们通过体细胞杂交已成功将恢复基因转移到甘蓝型油菜中, 利用 F2 分离群体获得了一个与恢复基因紧密连锁的 AFLP标记, 与恢复基因的遗传距离在2.0 cM左右, 为恢复基因的进一步克隆和分子标记辅助选择奠定了基础。

3 小麦

小麦多种雄性不育细胞质中T型小麦雄性不育细胞质稳定性最好, 但其恢复系难找。关荣霞等(2001)将恢复系与不育系杂交, 建立了含147个单株的F2代分离群体, 通过群分法用460个随机引物进行RAPD分析, 筛选到与恢复基因的遗传距离为 3.4 cM 标记 $OPII8_{1260}$。以同一组合的亲本及其147株F2分离群体单株为材料, 用43个ISSR引物对两个亲本进行扩增, 发现引物UBC2808、UBC2848在亲本间以及可育池和不育池间都能产生稳定一致的多态性。用这2个引物在F2群体中扩增, 经连锁分析证明这2个标记与小麦T 型细胞质雄性不育恢复基因 *RF6* 连锁, 遗传距离分别为 7.9 cM 和 4.9 cM(关荣霞等, 2002)。以 T 型细胞质雄性不育系75-3369A×恢复系7269-10的F2群体为材料进行恢复基因分子标记定位, 张萃等(2003)通过对230对SSR引物的筛选, 获得了 2个分别与2个主效恢复基因连锁的SSR标记Xgwm136-261和Xgwm550-238。这两个标记与恢复基因之间的遗传距离分别为6.7 cM和5.1 cM, 并将该恢复基因定位在 1AS 和 1BS 染色体上。

K型小麦细胞质雄性不育系是很有应用潜力的理想不育类型。利用 KJ5418A/ /911289/ LK783三交组合的F1分离群体中极端不育株和可育株构建不育池和可育池, 刘保申等(2002)研究恢复系LK783中恢复基因的分子标记。通过筛选 418 个 RAPD、33 个 ISSR 和 79 对 SSR 引物后, 获得了与恢复基因连锁的1个RAPD标记 OPK18450、1个ISSR标记UBC-845800和4个 SSR 标记 Xgwm11 、Xgwm18 、Xgwm264a 和 Xgwm 273。其中OPK18450 和UBC-845800与恢复基因的遗传距离较远, 分别为(15.07 ±6.28) cM和(8.20 ± 4.85) cM, 而Xgwm11 、Xgwm18 和Xgwm273与恢复基因的遗传距离为(6.54± 4.37) cM , Xgwm264a与恢复基因的遗传距离为 (5.71±4.10) cM。利用中国春缺体四体系和双端体系进一步将这些分子标记定位于 1BS 上, 说明 LK783 的育性恢复基因位于 1BS 上。上述标记应用于育种中恢复基因的辅助选择取得了一定的效果。

为寻找小麦V型细胞质雄性不育恢复基因的分子标记, Liu等(2002)用V911289A//济南13/ 97美斯6三交F1代分离群体的极端不育株和极端可育株分别建立不育池和恢复池, 利用1BS和1DS上的SSR引物对两池和亲本进行了多态性分析研究, 发现上述K型细胞质雄性不育恢复基因所在的 1BS 上的 4 个引物 GWM11、GWM18、GWM264和GWM273的扩增带型在两亲本间有稳定差异, 而1DS上没有找到有差异的引物。但是通过在分离群体上验证后发现这4个1BS上的SSR标记与育性恢复基因间的交换值均大于50%, 认为V型不育系不适于用三交 F1 代分离群体进行遗传距离分析。因而V型细胞质雄性不育恢复基因的分子标记研究尚未取得实质性进展。

4 棉花

棉花中有重要利用价值的雄性不育胞质有

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

CMS-D2和CMS-D8两种, 其育性恢复受一对显性基因控制, 其中来自于D2的恢复基因*RF1*可恢复两种不育胞质的育性, 而来自于D8的恢复基因 *RF2* 仅能恢复 CMS-D8 的育性。两恢复基因非等位, 但在同一染色体上, 相距0.93 cM (Zhang and Stewart, 2001a, 2001b)。郭旺珍等(1997)首次报道了与棉花细胞质雄性不育恢复基因连锁的 RAPD-PCR 标记。他们采用一个有育性分离的回交群体构建成不育和可育DNA池, 用425个随机引物筛选获得一个引物OPV_{15}的扩增产物, 在92个F2分离群体单株中检测发现该标记与恢复基因呈现连锁, 具有明显的协同分离, 交换值为(13.0±2.6)%。利用3个不育系与恢复系杂交的F2育性分离群体, Liu等(2003)筛选了1 025个RAPD引物和282对SSR引物, 获得了两个RAPD标记, 与 *RF1* 距离在0.1～1.2 cM 之间, 两个共显性的 SSR 标记与 *RF1*的距离在0～1.2 cM之间, 并利用非整倍体将 *RF1* 定位于第 4 染色体上。利用这些分子标记与抗虫Bt基因的PCR标记相结合, 在短期内成功地聚合了恢复和抗虫基因, 从 100 个BC2F1的单株中, 筛选出10株*RF*和*BT*基因均为纯合的单株, 大大提高了多目标性状聚合的效率(柳李旺等, 2003)。

Zhang 和 Stewart(2004)在 3 个回交群体中利用RAPD标记鉴定出2个与恢复基因*RF2*紧密连锁的标记$UBC111_{3000}$、$UBC188_{500}$和2个与 *RF1* 紧密连锁的标记$UBC169_{700}$、$UBC659_{1500}$, 其中$UBC188_{500}$与*RF2*相距2.9 cM, 并将$UBC188_{500}$、$UBC169_{700}$ 和$UBC659_{1500}$转换为 STS 标记。对棉花育种品系扫描后发现$UBC188_{500}$仅存在于恢复株系及澳洲的野生棉中。随后他们利用恢复系 D8R 与常规品种杂交建立的F2群体进行连锁分析, 结果表明, 在此群体中$UBC188_{500}$与*RF2*的交换率为5.26%, 验证了测交群体中获得的这一分子标记在育种选择中良好的适用性。

最近Feng等(2005)利用BSA法在回交群体中筛选恢复基因 *RF1* 的 RAPD 标记, 获得了$UBC147_{1400}$、$UBC169_{800}$、$UBC607_{500}$ 和$UBC679_{700}$ 等 4 个与 *RF1* 共分离的标记, 其中$UBC169_{800}$与以往鉴定出的$UBC169_{700}$ (Zhang et al., 2005)共分离, 并与 *RF1* 相距 4.5 cM。同时将 Zhang 和 Stewart(2004)报道的另一个RAPD标记$UBC659_{1500}$定位于距*RF1*基因2.7 cM、距$UBC169_{800}$标记 1.8 cM 处。利用这些新的RAPD标记转换成的STS标记, 均在分离群体的可育株及恢复品系中只扩增出一条与恢复基因连锁的特征带, 表明这些分子标记可以有效地用于棉花杂种优势利用中恢复系的分子标记辅助选择。

5 玉米

玉米中有3种主要的细胞质雄性不育类型, 其中T-CMS的育性恢复基因是两对显性基因 *RF1*和*RF2*, S-CMS和C-CMS恢复基因分别是 *RF3* 和 *RF4*(Cui et al., 1996)。在玉米细胞质雄性不育研究中, T-CMS是研究CMS恢复基因的一个模型。Wise 和 Schnable(1994)用 5 个群体进行恢复基因定位, 探明了 *RF1* 位于第3条染色体的UMC97和UMC92之间, 距UMC97标记1.1 cM; *RF2*位于第9条染色体上的UMC-153和SUS1标记之间, 与UMC153的遗传距离为 3.8 cM。

玉米 S-CMS 育性恢复受显性基因 *RF3* 控制, Kamps和Chase(1997)利用RFLP技术将*RF3*定位在第2染色体长臂上, 距RFLP标记whpl与BNL17.14均为6.4 cM。通过对CMS-唐徐回交群体的RFLP分析, 石勇刚等(1997)也将*RF3*定位在第 2 染色体上, 与两侧的分子标记 UMC-36A 和 UMC49 遗传距离分别为 12.7 cM 和 4.8 cM。同时采用 BSA 法, 筛选 340 个 RAPD 引物后, 找到了一个与 *RF3* 距离仅为 2.7 cM 的 RAPD 标记。为了更精确地定位 *RF3* 基因, 王泽立等(2001)利用一对近等基因系和回交群体进行 AFLP 分析, 获得了重复性强、不育亲本

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

和不育单株中特有的RR_6标记。回交群体检测发现该标记与恢复基因 *RF3* 位点相距 2.0 cM, 并成功将其转化成 SCAR 标记。该 SCAR 标记表现为在所有不育个体中均出现0.5 kb的特征带, 而93%的可育个体无此特征带, 可用于育种早期世代对 *RF3* 基因的间接选择。

汤继华等(2001)用F2及BC1育性分离群体鉴定出了一个由引物对bnlg2307扩增出的SSR标记与玉米C-CMS另一个育性恢复基因*RF4*连锁, 但遗传距离较远, 为12.3 cM, 并将其定位于第 8 染色体的短臂上,与 RFLP 探针 npi220 和 csu29 连锁。上述玉米 CMS 育性恢复基因分子标记定位不仅为不育系和恢复系的早期辅助选择提供了有效的分子标记, 而且为进一步从基因文库中分离育性恢复基因提供了必需的分子探针。

6 展望

杂种优势利用是提高作物产量的重要途径, 细胞质雄性不育系统作为杂种优势利用的主要授粉控制系统,比细胞核不育系统、自交不亲和系及化学杀雄等具有选育容易、杂交种生产成本低、无环境污染等优点, 将会在我国主要作物杂种优势利用中发挥重大作用。细胞质雄性不育恢复基因的分子标记研究是建立恢复基因辅助选择技术的基础,通过紧密连锁的分子标记对恢复基因进行早期世代的选择鉴定, 可避免在恢复系转育过程中大量的测交和种植鉴定, 不仅节约了人力物力, 还可提前一个季节获得鉴定结果, 提高了育种效率和选择的准确性。同时, 恢复基因的分子标记还可以用来筛选育种材料和种质资源, 明确某一不育胞质的恢复基因在资源材料中的分布情况, 既可以鉴定恢复材料, 又能间接鉴定保持系, 如棉花专一地出现的 *RF2* 的分子标记 $UBC188_{500}$ (Zhang et al., 2005)。此外, 通过分子标记手段可对恢复基因进行定位, 明确恢复基因与已知序列的连锁或在基因组及染色体上的位置, 是进行恢复基因图位克隆的基础。目前已克隆出的恢复基因除了玉米T-CMS的*RF2*基因(Cui et al.,1996)是利用转座子标签法克隆的以外, 油菜 Ogura-CMS (Brown et al., 2003; Desloire et al., 2003; Koizuka et al., 2003)、萝卜 Kos-CMS (Desloire et al., 2003)、矮牵牛PET-CMS (Bentolila et al., 2002)和水稻 BT-CMS (Kazama and Toriyama, 2003; Komori et al., 2004; Akagi et al., 2004; Wang et al., 2006)的恢复基因都是通过图位克隆方法获得的。玉米的 *RF2* 基因(GI:1421730)编码类似于乙醛脱氢酶的蛋白质; 矮牵牛的恢复基因(GI:22128590)是由含有 14 次重复的 PPR (pentatricopeptide repeat, PPR)基元序列组成, 编码含592个氨基酸的蛋白质, 与玉米的*RF2*无同源性; 萝卜*RFo*基因(GI:32527602)编码一个含687个氨基酸的蛋白质, 具有线粒体定位前导序列和16个PPR基元序列, 该蛋白质使不育基因编码的蛋白质积累减少从而恢复育性; Kos-CMS恢复基因*RFk1*(GI:32452380)含有16次重复的PPR基元序列, 直接或间接抑制不育基因的表达; 水稻BT-CMS的恢复基因(GI:46091159; GI:41152689; GI:41152689)最近被证明有两个位点 *RF1a* 和 *RF1b*(GI:83744086; GI:83744088), *RF1a* 编码的蛋白质介导 mRNA 的剪切, *RF1b* 的编码产物介导 mRNA 的降解(Wang et al., 2006)。

细胞质雄性不育的恢复基因一般为单基因或少数主效基因, 基因效应不易受环境条件的影响, 鉴定其分子标记多采用杂交F2代或回交一代分离群体, 利用近等基因系也可获得较好的结果, 一般不需要多年多点的试验验证。鉴定出来的分子标记与目标基因的连锁程度越高, 辅助选择效率也就随之提高。目前对上述5种主要农作物的细胞质雄性不育恢复基因, 均鉴定出了遗传距离在 5.0 cM 左右的分子标记(表 1)。除此之外, 向日葵、辣椒、大麦和黑麦等细胞质雄性不育恢复基因的分子标记研究也取得了较好的进展(季静等, 1996; 唐冬英等, 2004; Horn

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

表 1 与细胞质雄性不育恢复基因紧密连锁的分子标记(遗传距离在 5 cM 左右)

Table 1 Molecular markers tightly linked to restorer genes of cytoplasmic male sterility in major crops with genetic distance around 5 cM

作物	细胞质类型	基因符号	标记名称	与基因间距离 (cM)	参考文献
水稻	野败型	*Rf1*	AP1	4.76	何光华等, 2000
			RM258	2.9	何光华等, 2000
		Rf2	RM304	0	Yao et al., 1997
		Rf3	RG532	6.0	Yao et al., 1997
			G4003	3.3	
		Rf4	Y328	0.9	张群宇等, 2000
			Y1210	3.2	
	红莲型	*Rf5*	RM3150, RM1108, RM5373	0, 0.9, 1.3	Liu et al., 2004
	CW 型	*Rf6(t)*	RM5373, RM0737, SBD07	0.0, 0.4, 0.4	Fujii and Toriyama, 2005
油菜	波里马		cRF1b	0.0	Jean et al., 1997
		Rfp	$S1039_{720}$, $S1036_{810}$	5.8	Wang et al., 2000
			$S1039_{520}$	5.47	Liu et al., 2005
	野芥	*Rfsa*	EM150	2.0	胡琼等, 待发表
小麦	T 型	*Rf6*	$OPII8_{1260}$, UBC2848	3.4, 4.9	关荣霞等, 2001; 2002
棉花	D2, D8 型	*Rf1*	$UBC147_{1400}$, $UBC169_{800}$	0.1~0.2	Liu et al., 2003
			$UBC607_{500}$, $UBC679_{70}$	0.0~1.2	
			$UBC659_{1500}$,$UBC169_{800}$	2.7, 4.5	Feng et al., 2005
	D8 型	*Rf2*	$UBC188_{500}$	2.9	Zhang and Stewart, 2004
玉米	T 型	*Rf1*	UMC97, UMC92	1.1, 1.2	Wise and Schnable, 1994
	S型	*Rf3*	E08-1.2, UMC49	2.7, 4.8	石勇刚等, 1997
			RR_6	2.0	王泽立等, 2001

et al., 2003)。这些分子标记的鉴定, 为恢复系的快速准确鉴定提供了技术。在作物育种中, 与抗病基因一样, 育性恢复基因分子标记辅助选择也是应用最多且最为有效的。对于恢复基因来源较单一的异源雄性不育胞质, 如棉花的 D8-CMS、油菜的 Ogura CMS, 在恢复基因的转育过程中, 与其紧密连锁的DNA区域一直保留在其周围, 因而这些恢复基因的分子标记在不同群体中的适用性较强, 在育种中更具利用价值。

通过前述对已鉴定出的恢复基因的分子标记类型分析可以看出, RAPD是应用较多的一种标记, 其操作简便, 不需要预知基因组的序列信息, 只用随机引物扩增即可。但RAPD技术的重复性较差, 需要通过转换成SCAR标记来应用才更可靠。AFLP 和 RFLP 都是较为复杂的技术, 利用这两种技术鉴定出的分子标记除非已转换成为易于操作的常规PCR标记, 如 SCAR、STS 标记, 否则在育种中不易应用。随着各种作物基因组序列信息的不断增加, SSR、SNP、EST 和 SRAP 等在恢复基因分子标记定位和辅助选择中的应用前景将更为广阔。

参考文献

付春华, 余龙江 (2005). 细胞质融合与植物细胞质不育性状改良. 植物学通报 **22**(增刊), 99-107.

关荣霞, 刘冬成, 张爱民 (2001). 小麦 T 型雄性不育恢复基因的遗传分析及 RAPD 标记. 农业生物技术学报 **9**, 154-162.

关荣霞, 郭小丽, 刘冬成, 曹双河, 张爱民 (2002). 小麦 T 型细胞质雄性不育恢复基因 *Rf6* 的 ISSR 标记分析. 中国农业科学 **35**, 1297-1301.

郭旺珍, 张天真, 潘家驹, **Kohel, R.J.** (1997). 棉花胞质雄性不育育性恢复基因的 RAPD-PCR 标记筛

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

选. 科学通报 **42,** 2645-2647.

郝岗平, 陈敏, 杨清 (2003). **植物线粒体与细胞质雄性不育研究进展**. **植物学通报 20,** 549-557.

何光华, 裴炎, 杨光伟, 唐梅, 谢戎, 侯磊, 杨正林, 李永洪 (2000). **野败型杂交水稻恢复基因的** AFLP **标记研究**. **遗传学报 27,** 304-310.

胡 琼, 李云昌, 梅德圣, 方小平, Hansen, L.N., Anderson, S.B. (2004). **属间体细胞杂交创建甘蓝型油菜细胞质雄性不育及其鉴定**. **中国农业科学 37,** 333-338.

季静, 王罡, Belhassen, E., Serievs, H., Berville, A. (1996). **运用** Bulked DNA-RAPD **方法寻找向日葵细胞质雄性不育核恢复基因** *Rf1* **探针研究**. **中国科学 26,** 377-384.

景润春, 何光华, 黄青阳, 朱英国 (2000). **水稻野败型细胞质雄性不育恢复基因的** ISSR **和** SSLP **标记分析**. **中国农业科学 33,** 10-15.

刘保申, 孙其信, 高庆荣, 孙兰珍, 解超杰, 李传友, 倪中福, 窦秉德, 魏艳玲 (2002). **K 型小麦细胞质雄性不育系育性恢复基因的**SSR**分子标记分析**. **中国农业科学 35,** 354-358.

柳李旺, 朱协飞, 郭旺珍, 张天真 (2003). **分子标记辅助选择聚合棉花** *Rf1* **育性恢复基因和抗虫** *Bt* **基因**. **分子植物育种 1,** 48-52.

梁国华, 严长杰, 汤述翥, 翟文学, 朱立煌, 顾铭洪 (2001). BT **型细胞质雄性不育恢复基因的基因定位**. **中国水稻科学 15,** 88-92.

石勇刚, 郑用琏, 李建生, 刘纪麟 (1997). **玉米** S **组** CMS **育性恢复基因的分子标记定位**. **作物学报 23,** 1-6.

滕利生, 申宗坦 (1996). **水稻胞质不育的恢复基因分析**. **作物学报 22,** 142-146

汤继华, 胡彦民, 季洪强, 陈伟程, 季良越, 郑永凯 (2001). **玉米** C **型** CMS **育性恢复基因** *Rf4* **的** SSR **标记**. **河南农业大学学报 35,** 1-3.

唐冬英, 邹学校, 刘志敏, 马艳青, 张竹青, 戴雄泽 (2004). **辣椒胞质雄性不育恢复基因的** RAPD **标记**. **湖南农业大学学报(自然科学版) 30,** 307-309.

王俊霞, 杨光圣, 傅廷栋, 孟金陵 (2000). **甘蓝型油菜** pol-CMS **育性恢复基因的** RAPD **标记**. **作物学报 26,** 574-578.

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 **标记对玉米组育性恢复基因**(*Rf3*)**的研究**. **遗传学报 28,** 465-470.

袁美, 杨光圣, 傅廷栋 (2002). **油菜细胞质雄性不育的分子生物学研究进展**. **中国油料作物学报 24,** 87-90.

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 (2000). **野败型水稻细胞质雄性不育恢复基因** *Rf4* **的分子标记定位**. **遗传学报 29,** 1001-1004.

Akagi, H., and Yokozeki, Y. (1996). A codominant marker closely liked to the rice nuclear restorer gene, *Rf-1*, identified with inter-SSR fingerprinting. Genome **39,** 1205-1209.

Akagi, H., Nakamura, A., Yokozeki-Misono, Y., Inagaki, A., Takahashi, H., Mori, K., and Fujimura, T. (2004). Positional cloning of the rice *Rf-1* gene, a restorer of BT-type cytoplasmic male sterility that encodes a mitochondria-targeting PPR protein. Theor. Appl. Genet. **108,** 1449-1457.

Bartkowiak-Broda, I., and Poplawska, W. (1999). Characteristic of double low winter rapeseed lines with introduced restorer gene for CMS Ogura. Proceeding of 10th International Rapeseed Congress Canberra, (Australia), pp. 172-172.

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

Bett, K.E., and Lydiate, D.J. (2004). Mapping and genetic characterization of loci controlling the restoration of male fertility in Ogura CMS radish. Mol. Breed. **13,** 125-133.

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

Cui, X.Q., Wise, R.P., and Schnable, P.S. (1996). The *Rf2* nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. Science **272,** 1334-1336.

Desloire, S., Gherbi, H., and Laloui, W. (2003).

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

Identification of the fertility restoration locus, *Rfo*, in radish, as a member of the pentatricopeptiderepeat protein family. EMBO Rep. **4,** 588-594.

Delourme, R., Foisset, N., Horvais, R., Barret, P., Champagne, G., Cheung, W.Y., Landry, B.S., and Renard, M. (1998). Characterisation of the radish introgression carrying the *Rfo* restorer gene for the Ogu-INRA cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). Theor. Appl. Genet. **97,** 129-134.

Feng, C.D., Stewart, J.M., and Zhang, J.F. (2005). STS markers linked to the *Rf1* fertility restorer gene of cotton. Theor. Appl. Genet. **110,** 237-243.

Fujii, S., and 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.

Giancola, S., Marhadour, S., Desloire, S., Clouet, V., Falentin-Guyomarch, H., Laloui, W., Falentin, C., Pelletier, G., Renard, M., Bendahmane, A., Delourme, R., and Budar, F. (2003). Characterization of a radish introgression carrying the Ogura fertility restorer gene *Rfo* in rapeseed using the Arabidopsis genome sequence and radish genetic mapping. Theor. Appl. Genet. **107,** 1442-1451.

Horn, R., Kusterer, B., Lazarescu, E., Prüfe, M., and Friedt, W. (2003). Molecular mapping of the Rf1 gene restoring pollen fertility in PET1-based F1 hybrids in sunflower(*Helianthous annuus* L.). Theor. Appl. Genet. **106,** 599-606.

Huang, J.Y., Hu, J., Xu, X., Li, S.Q., Yi, P., Yang, D.C., Ren, F.G., Liu, X.Q., and Zhu, Y.G. (2003). Fine mapping of nuclear fertility restorer gene for HL cytoplasmic male sterility in rice. Bot. Bull. Acad. Sinica **44,** 285-289.

Ichikawa, N., Kishimoto, N., Inagaki, A., Nakamura, A., Koshino, Y., Yokozeki, Y., Oka, M., Samoto, S., Akagi, H., Higo, K., Shinjyo, C., Fujimura, T., and Shimada, H. (1997). A rapid PCR-aided selection of a rice line containing the *Rf1* gene which is involved in restoration of the cytoplasmic male sterility. Mol. Breed. **3,** 195-202.

Janeja, H.S., Banga, S.S., and Lakshmikumaran, M. (2003). Identification of AFLP markers linked to fertility restorer genes for tournefortii cytoplasmic male-sterility system in *Brassica napus*. Theor. Appl. Genet. **107,** 148-154.

Jean, M., Brown, G.G., and Landry, B.S. (1997). Genetic mapping of nuclear fertility restorer genes for the 'Polima' cytoplasmic male sterility in canola (*Brassica napus* L.) using DNA markers. Theor. Appl. Genet. **95,** 321-328.

Jean, M., Brown, G.G., and Landry, B.S. (1998). Targeted mapping approaches to identify DNA markers linked to the *Rfp1* restorer gene for the 'Polima' CMS of canola (*Brassica napus* L.). Theor. Appl. Genet. **97,** 431-438.

Kamps, T.L., and Chase, C.D. (1997). RFLP mapping of the maize gametophytic restorer-of-fertility locus (*Rf3*) and aberrant pollen transmission of the nonrestoring *Rf3* allele. Theor. Appl. Genet. **95,** 525-531.

Kazama, T., and Toriyama, K. (2003). A pentatricopeptide repeat-containing gene that promotes the processing of aberrant atp6 RNA of cytoplasmic male sterile-rice. FEBS Lett. **554,** 99-102.

Komori, T., Yamamoto, T., Takemori, N., Kashihara, M., Matsushima, H., and Nitta, N. (2003). Fine genetic mapping of the nuclear gene, *Rf-1*, that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice (*Oryza sativa* L.) by PCR-based markers. Euphytica **129,** 241-247.

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

Koizuka, N., Imai, R., Fujimoto, H., Hayakawa, T., Kimura, Y., Murase, J.K., Sakai, T., Kawasaki, S., and 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.

Laser, K.D., and Lersten, N.R. (1972). Anatomy

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterility angiosperms. Bot. Rev. **38,** 425-454.

Liu, B.S., Sun, Q.X., Sun, L.Z., Gao, Q.R., Xie, C. J., Dou, B.D., Ni, Z.F., Wei, Y.L., and Zhang, Y. C. (2002). RAPD and ISSR markers of fertility restoring gene for Aegilops Kotschyi cytoplasmic male sterility in wheat. Act. Bot. Sin. **44,** 446-450.

Liu, L.W., Guo, W., Zhu, X., and Zhang, T. (2003). Inheritance and fine mapping of fertility restoration for cytoplasmic male sterility in *Gossypium hirsutum* L. Theor. Appl. Genet. **106,** 461-469.

Liu, X.Q., Xu, X., Tan, Y.P., Li, S.Q., Hu, J., Huang, J.Y., Yang, D.C., Li, Y.S., and Zhu, Y.G. (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.

Liu, Z., Guan, C., Zhao, F., and Chen, S. (2005). Inheritance and mapping of a restorer gene for the rapeseed cytoplasmic male sterile line 681A. Plant Breed. **124,** 5-8.

Rawat, D.S., and Anand, I.J. (1979). Male sterility in Indian mustard. Indian J. Genet. Plant Breed. **39,** 412-418.

Shinjyo, C. (1975). Genetic studies of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in rice. Sci. Bull. Agri. Univ. **22,** 1-57.

Szasz, A., Landgren, M., Fahleson, J., and Glimelius, K. (1991). Characterization and transfer of the cytoplasmic male sterile Anand cytoplasm from *Brassica juncea* to *Brassica napus* via protoplast fusion. Physiol. Plantarum **82,** A29.

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

Tan, X.L., Tan, Y.L., Zhao, Y.H., Zhang, X.M., Hong, R.K., Jin, S.L., Liu, X.R., and Huang, D.J. (2004). Identification of the Rf gene conferring fertility restoration of the CMS Dian-type 1 in rice by using simple sequence repeat markers and advanced inbred lines of restorer and maintainer. Plant Breed. **123,** 338-341.

Wang, J.X., Yang, G.S., Fu, T.D., and Meng, J.L. (2000). Development of PCR-based markers linked to the fertility restorer gene for the Polima cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). Act. Genet. Sin. **27,** 1012-1017.

Wang, Z.H., Zou, Y.J., Li, X.Y., Li, X.Y., Zhang, Q.Y., Chen, L.T., Wu, H., Su, D.H., Chen, Y.L., Guo, J.X., Luo, D., Long, Y.M., Zhong, Y., and Liu, Y.G. (2006). Cytoplasmic male sterility 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 silencing. Plant Cell **18,** 676-687.

Wise, R.P., and Schnable, P.S. (1994). Mapping complementary genes in maize: positioning the *Rf1* and *Rf2* nuclear-fertility restorer loci of Texas (T) cytoplasm relative to RFLP and visible markers. Theor. Appl. Genet. **88,** 785-795.

Yang, G.S., and Fu, T.D. (1990). The inheritance of polima cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* L. Plant Breed. **104,** 121-124.

Yao, F.Y., Xu, C.G., Yu, S.B., Li, J.X., Gao, Y.J., Li, X.H., and Zhang, Q.F. (1997). Mapping and genetic analysis of two fertility restoration loci in the wild-abortive cytoplasmic male sterility system of rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica **98,** 183-187.

Yu, Z.H., Mccouch, S.R., Kinoshita, T., Sato, S., and Tanksley, S.D. (1992). Association of morphological and RFLP markers in rice (*Oryza sativa* L.). Genome **37,** 566-574.

Zhang, G., Lu, Y., and 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, T.S., Lu, Y., Virmani, S., and Huang, N. (1997). Mapping of the *Rf3* nuclear fertility restoring gene for WA cytoplasmic male sterility in rice using RAPD and RFLP markers. Theor. Appl. Genet. **94,** 27-33.

Zhang, J.F., and Stewart, J.M. (2004). Identification of melocular markers linked to the fertility restorer genes for CMS-D8 in cotton. Crop Sci. **44,** 1209-1217.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028

Zhang, J.F., Lu, Y., Adragna, H., and Hughs, E. (2005). Linkage analysis between gametophytic restorer *Rf2* gene and genetic markers in cotton. Crop Sci. **45,** 2363-2373.

Zhang, J.F., and Stewart, J.M. (2001a). CMS-D8 Restoration in cotton is conditional by one dominant gene (*Rf2*). Crop Sci. **41,** 283-288.

Zhang, J.F., and Stewart, J.M. (2001b). Inheritance and genetic relationships of the *D8* and *D2-2* restorer genes for cotton CMS. Crop Sci. **41,** 289-294.

(**责任编辑**: **孙冬花**)

致 谢 审 者

本刊编委会和编辑部对在 2006 **年为本刊来稿进行审阅付出辛勤劳动的各位专家表示衷心的感谢**!

安树青	白克智	白书农	白永飞	曹凯鸣	曹晓风	柴团耀	陈 凡	陈 珈
陈 进	陈家宽	陈锦清	陈立群	陈明生	陈善娜	陈世萍	陈同斌	陈晓亚
陈之端	种 康	程红焱	程祝宽	储成才	崔素娟	戴思兰	邓胜徽	邓秀新
范国荣	范燕萍	方晓华	冯 固	傅承新	傅德志	傅向东	高 峰	高辉远
高锦明	高贤明	葛 颂	公衍道	巩志忠	顾红雅	官春云	郭三堆	郭振飞
韩天富	何晓明	贺金生	贺新强	胡玉熹	胡玉欣	胡赞民	胡征宇	华学军
黄 芳	黄百集	黄宏文	黄建辉	黄荣峰	黄双全	黄学林	黄有国	黄振英
贾 渝	贾继增	贾士荣	蒋高明	焦德茂	景新明	孔宏智	孔昭宸	李春俭
李洪清	李建强	李良壁	李美茹	李明军	李培军	李西林	李玉中	李振基
李镇清	李中奎	梁 峥	廖文波	林金星	林忠平	凌宏清	刘 宁	刘爱华
刘本叶	刘春明	刘公社	刘国祥	刘家尧	刘杏忠	刘耀光	刘永定	刘兆普
卢宝荣	卢从明	卢艳花	鲁迎青	路安民	吕应堂	罗静初	罗毅波	麻 密
马克明	马庆虎	马友鑫	孟 征	潘根兴	潘庆华	彭新湘	钱 前	瞿礼嘉
曲乐庆	饶广远	任 毅	任东涛	沈世华	盛世法	施和平	施苏华	石 雷
石培礼	宋纯鹏	宋松泉	宋艳茹	宋永昌	苏都莫日根	苏智先	孙建新	孙敬三
孙卫宁	孙勇如	孙宗修	谭敦焱	汤彦承	唐 亚	唐定中	唐克轩	唐祚舜
田世平	汪小全	王 斌	王 刚	王 台	王 伟	王根轩	王广策	王慧中
王建波	王金生	王亮生	王宁宁	王仁忠	王小菁	王秀杰	王学臣	王印政
王英典	王英强	王永栋	王哲之	王政权	吴 鸿	吴 垠	吴云康	吴征彬
夏光敏	夏桂先	谢 旗	谢宗强	徐克学	徐朗然	徐云远	徐正进	许大全
许亦农	许振柱	许政恺	薛红卫	薛勇彪	阎秀峰	杨淑华	杨维才	杨跃生
姚一建	叶 德	叶和春	叶庆生	叶万辉	叶秀麟	尹林克	于飞海	于明坚
虞 泓	袁 明	袁育康	袁志友	翟文学	张爱民	张奠湘	张福锁	张红生
张金屯	张劲松	张立新	张其德	张荣铣	张蜀秋	张宪省	张相歧	张义明
张英侠	赵 洁	赵博光	赵德修	赵可夫	赵一之	赵遵田	郑成超	郑元润
周广胜	周庆源	周世良	朱 诚	朱 祯	朱根发	朱相云	朱新宇	朱玉贤
邹 琦	左建儒							

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t26-028