文章编号: 1005-0906(2015)02-0007-07

DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20150202

植物细胞质雄性不育分子机制研究进展

王继玥,柯剑鸿 (重庆市农业科学院玉米研究所,重庆 401329)

摘 要:植物细胞质雄性不育(CMS)主要是由核基因组和细胞质基因组不协调所导致。作为遗传育种的有力 工具,细胞质雄性不育对于杂种优势的利用十分重要。长期以来对CMS机理的研究却远滞后于对CMS的利用。本 文从嵌合ORF、线粒体功能缺陷、细胞程序性死亡以及MADS-box基因的功能等几个方面综述植物细胞质雄性不育 分子机制的研究进展,为进一步探索其机制提供参考。

关键词:细胞质雄性不育;花粉败育;线粒体 中图分类号: S513.035

文献标识码:A

Research Progress on Molecular Mechanism of Cytoplasmic Male Sterility in Plant

WANG Ji-yue, KE Jian-hong

(Maize Research Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China)

Abstract: Cytoplasmic male sterility(CMS) in plant is responsible for genome barriers between nuclei and mitochondria. As a powerful tool for genetic breeding, CMS plays an important role in utilization of heterosis. For a long time, the study on the mechanism of CMS is far lagging behind in the use of CMS. The research progress on cytoplasmic male sterility in plant was reviewed in the aspects of chimeric ORF, mitochondrial function defect, PCD and the function of MADS-box gene. This review provided theoretical reference for further studies on the mechanism of CMS.

Key words: Cytoplasmic male sterility(CMS); Pollen abortion; Mitochondria

植物细胞质雄性不育(CMS)作为一种母性遗传 性状,不能产生正常的雄性配子,但雌性配子正常可 育,是杂交育种的重要工具。目前,已在多种植物中 发现细胞质雄性不育现象,对其败育机制的探索也 从未间断。前人已经从细胞学、生理学、分子生物学 等不同方面对植物细胞质雄性不育的机制进行过大 量研究,其败育的细胞学特征主要表现为绒毡层细 胞凋亡,生理学反应是线粒体能量代谢紊乱,分子机 制可以概括为核基因组与线粒体基因组互作导致核 质不协调,从而干扰正常的代谢过程。本文综述近 年来植物细胞质雄性不育相关的研究进展,为深入

作者简介:王继玥(1984-),男,四川南充人,助理研究员,博士,主要 从事玉米雄性不育研究。 E-mail:acute2803764 @163.com 柯剑鸿为本文通讯作者。E-mail:120386080@qq.com 探讨植物CMS的发生机制,更好地应用于不育化制种提供参考。

1 嵌合*orfs*与CMS

植物 CMS 是由线粒体基因与核基因的互作所 导致。目前已经在许多植物的线粒体基因组上发现 了与 CMS 相关的嵌合阅读框 (open reading frame, ORF),如水稻 CMS 胞质中特有的 orf B^[1]、玉米 CMS-T 中发现的 T-urf13^[2]。国外学者把与 CMS 相关的基 因或者蛋白称为 MCAG(CMS-associated gene or protein)。核基因正向调控线粒体、叶绿体等细胞器基 因的表达,而 MCAG 也可以产生信号反向调控核基 因的表达。花粉育性与这种正向和反向的信号密切 相关^[3]。表1列举了近来国内外学者在不同植物中 发现的与 CMS 相关的嵌合 orfs,其中以在水稻中的 发现最具有代表性^[4]。经过长期深入的研究,刘耀 光证明线粒体嵌合基因 WA352 编码的蛋白与核基 因编码的线粒体蛋白 COX11 互作, WA352 在野败型

收稿日期: 2014-10-17

稻CMS绒毡层中大量积累,抑制了细胞色素氧化酶 (cytochrome oxidas, COX)清除活性氧(reactive oxygen,ROS)的能力,从而引起绒毡层细胞提前凋亡,导 致花粉败育^[7]。

1.1 CMS相关嵌合 orf 的分子特征

目前已发现的植物CMS相关的嵌合orf都具有 一些典型的特征。CMS-orf是由线粒体基因组重排 产生的,这些特异的嵌合序列往往来源于线粒体保 守基因或非编码 RNA,如小麦 K型 CMS 中发现的 Ks3^[5],它含有的嵌合 orf 编码许多呼吸链复合体亚 基,包括ATP4、ATP6、NAD3、NAD9、COX1、和COX3 等:与CMS相关的嵌合orf通常位于线粒体呼吸链相 关基因的侧翼区,这些CMS相关嵌合orf编码的蛋白 都具有跨膜结构域,如水稻CMS相关orf113编码的 蛋白N末端具有跨膜结构域¹⁶;部分CMS相关嵌合 orf的嵌合区域位于5、端,如水稻 orf113 的5、侧翼 序列与线粒体nad9基因-151到+11区域嵌合;当引 入育性恢复核基因,可以抑制线粒体嵌合 orf 的表 达,从而恢复育性。目前发现多数育性恢复基因编 码的蛋白都含有三角状五肽重复区(pentatricopeptide repeat, PPR), 它与特异的 RNA 序列结合, 促进转 录后剪接、加工、编辑等顺式调控过程[7.8]。

与CMS相关的嵌合 orf 通常与线粒体呼吸链相 关基因共转录。Keisuke等通过全基因测序与RNA 杂交相结合的方法,揭示嵌合 orf113 是水稻 RT98-CMS相关基因, orf113 与 atp4 和 cox3 共转录,其编码 的蛋白具有跨膜结构域。Zabalad 等¹⁹认为,共转录 的 orf 355/orf 77 与玉米 CMS-S 相关,而组成 orf 77 的大部分序列来自 atp9。嵌合 orf 与线粒体呼吸链 相关基因协同表达,可能影响线粒体呼吸链复合体 亚基的功能,导致线粒体功能紊乱,从而引起败育。

1.3 嵌合 orf编码细胞毒性蛋白

Wang等¹⁰¹在正常可育水稻中过表达orf79基因, 结果导致75%的花粉败育,但对雌蕊育性无任何影 响,证明线粒体开放阅读框在水稻雄性不育中的作 用。Hisayo等¹¹¹利用农杆菌介导法将带有一段线粒 体靶序列的orf79基因转入水稻中,嵌合基因编码的 蛋白ORF79与线粒体ATPaseγ亚基靶向序列以融合 蛋白表达,对植物生长产生毒性作用,说明ORF79 毒性的表达依赖于与线粒体靶基因的结合,当引入 具有 PPR 重复区的恢复基因后,抑制了细胞毒性作 用而恢复育性。这些研究结果说明,与植物 CMS 相 关的嵌合orf 往往都编码细胞毒性蛋白,通过干扰线 粒体的正常功能而导致败育。

1.2 嵌合 orf与线粒体呼吸链相关基因共转录

	表	1	CMS	相关嵌	合 orfs	
Гable	1	CM	IS-ass	ociated	chimeric	orfs

基 因	物 种	方 法	参考文献
Gene	Species	Method	Reference
orf463	radish	Complete mitochondrial genome sequence	Jee et al.,2013
orf125	radish	Southern/Northern hybridization and Immunological analysis	Iwabuchi et al.,1999
WA352	rice	RNA blotting	luo et al.,2013
orf126	rice	Complete Sequence of mitochondrial genomes	Ste 'phane et al.,2012
orf113	rice	Whole Genomic Sequencing and Northern Blot	Keisuke et al.,2013
orf 288	Brassica juncea	Genome walking and (CR)-RT-PCR	Bing et al.,2012
orf108	Brassica juncea	Mitochondrial genome sequence and (CR)-RT-PCR	Pankaj et al.,2012
T-urf 13	maize	Molecular hybridization prokaryotic expression	Dewey et al.,1986,1987; Wise et al.,1987
orf355/orf77	maize	Complete Sequence of mitochondrial genomes	Allen et al.,2007
orf522	sunflower	Molecular hybridization prokaryotic expression	Horn et al.,1996
orf239	sugar beet	The entire genome sequencing and cDNA sequencing	Satoh et al.,2004
orf220	Brassica juncea	Southern hybridization	Zhang et al.,2003
orf507	Chili Pepper	LA-PCR and RT-PCR	Gergely et al.,2010

2 线粒体氧化磷酸化复合体与CMS

植物线粒体基因组编码部分呼吸链复合体亚基,其基因序列不仅在不同物种中高度保守,而且数量也基本相同¹¹²¹,说明线粒体编码的呼吸链复合体

亚基基因对于线粒体的功能具有重要作用。研究表明,植物 CMS 可能与线粒体氧化磷酸化复合体 (OPC)功能紊乱有关,OPC包括线粒体内膜上的5个 复合体,复合体I(NADH脱氢酶)、复合体II(琥珀酸 脱氢酶)、复合体 III(细胞色素还原酶)、复合体IV(细 胞色素氧化酶)、复合体V(F₁F₀-ATP 酶)^[13]。

2.1 ATP 酶与 CMS

植物体中大部分的ATP都是由复合体V(F₁F₀-ATP 酶)产生的,同时ATP 酶还水解 ATP 生产 ADP 和无机磷酸^[14]。能量代谢平衡对植物的生长发育十 分重要,ATP供应不足必然影响花的正常发育过 程。万翠香等15的研究表明,水稻不育系减数分裂 时期活性氧爆发使 ATP 酶和 NADH 脱氢酶活性降 低,从而导致线粒体DNA降解,说明水稻CMS与线 粒体抗氧化能力直接相关。Akagi 等¹¹⁰的研究发现, 水稻CMS的线粒体复合体V(F1F0-ATP 酶)存在功能 缺陷。嵌合orfH79与水稻BT型细胞质嵌合orf79同 源,ORFH79与线粒体呼吸链复合体Ⅲ(细胞色素还 原酶)亚基 P61 互作, 使复合体 Ⅲ活性降低, 从而影 响水稻CMS-HL 胞质F₀F₁-ATPa复合体的结构,导 致ATP合成受阻以及ROS大量积累,作为反向调控 信号影响水稻花粉的正常发育[17]。Zhang等[18]发现, 水稻 HL CMS 系中 ATP 酶的活性要明显低于其保 持系。

2.2 NADH脱氢酶与CMS

NADH 脱氢酶又称为复合体 I,复合体 I催化 线粒体氧化磷酸化的第一步反应,它偶联电子传递 给泛醌,复合体 I 是活性氧产生的主要部位。人类 多种遗传病都是由NADH脱氢酶缺陷导致线粒体功 能紊乱而引发的。虽然NADH脱氢酶缺陷对植物而 言是非致死的,植物可以通过交替氧化酶(alternative oxidase, AOX)系统进行电子传递, 但该过程不产 生ATP。但是,NADH脱氢酶缺陷会影响植物能量 代谢过程。Huang等^[19]通过蛋白质双向电泳和荧光 定量PCR发现,在玉米不育系中NADH-泛醌氧化还 原酶 B17.2 和 51 kDa 亚基下调表达。植物中抗坏血 酸的合成也与复合体 [有关,复合体] 的下调表达 表明抗坏血酸合成减少,可能影响抗坏血酸谷胱甘 肽循环,进而降低大多数抗氧化酶的活性。线粒体 抗氧化力降低,导致活性氧(ROS)爆发,从而诱导细 胞凋亡,导致败育。Shen等^[20]在玉米C胞质不育系 中发现了10个miRNA,其中miRNA-4的靶基因具 有 NADH 脱氢酶结构域, 推测可能是 NADH 脱氢酶 亚基之一;在四分体时期,不育系miRNA-4的表达 量远远低于其保持系,进一步说明NADH脱氢酶缺 陷可能与玉米C胞质花粉败育有关。Yan 等[21]的研 究证明,水稻不育系 NADH 脱氢酶的活性明显低于 其保持系,NADH脱氢酶的缺失可能与水稻CMS有 关。线粒体功能完整对于植物花的发育至关重要, 因为雄性配子的发育需要大量的能量,因此ATP的 供给、电子传递以及抗氧化力的维持对植物的育性可能起关键作用。

2.3 细胞色素氧化酶(COX)与CMS

细胞色素氧化酶(complex IV)是呼吸链的末端 酶,接受细胞色素C的电子,跨膜运输两个质子,还 原氧生成水。细胞色素氧化酶是线粒体膜的生物标 记,酶活性可以反应出线粒体膜的完整性。细胞色 素氧化酶的功能在动植物中高度保守,细胞色素氧 化酶由多亚基组成,并且由核基因与线粒体基因共 同编码。如人类细胞色素氧化酶由3个线粒体基因 编码的膜蛋白与10个核基因编码的蛋白共同组装 而成。研究表明,人类多种疾病与细胞色素氧化酶 功能缺陷有关,如细胞色素氧化酶亚基缺失,氧化还 原中心异常以及功能组成因子缺陷会导致多种神经 疾病^[22-24]。

细胞色素氧化酶缺陷会破坏呼吸链氧化还原平衡,使线粒体膜受损,从而释放大量凋亡因子,诱导细胞凋亡,最终导致花粉败育。周涵韬等^[25]的研究表明,水稻不育系单核期花药细胞色素氧化酶复合体结构改变,其活性明显低于保持系,使能量供应不足而导致败育。张鸿等^[26]发现,马协型水稻细胞质雄性不育系线粒体基因组中cox2基因存在两个拷贝,Northern blot证明其分别转录成不同的转录本,并且不育系线粒体呼吸链复合物 IV 的活性明显低于其保持系。汪静等^[27]的研究表明,玉米 CMS-C系中cox2基因编辑频率明显低于其保持系,不育系不完全编辑产生异常转录本的概率明显高于其保持系。细胞色素氧化酶相关基因结构和功能异常可能与植物细胞质雄性不育有关。

3 细胞程序性死亡与CMS

细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)对 于植物的生长发育至关重要。植物通过PCD可以 消除损伤、病变和衰老的细胞,以维持正常生理代谢 活动。细胞程序性死亡有严格的时序控制,是与细 胞分裂一样重要的基本代谢过程。细胞凋亡伴随植 物发育的整个过程,它影响功能细胞的发育,决定雌 雄异花和雌雄异株植物的性别,保证功能孢子和配 子体的发育以及授粉后花粉管的生长等。

3.1 小孢子发育过程与PCD

在配子体发育过程中,花药细胞内层的绒毡层 对小孢子的释放以及营养供给十分重要。绒毡层细 胞发育异常必然影响花粉的育性^[28]。研究表明,在 植物雄花发育过程中,花药绒毡层细胞的程序性死 亡(PCD)与雄性不育有关。已有报道玉米 CMS-S 的

配子败育与PCD有关。玉米CMS-T败育的第一表 征即减速分裂后绒毡层细胞的快速降解,这可能是 由某些基因突变所导致的[29]。刘加周[30]通过构建花 药SSH文库发现,4个与PCD有关的基因在不育系 中上调表达,而天冬氨酸消化酶在不育系中下调表 达,推测其为抑制细胞凋亡的基因。随后Huang等¹⁰ 发现,相对于保持系,玉米C胞质小孢子在单核期提 前发生细胞凋亡,说明细胞程序性死亡(PCD)可能与 玉米C胞质花粉败育有关。Wu等³¹通过研究玉米 线粒体膜气孔的形成,发现urf-13基因通过诱导 PCD而导致雄性不育。穆蕊等^[32]的研究表明,玉米 CMS-S的花粉败育与花药绒毡层细胞的提前凋亡 和小孢子细胞的程序性死亡有关。目前,在水稻、玉 米、小麦等植物中已发现不育系绒毡层细胞比保持 系过早或延迟凋亡,推测这可能是植物CMS共有的 现象。

3.2 诱导 PCD 的基因

研究表明,启动PCD程序的基因发生突变,或 由于环境因素的改变使 PCD 程序不能启动或提前 终止死亡程序都可能会导致花粉败育。拟南芥中 msl是调控花药绒毡层细胞PCD发生的关键基因^[3], 在msl突变体花药中,小孢子从四分体中释放后,整 个绒毡层细胞和小孢子细胞质出现异常的颗粒状物 质和液泡化现象,此后小孢子开始降解,最终无法形 成成熟花粉粒。进一步的细胞学研究显示,野生型 花药绒毡层细胞呈现 PCD 的细胞学特征,但msl突 变体绒毡层细胞在相应时期没有发生细胞凋亡,这 表明突变体中绒毡层细胞正常的PCD过程受阻,即 PCD延迟发生,从而抑制花粉正常发育,最终导致败 育。因此,绒毡层细胞的适时凋亡对于花粉发育至 关重要,这一过程提前或者延迟都会导致花粉败 育。杨景华等四认为,导致花粉败育的细胞程序性 死亡过程是由线粒体反向调控核基因表达所介导 的。Luo等音的研究证明,水稻CMS中线粒体基因与 编码线粒体蛋白COX11的核基因互作导致绒毡层 细胞凋亡,说明线粒体基因与核基因的互作是诱导 细胞凋亡的关键因素。

4 MADS-box转录因子与CMS

MADS-box属于一类序列特异的调节基因家族,它编码的转录因子可通过其保守结构结合DNA的特异序列从而调控基因的表达。MADS-box基因家族不仅对植物的发育十分重要,同时还是研究植物代谢网络调控的切入点。植物花发育的ABC模型认为,A类基因决定萼片的形成,A类和B类基因

共同决定花瓣的形成,B类和C类基因共同决定雄 蕊的形成,C类基因单独决定心皮的形成。多数 ABC类功能基因都属于MADS-box家族,编码MIKC 型MADS-box转录因子,其结构包括MADS-box结 构域(结合DNA)、I(intervening)结构域、K(keratin like) 结构域(蛋白互作)和C-terminal结构域(反式激活)。 MADS-box基因结构和功能的多样性有利于对花发 育的精细调控^[15~37]。

4.1 MADS-box对花发育的调控

已知被子植物的大部分MADS-box 基因与花发 育的调控相关。Danilevskaya等^[38]通过RNA表达谱 分析和过表达实验证明,玉米 MADS-box 4(ZMM4) 基因在花序发育过程中发挥重要的调控作用。Sang 等^[39]在水稻中发现了一个MADS-box 基因(cfo1),主 要参与调控花器官的识别。Hu等^[40]的研究表明,水 稻中的MADS3在花药发育后期调控活性氧(ROS)的 平衡。Khan等^[41]的研究表明,MPF2-Like MADS-Box 基因通过影响拟南芥 soc1和 maf1 的表达以调 控花期。表2总结了近年来在不同植物中发现的 MADS-box 基因,这些研究对MADS-box 基因的功能 有了更多的认识,为深入探索花发育的调控机制奠 定基础。

4.2 MADS-box 基因受线粒体反向调控

近年来关于MADS-box 基因与CMS的报道也越 来越多。孙清萍等世纪较了水稻细胞质雄性不育系 及保持系花粉的不同发育时期 MADS-box 基因家族 的表达情况,结果表明,不育系和保持系中该家族的 表达谱存在着明显的差异,他们认为MADS-box基 因家族可能参与水稻CMS核质互作的调控。周琳 磷等鄉湖建小麦雄性不育系和保持系的差减文库 (Suppression subtractive hybridization, SSH), 在不育 文库中筛选出一个与 MADS-box 基因同源的 EST 序 列,半定量RT-PCR发现,MADS-box在不育系中的 表达量明显高于其保持系,由此推测,MADS-box转 录因子可能与小麦细胞质雄性不育的发生有关。 Shen 等^[20]利用组织分离发在玉米C 胞质不育系中检 测到10个新miRNA,其中miRNA-2的靶基因具有 MADS-box转录因子结构域;通过荧光定量PCR分 析了 MADS-box 基因在花药四分体发育时期的表达 水平,结果显示,MADs-box 基因在不育系的表达水 平高于其保持系。根据线粒体同源发生理论(cytoplasmichomeosis)^[44],核编码MADS转录因子基因的 表达受线粒体反向调控,可能是植物细胞内核质互 作的重要调控途径之一。目前,已经证明线粒体同 源发生现象在单子叶植物和双子叶植物中十分普遍,

该过程受细胞质基因控制,与花发育表型相关[45]。

已有的研究表明,一些特异的蛋白、酶以及代谢 活性物质,如核糖体蛋白、茉莉酸、类黄酮、谷胱甘肽 转移酶、过氧化物酶、F-box结构域蛋白、热激蛋白 等分子伴侣、细胞色素P450、MYB等转录因子、钙依 赖的蛋白激酶(calcium dependent protein kinase, CDPK)、周期蛋白激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)、生长素等都与显花植物花的发育、雄性配子 的形成以及花粉败育有关。还有许多研究表明,线 粒体基因的RNA编辑可能与植物CMS的发生有关。

位于线粒体外膜上的电压依赖型阴离子通道 (voltage dependentanion channel, VDAC)是线粒体渗 透孔的重要组成蛋白,负责大分子的运输。VDAC 对于线粒体的结构和功能至关重要。文李等¹⁴⁰的研究表明,VDAC蛋白在红莲型水稻细胞质雄性不育系花药的上调表达可能与花粉败育中PCD的发生有关。本课题组发现,vdac1a基因和VDAC1a蛋白在玉米C型不育系和保持系间差异表达;同时不育系和保持系线粒体膜生理特性也存在差异。然而,vdac相关基因结构和功能的不同是否与玉米C型不育系花粉败育有关还有待进一步验证。花发育过程十分复杂,涉及许多代谢过程和相应的调控基因,任何一个基因或者代谢途径的改变都会影响花整个发育过程。因此完全揭示植物细胞质雄性不育的机制还有大量的研究要做。

基因	物 种	功 能	参考文献
Gene	Species	Function	Reference
AP1	Arabidopsis	specify sepal and petal identities	Mandel et al.,1992;
AP2			Jofuku et al.,1994
APE-TALA3 (AP3)	Arabidopsis	tospecify petal and stamen identities	Bowman et al.,1989;
PISTILLATA (PI)			Goto et al.,1994;
			Jack et al.,1994
OsMADS16/SUPERWOMAN1(SPW1) OsMADS4	rice	lodicule specification	Prasad et al.,2003;
OsMADS2			Yadav et al.,2007;
			Yao et al.,2008
AGAMOUS (AG)	Arabidopsis	a key regulator of stamen and carpel iden-	Bowman et al.,1991;
		tities and floralmeristem determinacy	Drews et al.,1991
OsMADS3	rice	Play roles in developmental regulation of	Yamaguchi et al.,2006
OsMADS58		the lodicule, stamen and pistil	
SEEDSTICK (STK)	Arabidopsis	acts redundantly with the C-class genes	Pinyopich et al.,2003
		AG and SHATTERPROOF1/2 to deter-	
		mine ovule identity	
OsMADS13	rice	ovule specification unclear	Dreni et al.,2007
OsMADS21			
SEPALLATA1/2/3/4 (SEP1/2/3/4)	Arabidopsis	redundantly specify all floral organ identi-	Pelaz et al.,2000;
		ties and floral meristem determination	Ditta et al.,2004
OsMADS1/LEAFY HULL STERILE (LHS1)	rice	specification of lemma and palea identity	Jeon et al.,2000;
OsMADS34/		control rudimentary glume and sterile lem-	Agrawal et al.,2005;
PANICLE PHYTOMER2		ma development	Prasad et al.,2005;
OsMADS15/DEGENERATIVE PALEA (DEP)		specifies palea and sterile lemma identity	Chen et al.,2006;
			Kobayashi et al.,2010

	表2	不同类别 MADS-box 在花发育中的功能
Table 2	The fur	action of different type MADS–box in flower development

5 讨 论

最近研究者从转录组学的范畴比较了植物不育 系及其育性恢复系雄性配子特定发育时期基因表达 的差异,发现大量差异表达的核基因,他们参与了多种代谢途径,其中与棉花CMS相关的基因主要参与 细胞壁延展途径^[47],而在辣椒转录组测序中发现的 差异表达基因主要参与信号转导、转录修饰等过 程^[48]。大量核基因表达的差异可能是由核质异常互 作导致的,核基因组与线粒体基因组间的不协调影 响了核基因转录、转录调控以及转录后水平的调 控。这些研究从全转录组层面揭示了植物不育系和 可育系基因表达的差异,为挖掘CMS候选基因以及 深入解释CMS的分子机制提供了丰富的信息。今 后,可以借助高通量测序技术,综合各种组学研究, 从全基因组、转录组、蛋白组、代谢组、表观基因组、 表形组等多个水平对植物CMS的分子机制进行全 面深入的研究。

参考文献:

- Das S, Sen S, Chakraborty A, et al. An unedited 1.1 kb mitochondrial *or/B* gene transcript in the wild abortive cytoplasmic male sterility (WA-CMS) system of Oryza sativa L.subsp.indica[J]. BMC Plant Biol., 2010, 10: 39.
- [2] Rottman W H, BrearsT. A mitochondrial gene is lost via homologous recombination during reversion of CMS T maize to fertility[J]. EMBO J., 1987, 6: 1541–1546.
- [3] Sota F,Kinya O. Genome barriers between nuclei and mitochondria exemplified by cytoplasmic male sterility[J]. Plant Cell Physiol,2008, 49(10):1484-1494.
- [4] Luo D P, Xu H, Liu Z L, et al. A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice[J]. Nature Genetics, 2013, 45: 573–577.
- [5] Liu H, Cui L, Zhan K, et al. Comparative analysis of mitochondrial genomes between a wheat K-type cytoplasmic male sterility(CMS) line and its maintainer line[J]. BMC Genomics, 2011, 12: 163.
- [6] Keisuke I, Tomohiko K, Keiji M, et al. Whole genomic sequencing of RT98 mitochondria merived from Oryza rufipogon and Northern blot analysis to uncover a cytoplasmic male sterility-associated gene[J]. Plant Cell Physiol, 2013, 54(2): 237–243.
- [7] Hattori M, Miyake H, Sugita M, et al. A. Pentatricopeptide repeat protein is required for RNA processing of clpP Pre-mRNA in moss chloroplasts[J]. Biol. Chem, 2007, 282: 10773–10782.
- [8] Falcon A, Meyer E H, Andrés C, et al. The pentatricopeptide repeat gene OTP43 is required for trans-splicing of the mitochondrial nad intron in Arabidopsis thaliana[J]. Plant Cell, 2007, 19: 3256–3265.
- [9] Zabala G, Gaba L, Laughnan J R. The nuclear gene *R*/3 affects the expression of the mitochondrial chimeric sequence R implicated in S-type male sterility in maize[J]. Genetics, 1997, 147: 847–860.
- [10] Wang Z, Zhou Y, Lia X, et al. Cytoplasmic male sterility of rice with Boro II cytoplasm is caused by cototoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via district modes of mRNA silencing[J]. Plant Cell, 2006, 18: 676–687.
- [11] Hisayo K, Tomohiko K, Sota F, et al. Cytoplasmic male sterility-associated ORF79 is toxic to plant regeneration when expressed with mitochondrial targeting sequence of ATPase γ subunit[J]. Plant Biotechnology, 2010, 27: 111–114.
- [12] 苏爱国,李双双,王玉美,等. 植物线粒体结构基因组研究进展
 [J]. 中国农业科技导报,2011,13(3):9-16.
 Su I G, Li S S, Wang Y M, et al. Research progress on structural genomics of plant mitochondrial genome[J]. Journal of Agricultural

Science and Technology, 2011, 13(3): 9-16. (in Chinese)

- [13] Sabar M, Janneke B, Leaver C J, et al. Histochemical staining and quantification of plant mitochondrial respiratory chain complexes using blue-native polyacrylamide gel electrophoresis[J]. The Plant J., 2005, 44: 893-901.
- [14] Li W Q, Zhang X Q, Xia C, et al. Male gametophyte defective 1, encoding the FAd subunit of mitochondrial F1Fo-ATP synthase, is essential for pollen formation in Arabidopsis thaliana[J]. Plant Cell Physiol, 2010, 51: 923–935.
- [15] Wan G X, L S Q, Li W, et al. Damage of oxidative stress on mitochondria during microspores development in Honglian CMS line of rice[J]. Plant Cell Rep., 2007, 26: 373–382.
- [16] Akagi H,Sakamoto M,Shinj Y, et al. A unique sequence located downstream from the rice mitochondrial atp6 may cause male sterility[J]. Curr Genet, 1994, 25: 52–58.
- [17] Wang K, Gao F, Ji Y X, et al. ORFH79 impairs mitochondrial function via interaction with a subunit of electron transport chain complex III in Honglian cytoplasmic male sterile rice[J]. New Phytologist, 2013, 198(2): 408–418.
- [18] Zhang H, Li S, Yi P, et al. Honglian CMS line of rice displays aberrant F0 of F0F1 - ATPase[J]. Plant Cell Rep., 2007, 26: 1065– 1071.
- [19] Huang L, Xiang J, Liu J Z, et al. Expression characterization of genes for CMS-C in maize[J]. Protoplasma, 2011, 249: 1119–1127.
- [20] Shen Y O, Zhang Z M, Lin H J, et al. Cytoplasmic male sterilityregulated novel microRNAs from maize[J]. Funct Integr Genomics, 2011, 11: 179–191.
- [21] Yan Z X, Shao J Z, Ding Y, et al. Catalytic assays in blue native gels revealed normal ATPase but deficient NADH dehydrogenase activity in ZidaoA CMS line of rice[J]. Acta Physiol Plant, 2011, 33: 2477-2484.
- [22] Milena V, Silke O, Sebastian W, et al. Rcf1 mediates cytochrome oxidase assembly and respirasome formation, revealing heterogeneity of the enzyme complex[J].Cell Metabolism, 2012, 15: 336–347.
- [23] Fontanesi F, Soto I, Barrientos A. Cytochrome c oxidasebiogenesis: new levels of regulation[J]. IUBMB Life, 2008, 60: 557–568.
- [24] Zeviani M, Spinazzola A. Mitochondrial disorders Curr[J]. Neurol. Neurosci Rep., 2003, 3: 423–432.
- [25] 周涵韬,郑文竹,梅启明,等.水稻细胞质雄性不育系小孢子发育过程中的同工酶分析[J].厦门大学学报(自然科学版),2000, 39(5):676-680.

Zhou H T, ZhengW Z, Mei Q M, et al. Analyses of isozyme from cytoplasmic male sterility lines in different microspore development stages in rice[J] .Journal of Xiamen University(Natural Science), 2000, 39(5): 676–680. (in Chinese)

[26] 张 鸿,陈祖玉,李阳生,等.马协型水稻细胞质雄性不育系线 粒体基因组的变异与功能的研究[J].武汉植物学研究,2007,25 (3):313-315.

Zhang H, Chen Z Y, Li Y S, The mitochondria genomic mutation and function in the cytoplasmic male sterile line of Maxie-rice[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2007, 25(3): 313-315. (in Chinese)

[27] Wang J, Cao M, Pan G, et al. RNA editing of mitochondrial functional genes atp6 and cox2 in maize(Zea mays L.)[J]. Mitochondrion, 2009, 9: 364-369.

- [28] Liu Y, Cui S J, Wu F, et al. Functional conservation of MIKC*type MADS Box genes in arabidopsis and rice pollen maturation[J]. The Plant Cell, 2013, 25: 1288–1303.
- [29] Sofi P A, Rather A G, Wani S A. Genetic and molecular basis of cytoplasmic male sterility in maize[J]. Communications in Biometry and Crop Science, 2007, 2(1): 49–60.
- [30] 刘加周.玉米C型细胞质雄性不育系及其保持系花药SSH文库 构建[D].雅安,四川农业大学,2008.
- [32] 穆 蕊,张祖新,张方东,等. 玉米 CMS-S 小孢子败育过程中的 细胞程序性死亡[J]. 作物学报,2005,32(5):660-667.
 Mu R, Zhang Z X, Zhang F D, et al. Programmed cell death during abortion of microspore in S-type cytoplasmically male-sterile maize
 [J]. Acta Agronomica Sinica, 2005, 32(5): 660-667. (in Chinese)
- [33] Vizcay-Barrena G, Wilson Z A. Altered tapelal PCD and pollen wall development in the *Arabidopsis* msl mutant[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(11): 2709-2717.
- [34] 杨景华,张明方.线粒体反向调控介导高等植物细胞质雄性不育发生机制[J].遗传,2007,29(10):1173-1181.
 Yang J H, Zhang M F. Mechanism of cytoplasmic male-sterility modulated by mitochondrial retrograde regulation in higher plants
 [J]. HEREDITAS, 2007, 29(10): 1173-1181. (in Chinese)
- [35] Tang L K, Chu H, Yip W K, et al. Ananther-specific dihydroflavonol 4-reductase-like gene(DRL1) is essential for male fertility in Arabidopsis[J]. New Phytol, 2009, 181: 576-587.
- [36] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Mol. Biol. Evol., 2011, 28: 2731–2739.
- [37] Nam J, Kim J, Lee S, et al. Type I MADS-box geneshave experienced faster birth- and- death evolution than type II MADS-box genes in angiosperms[J]. Proc Natl Acad Sci., 2004, 101: 1910– 1915.
- [38] Danilevskaya O N, Meng X, Selinger D A, et al. Involvement of the MADS-Box gene ZMM4 in floral induction and inflorescence development in maize[J]. Plant Physiology, 2008, 147: 2054 –2069.
- [39] Sang X, Li Y, Luo Z, et al. CHIMERIC FLORAL ORGANS1, Encoding a Monocot-Specific MADS Box protein, regulates floral or-

gan identity in rice[J]. Plant Physiology, 2012, 160: 788-8 07.

- [40] Hu L F, Liang W Q, Yin C S, et al. Rice MADS3 regulates ROS homeostasis during late anther development[J]. The Plant Cell, 2011, 23: 515–533.
- [41] Khan M R, Khan I U, Ali G M. MPF2-Like MADS-Box genes affecting expression of SOC1 and MAF1 are recruited to control flowering tim[J]. Mol Biotechnol, 2013, 54: 25–36.
- [42] 孙清萍,汪 莉,易 平,等. 红莲型水稻不育系系统花粉发育 不同时期 MADS-box 基因家族表达分析[J]. 武汉植物研究, 2002,20(5):325-328.
 Sun Q P, Wang L, Yi P, et al. Expression analysis of MADS-box gene family on uni-nucleate and bi-nucleate stage anthers on HL-CMS system[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2002, 20(5): 325-328. (in Chinese)
- [43] 周琳磷,宋国琦,李红燕,等.一个与小麦雄性不育转换相关的MADS-box转录因子基因[J].作物学报,2008,34(4):598-640.
 Zhou L L, Song G Q, Li H Y, et al. A MADS-Box Transcription factor related to fertility conversion in male sterile wheat lines[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(4): 598-640. (in Chinese)
- [44] Zubko M K. Mitochondrial tuning fork in nuclear homeotic functions[J]. Trends Plant Sci., 2004, 9(2): 61–64.
- [45] Parniske M, Hammond-Kosack K E, Golstein C, et al. Novel disease resistance specificities result from sequence exchange between tandemly repeated genes at the Cf- 4/9 locus of tomato[J]. Cell, 1997, 91: 821-832.
- [46] 文 李,刘 盖,王 坤,等.红莲型水稻细胞质雄性不育花粉 总蛋白质初步比较分析[J].武汉植物学研究,2007,25(2):112-117.

Wen L, Liu G, Wang K, et al. Preliminary analysis of the total proteins of HL type cytoplasmic male sterility rice pollen[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2007, 25(2): 112–117. (in Chinese)

- [47] Hideaki S, Laura R U, Xu J, et al. Transcriptome analysis of cytoplasmic male sterility and restoration in CMS-D8 cotton[J]. Plant Cell Rep, 2013, 32(10): 1531-1542.
- [48] Liu C, Ning M, Wang P Y, et al. Transcriptome sequencing and De Novo analysis of a cytoplasmic male sterile line and its near-isogenic restorer line in chili pepper[J]. Plos One, 2013, 8(6): 65209. (责任编辑:朴红梅)