

植物雄性不育的机制及应用研究进展

王保明¹,陈永忠²,李红波¹,莫 华¹,黄露波¹
(1. 湖南应用技术学院 农林科技学院,湖南 常德 415000; 2. 湖南省林业科学院/
国家油茶工程技术研究中心,湖南 长沙 410004)

摘要: 雄性不育在植物生长和发育中发挥着重要作用。概述了植物雄性不育的形成、分类、细胞生物学、物质能量代谢等特征,从表观遗传学、分子标记、基因型鉴定、转录调控因子、基因表达等方面阐述了植物雄性不育的分子机制,揭示了生长调节剂对植物雄性不育的影响。最后,从植物雄性不育材料获取方法的选择与评估、优良不育系和授粉系的筛选、高产不育系培育等方面分析了植物雄性不育应用所面临的问题、对策及发展趋势。
关键词: 植物; 雄性不育; 机制; 应用
中图分类号: S326 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004 - 3268(2019)05 - 0001 - 09

Progress of Mechanism of Male Sterility of Plants and Its Application

WANG Baoming¹,CHEN Yongzhong²,LI Hongbo¹,MO Hua¹,HUANG Lubo¹
(1. College of Agriculture & Forestry Science and Technology,Hunan Applied Technology University,Changde 415000,China;
2. National Engineering Technology Research Center of Oil-tea *Camellia*/Hunan Academy of Forestry,Changsha 410004,China)

Abstract: Male sterility plays important roles in plant development and growth. The formation,classification,cell biology and metabolic mechanism of male sterility in plants were summarized,then the molecular mechanism of male sterility from the epigenetic genetics,molecular marker,identification of genotype,transcriptional factors and gene expression were revealed,and the effect of plant hormones on male sterility was also elaborated. Finally,problems of male sterility application were analyzed,and strategies and development trends were put forward from the selection and evaluation of breeding methods for obtaining male sterile materials,screening of fine sterile lines and pollination lines as well as breeding high yield sterile lines.
Key words: Plants; Male sterility; Mechanism; Application

雄性不育 (Male sterility) 是植物界存在的普遍现象,是指在有性繁殖过程中雄蕊不能正常生长和产生有效花粉,而雌蕊能正常发育和受精。在杂交育种中,以雄性不育系为材料控制授粉,可以获得高产杂交品种^[1-2]。迄今为止,育种工作者们已经在玉米 (*Zea mays*)、高粱 (*Sorghum bicolor* L.)^[3]、水稻 (*Oryza sativa* L.)^[4]、油菜 (*Brassica napus* L.)、黑麦 (*Secale cereale* L.)^[5]、小麦 (*Triticum aestivum* L.)、珍珠粟 (*Pennisetum glaucum* L.) 等 43 科、162 属、320 种的 617 个植物品种或种间杂种中发现雄性不育现象,并以此开展杂交育种工作^[6-7]。在小麦中,利用雄性不育 RMs2 杂交系培育了 42 个品种,栽培面积达 1 230 万 hm²,增加小麦产量 560 万 t^[8]。在水稻中,野生败育型胞质雄性不育系在我国广泛应用并取得巨大成功,增产幅度达 20% ~ 30%^[9]。因此,雄性不育已成为作物育种的主要方向和目标,并在作物育种和生产中发挥着重要作用。分析了植物雄性不育分类学、细胞生物学、物质能量代谢的特征,综述了植物雄性不育的分子机制以及生长调节剂对植物雄性不育的影响研究进展,提出了植物雄

收稿日期:2018 - 12 - 19
基金项目:2017 年湖南省普通高等学校教学改革研究项目(632);湖南省重点研发计划(2017NK2173);国家级大学生创新创业训练计划平台项目(201813809002)
作者简介:王保明(1967 -),男,河南三门峡人,副教授,博士,主要从事经济林栽培育种和林木生物技术研究。
E - mail:wangbaoming863@126.com

性不育的应用及发展趋势,旨在为植物雄性不育的研究和利用提供理论支持。

1 植物雄性不育的分类学、细胞生物学、物质能量代谢特征

1.1 植物雄性不育的分类学特征

植物雄性不育的形成原因多种多样,可以依据表型、遗传、来源等对其进行分类。在表型方面,依据花粉败育的时期可分为无花粉、单核败育、双核败育、三核败育等类型;依据败育花粉的形状、大小和染色反应可分为典败、圆败和染败等。在遗传方面,雄性不育可分为孢子体不育和配子体不育。依据育性表达能否发生显著变化可分为普通型雄性不育和可转换型雄性不育,其中,可转换型雄性不育又分为光温敏雄性不育和再生型雄性不育。根据不育基因、可育基因对应的显隐关系可分为隐性核不育和显性核不育,多数核不育属于隐性核不育,只有少数是显性核不育,如太谷核不育小麦^[10-11]。根据雄性不育材料的基因型、育性基因的位置、遗传特征可分为细胞质不育型、细胞核不育型(Genic male sterility, GMS)和质核互作不育型,即“三型学说”。有人认为,细胞质雄性不育实际上也是核质互作引起的,只是目前尚未找到恢复系^[12],因此,将胞质雄性不育和核质基因互作产生的雄性不育统称为细胞质雄性不育(Cytoplasmic male sterility, CMS),这就是所谓的“二型学说”,即核不育型和核质互作不育型^[13]。GMS 是双授粉控制系,能阻止功能性花粉产生,不受细胞质影响,没有正反交遗传效应,能够保持雌性育性,具有完全不育、恢复资源广、高活力结合等优势^[7,14]。GMS 依据对光(温)的反应划分为不同类型,如水稻 CMS 分为温敏型、光敏型和温光互作型,玉米 CMS 分为温敏型和光敏型^[13]。CMS 呈母性遗传,其不育核基因 *Ms* 与不育胞质 S 互作产生不育,育性恢复基因 *Rf* 与 S 胞质互作恢复育性,这种不育类型实际上是一种核质互作现象^[15]。CMS 是普遍的三系育种系统,在生产中发挥着重要作用^[16-17]。根据育性恢复专效性原理可对 CMS 进行分类。如玉米 CMS 分成 T(Texas)、C(Charrua)、S(USDA)3 种胞质不育类型,其中 S 型为 CMS 中最大的类群^[18]。普通小麦异源细胞质互作形成小麦雄性不育主要包括 T 型、K 型、V 型、D 型、A 型、P 型、85EA 等^[15]。在来源方面,按不育胞质不同可分为种间置换、野生种与栽培种间的核置换以及种间不同进化程度和地理上远距离的核置换。如水稻粳稻和籼稻亚种间的核置换及进化程度

不同或地理上远距离的籼籼间或粳粳间的核置换产生的野败型、矮败型、冈型、D 型、印尼水田谷型、K 型、BT、滇型、红莲型等不育型^[10]。

1.2 植物雄性不育的细胞生物学特征

不同植物的 GMS 系花药、花粉母细胞、绒毡层发育、花粉粒表现各异。如拟南芥温敏雄性不育突变体 *atms1* 在低温时与野生型无显著差异,花粉完全可育,随着温度升高,其育性下降,花药显著分化,花粉母细胞胼胝体单薄,绒毡层发育滞后^[19]。棉花 Yu98-8A 突变体在花粉母细胞形成时无明显变化,在减数分裂期四分体萎缩,花粉壁上无刺状突起,小孢子碎化,形成无花粉粒的花药囊^[11]。白菜 GMS 花丝短小,花药小而干瘪,颜色发白无粉,而雌蕊发育正常,有受精能力;而可育株花丝发育正常,花药黄色且饱满^[20]。高粱雌性植株出现黄花药,而其突变植株出现白毛柱头、小白花药,还出现花药缺陷和无花粉粒等表型^[21]。

CMS 系虽具有类似于 GMS 系的特征,但也有自身的表型特征,具体如下:(1)花药退化,花粉败育。如向日葵、矮牵牛、玉米的花药常常完全消失^[7,22];CMS 甘蓝型油菜多为无花粉囊型、单核花粉败育型、花粉母细胞败育型。在花粉败育中,一是出现大量圆形败育花粉或者淀粉积累,花粉干瘪;二是出现大量不规则形花粉,无淀粉积累^[23-24]。花粉败育多发生在二核、三核期,二胞花粉异常,大液泡不消失,细胞质基质不增加,细胞中无淀粉粒积累。二核期细胞核塌陷,染色质分散,三核期核完全消失^[25]。一些 CMS 突变体花粉没有完全发育或完全发育但无正常功能^[7,25-28]。如水稻的突变体 *OsDMS-1* 能正常开花,但花药狭窄苍白,不能释放花粉,绒毡层降解,无淀粉积累^[29]。(2)雄性器官转化为花瓣或雌性器官。如 Sp-cytoplasm 胡萝卜、烟草、甘蓝、车前草的花药转化为类花瓣器官;CMS 油菜的四强雄蕊转化为类柱头的心皮结构和类胚珠^[26]。

1.3 植物雄性不育的物质能量代谢特征

当植物发生雄性不育时,线粒体不能满足能量需求。CMS 三核花粉小孢子中的线粒体数量少且体积小,基质稠密,膜通透性增加,膜电位下降,ATPase 的数量和活性降低^[30-32]。花药中 ATPase 减少会导致 ATP 催化和水解效率降低,尤其是 ATP 水解导致小孢子无 ATPase 活性^[33];ATP 减少还会导致绒毡层中未成熟细胞程序化死亡(PCD),淀粉粒、脂类积累终止,多糖、蛋白质、脂类含量降低^[34]。蛋白质对支撑花粉结构、酶类分泌有主要作用,对花粉发育起着重要作用。不育系中的游离组蛋白含量低

于保持系,氨基酸含量低于保持系和恢复系。脯氨酸含量是花粉是否可育的标志,其降低可引起糖代谢受阻、其他氨基酸含量降低,进而导致雄性不育^[35]。如玉米 CMS 花药的脯氨酸含量、可溶性蛋白含量、淀粉酶活性显著降低^[36]。另外,在一些植物(如桔梗)中,活性氧(Reactive oxygen species, ROS)代谢紊乱、丙二醛积累也会造成雄性不育^[37]。绒毡层能为小孢子和花粉粒发育提供营养,花药中绒毡层未成熟细胞 PCD 会导致小孢子死亡。绒毡层分泌酶用于减数分裂四分体的胼质体壁释放小孢子,并提供花粉外壁合成的前体。绒毡层中 PCD 能诱导 H₂O₂ 或线粒体释放细胞色素 c,PCD 激活后,由半胱氨酸蛋白酶介导的蛋白质级联水解导致核 DNA 降解^[7]。

2 植物雄性不育的分子机制研究

2.1 植物雄性不育的遗传学特征、分子标记与基因型的鉴定与应用

CMS 是由线粒体基因组序列变化引起,这些变化包括单核苷酸多态性(SNP)、插入/缺失突变(Indels)、DNA 重组等^[7]。CMS 与 DNA 甲基化关系密切,不育胞质的差异会影响 DNA 甲基化程度和遗传关系。如小麦 K 型不育胞质对 DNA 甲基化位点比率、完全甲基化位点、多态性、遗传距离的影响大于 T 型、S 型^[17]。DNA 甲基化能改变基因表达并影响细胞功能,多发生于 CpG 二核苷酸,广泛存在于植物基因组。利用甲基化敏感扩增多态性(MSAP)可以估计 DNA 的甲基化程度,揭示植物的遗传多样性、发育、分化、生物与非生物胁迫、外源基因组的影响、异源多倍体的形成等机制^[17]。目前,MSAP 已在拟南芥^[38]、辣椒(*Capsicum annuum* L.)^[39]、甘蓝(*Brassica oleracea*)^[40]、大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)^[41]、人参(*Eleuterococcus senticosus*)^[42]、香蕉(*Musa acuminata*)^[43]、大麦(*Hordeum brevisubulatum*)^[44]、小麦、棉花(*Gossypium hirsutum* L.)^[45]、水稻^[46]中广泛应用并取得了显著效果。

通过基因型变异能够选择稳定的杂交后代,但环境效应引起的育性恢复表型难以鉴别^[38,47]。通过随机扩增多态性(RAPD)、DNA 特定序列扩增(SCAR)、扩增片段长度多态性(AFLP)、简单重复序列(SSR)、InDel 等标记能够鉴定植株的多态性,筛选出 GMS 基因的连锁标记^[26,48]。如在水稻光温敏 GMS 系中,利用 SSR、InDel 分子标记结合分离群体分组分析(BSA),定位了不育基因 *PTGMS2-1*,并获得它的 InDel 连锁标记,在水稻全生育期内,利

用 *PTGMS2-1* 连锁标记对子代进行正向选择,选育出了品质优、配合力好、综合抗性强的光温敏核不育系^[48]。油菜热敏显性 GMS 系 *BntsMs* 突变受单个显性基因控制,从该系中筛选出 AFLP、内含子多态性(IP)标记、*BntsMs* 连锁,并发现了新的雄性不育基因^[26]。因此,分子标记在不育基因的选择与定位、跟踪鉴定新不育基因以及不育株的早期筛选、提高恢复基因选择效率和杂种纯度鉴定等方面发挥着重要作用。

基因分型是鉴定雄性不育的重要方法。在黑麦中应用 DNA 差异芯片显示技术(Diversity Arrays Technology, DArT)获得了高密度黑小麦图谱。在此基础上,诱导 C 型细胞质不育,定位 *Rfc1*,恢复育性^[49]。利用 SNP 矩阵可以鉴定无头中国白菜 WS24-3 中的 SNP 位点,根据 SNP、AS-PCR、SSR 确定不育基因,获得共分离标记,以利于图位克隆基因^[50]。TANG 等^[9]在水稻中利用 CMS-WA(Wild Abortive type of CMS)系、恢复系、雄性不育个体、子代群体绘制含有 *rf3*、*rf4* 的基因图谱,其中, *rf4* 编码蛋白质含有线粒体转运信号肽 PPR9-782、PPR9-409 模块,它所在染色体区域内还编码有 Rfla(PPR3)、Rflb(PPR2)、PPR7、PPR9、PPR10 蛋白质模块。上述所有蛋白质模块与 Rfla 所编码蛋白 PPR3-791-M 高度相似^[9]。

2.2 植物雄性不育的形成机制

造孢细胞分化、小孢子发育及减数分裂、花粉或花药分化异常会导致雄性不育^[37,51]。花药细胞分化过程紊乱会引起花粉败育而导致雄性不育^[37,52]。在 CMS 中,种内或属内杂交的异源胞质调控核基因的衰退信号,这种衰退信号影响着花粉的育性。当不育胞质与育性胞质杂交时产生雄性不育后代,可以通过反复回交选择雄性不育表型^[7]。不育胞质与隐性核基因 *rf* 互作导致雄性不育,保持系和恢复系的基因型是 Rf,核 Rf 基因通过 mRNA 剪切/降解、转录后抑制 CMS 的基因表达、转录后修饰等恢复育性^[53]。在 CMS 三系水稻杂交系中恢复系基因型 Rfl 能够恢复 BT-型[Chinsurah Boro II(BT)-type]CMS 的育性^[54]。光温敏 GMS 基因是两系不育系的核心,目前已发现的水稻光温敏 GMS 基因有 *pms1*、*pms*、*pms3*、*tms1*、*tms2*、*tms3*、*tms4*、*tms5*、*tms6*、*rtms*、*Ms-h*。其中,水稻 *pms1* 精细定位于第 7 染色体上的 85 kb 区间内,*pms3* 精细定位于第 12 条染色体上的 28.4 kb 区间内,*tms5* 定位在细菌人工染色体(Bacterial artificial chromosome, BAC)克隆 AP004039 上的 19 kb 区间内^[48]。

一个植物细胞含有约 200 个线粒体,每个线粒体含有 1 个或多个拷贝线粒体基因组^[7]。不同于动物线粒体基因组小而且基因密集,植物线粒体基因组一般较大,含有细胞核、质体、外源 DNA 等,它们频繁重组后产生重组基因组。在自然条件下,野生杂交、体细胞融合会产生线粒体基因组或导致线粒体基因型的变化进而导致 CMS。目前,已经从这些变化的基因组或基因型中分离出 ATPase、细胞色素 c 氧化酶、核糖体蛋白等基因,如由线粒体基因 WA352c 产生的水稻 CMS 广泛应用于杂交水稻育种^[55]。外源 DNA 表达也会导致水稻雄性不育,其过量表达会打破细胞内酶平衡而影响小孢子发育^[55]。RNA 编辑(胞苷-尿苷的 mRNA 编辑)可改变转录后修饰过程,导致氨基酸编码信息的修饰或产生新的起始密码子和(或)终止密码子,从而获得新的基因表型。有时还可以通过未编辑线粒体基因的转录表达获得雄性不育植株^[7]。此外,发生雄性不育通常是缺少参与花粉形成的蛋白质或酶。如在玉米雄性不育突变体 *gaMS-2* 中,减少 *Zea m 1* 表达与不育性相关联^[56];拟南芥雄性不育突变体与 FLP1 蛋白相关联^[51,57]。核糖核酸酶与雄性不育关系密切。从减数分裂期到单核初期,不育株花药中该酶的活性高于可育株,其活性与 RNA、可溶性蛋白质含量成反比^[58]。如核酸内切酶 Ems26+ 能够在水稻、高粱 *Ms26* 基因中产生定位突变,使突变体呈现出隐性雄性不育的表型^[59]。

2.3 转录因子参与植物雄性不育花粉绒毡层的降解

在大麦中,同源结构域(PHD)转录因子 MS1 在花药绒毡层中的四分体后期和小孢子释放期表达,其沉默和过量表达均会导致雄性不育^[2]。在拟南芥中,DYT1^[60-61]、AMS1^[62-63]、MS^[64]、DYT1^[65] 影响孢子的减数分裂、绒毡层降解、花粉形成,是发育的关键转录因子。其中,*dyl1* 突变体在花药减数分裂第 4 阶段开始出现花药形态异常,绒毡层细胞过剩,空泡增大,缺乏致密的细胞质。突变体母细胞能够完成减数分裂 I,但无厚的胼质细胞壁,不能完成胞质分裂,最终塌陷^[60-61]。水稻绒毡层、花粉的形成与拟南芥相似。水稻 *OsUTDI* 基因编码的碱性螺旋-环-螺旋蛋白 bHLH (Basic helix-loop-helix protein) 在绒毡层中扮演类似于转录因子 AtDYT1 的角色^[65];OsTDR 转录因子在绒毡层发育、油脂转运、花粉壁形成中发挥着重要作用^[2,66-67]。AMS、MS 功能失常后的表型特征相似,均表现为绒毡层细胞提前或延迟降解使花粉形成受阻而败育^[68]。其中,AMS

能够调控绒毡层分泌和形成花粉壁物质,在小孢子和未成熟花粉粒中影响绒毡层到心室的物质转运,在绒毡层、花粉有丝分裂 I、二胞花粉中大量表达,其缺失会导致绒毡层细胞空泡化,小孢子降解^[62,69]。如在拟南芥 *ams* 突变体中,未成熟花粉细胞壁的小孢子细胞质减少、小孢子降解;成熟花药中缺少花粉,花丝减少,绒毡层异常变大或空泡^[62]。而 MS 位于绒毡层细胞核,参与花粉外壁形成和绒毡层发育,是控制孢子体发育的关键因子,在绒毡层分化、花粉壁与小孢子形成、孢粉素生物合成中发挥重要作用^[64,70]。拟南芥中 *MS1* 和 *MS2* 基因表达出现类似 *ams* 的表型特征^[62]。*MS1* 多在花粉形成与发育早期表达,在绒毡层的小孢子释放期表达,*MS1* 缺失会导致绒毡层分泌和花粉外壁发生变化^[64,70-72]。拟南芥 *ms1* 突变体单核和二核花粉的外壁发育失常,绒毡层没有发生未成熟细胞 PCD^[70],其纯合子突变体花粉表型正常,但缺乏活力,降解后绒毡层出现空泡^[64]。而 *MS2* 基因在小孢子中特异表达,并参与花粉壁和孢粉素的合成^[71,73-74];小孢子外壁中的 *MS2* 蛋白大量积累时,导致花粉外壁发育失常^[75-76]。

2.4 基因表达调控对植物雄性不育的影响

目前,在三系杂交水稻中,利用 CMS-WA/Rf 恢复系统已经鉴定了 *Rf1a*、*Rf1b*、*Rf3*、*Rf4*、WA352 等基因。其中,*Rf1a*、*Rf1b* 基因编码 RNA 结合蛋白 PPR,该蛋白质没有内切酶活性,能够形成功能性复合体,在细胞器的 mRNA 转录后的编辑、剪切、降解、翻译等过程中发挥作用^[9]。*Rf3*、*Rf4* 分别位于第 1、10 条染色体上,控制着 CMS-WA 的育性恢复^[9]。WA352 优先在花药绒毡层中表达,并与核基因编码的线粒体蛋白互作,引起绒毡层未成熟细胞 PCD,最终导致雄性不育。

目前,已经从拟南芥、番茄、枸杞、菜心、陆地棉等植物中鉴定出许多与花粉发育、绒毡层降解、细胞 PCD、胼质水解蛋白、抗胁迫蛋白、转录和翻译因子相关的基因^[52]。在拟南芥中,过量表达的天冬氨酸蛋白酶在未成熟细胞 PCD 中扮演抗死亡因子的角色而导致雄性不育^[77]。而胼质合成酶突变会导致棉花小孢子降解和雄性不育^[52]。在 *ams* 突变体中,1-型 LTP (Lipid transfer protein, Locus tag: At3g51590)、2-型 LTP (Lipid transfer protein type 2, Locus tag: At1g66850) 油脂转运蛋白显著减少^[70]。在番茄雄性不育系中,半胱氨酸蛋白酶抑制剂基因表达量增加影响了细胞 PCD 蛋白水解而造成不育^[78]。番茄 *7B-1* 雄性不育突变体花药的绒毡层

降解,蛋白酶体和5B蛋白含量降低。枸杞YX-1雄性不育突变体花药中的抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷氨酰胺合成酶(GS)、ATP合成酶亚基、查尔酮合酶、类查尔酮合酶、胍脲体合成酶催化亚基、半胱氨酸蛋白酶、5B蛋白、烯酰基-ACP还原酶、14-3-3蛋白、通用转录因子BTF3基因的表达量下降^[79]。在菜心雄性不育系中,脂质转运结合膜蛋白基因*LTP12*、油脂结合蛋白基因*GRP14*表达受到抑制,而叶绿素基因*PSBA*、*ELIP1*表达量增加,最终导致有机物合成受到抑制,含量下降^[37,69]。陆地棉不育花药中的胞浆APX1、谷氨酰胺tRNA合成酶、光合作用酶等含量降低,而依赖ATP的RNA解旋酶*elf4a-13*、NADH脱氢酶亚基1、烯醇酶、赤霉素-20氧化酶、赤霉素3-羟化酶1、乙醇脱氢酶、3-酮脂酰-CoA合成酶、海藻糖-6-磷酸合酶等含量大量增加^[52]。雄性花药中的GS能够减少谷氨酰胺含量而导致雄性不育,其2个异构体GS1、GS2催化谷氨酰胺转化为谷氨酸而导致小孢子不能发育成为具有正常功能的花粉粒^[52]。

在CMS植物中线粒体基因*Atp6*、*Atp8*、*Atp9*等能够诱导雄性不育^[80]。*Atp6*是参与能量供应的重要线粒体功能基因,它与编码细胞毒性蛋白Orf507相互作用引起*Atp*转录大幅下降,导致ATP合成酶的活性和含量降低而影响花粉发育^[80]。雄性不育胡萝卜中的线粒体*Atp9*过量表达。在小麦/黑小麦、大豆、向日葵中,线粒体*Atp1*与*Atp9*共转录导致ATP合成酶活性受损,使ATP减少而阻碍花粉正常发育,出现绒毡层过度生长、高度液泡化、提早或延迟解体,最终导致CMS^[23,31,81]。在辣椒中,伴随花粉败育,*Ψatp6-2*基因增强ATP水解活性而导致CMS,而沉默该基因会抑制ATP水解而恢复育性^[33]。

3 生长调节剂对植物雄性不育的影响

内源生长素(IAA)亏损、脱落酸(ABA)增加、赤霉素(GA)含量下降、乙烯过度产生等均可能导致雄性不育。在花粉发育期,特别是从孢子细胞形成到减数分裂期,IAA保持较低水平,编码IAA水解酶ILR1前体的基因表达量显著下降^[11]。ABA通过抑制IAA合成来调控IAA,降低IAA含量而导致雄性不育。在花粉母细胞形成期,较高的ABA含量对花粉母细胞形成有利;但在减数分裂期,ABA含量过高会影响四分体形成而引起花粉败育。GA能够促进花发育,其含量降低会引起花粉异常发育而导致雄性不育。如GMS突变体花芽中的GA含量较野

生型低^[82]。乙烯不仅能够阻碍IAA的合成和运输,还可提高吲哚乙酸氧化酶活性,降低IAA含量,间接影响雄性败育^[83]。此外,外施IAA和ABA可抑制一些植物的雄性表达而诱导不育,如菠菜、玉米、番茄等利用外施IAA可得到雄性不育株^[35]。

4 植物雄性不育的应用及发展趋势

4.1 植物雄性不育材料获取方法的选择与评估

雄性不育材料的获取方法有多种。一是从自然界基因突变资源中寻找雄性不育突变植株,如太谷核小麦是天然突变的雄性不育小麦,以其作为育种材料已广泛应用于小麦育种实践。但该方法费时费工,效率低下。二是利用种间或种内杂交、多代回交获得雄性不育材料,杂交育种方法包括化学杂交试剂法(CHA)、CMS、GMS、遗传修饰GMS等^[84]。其中,CHA相对容易,不需要CMS系、正常胞质保持系、*Rf*基因保持系,但可能出现毒性问题。目前,几乎所有欧洲杂交小麦育种均采用CHA,但该方法会增加成本并导致种子发芽不良、幼苗活力低下。CMS法成本较高且麻烦,且会缩小遗传基础、增大遗传脆弱性,产生有害胞质。光合敏感的GMS品种仅限于育性恢复系,遗传修饰GMS还未在实践中应用^[83]。光温敏GMS是两系不育系的核心。将环境敏感型GMS引入两系杂交水稻,其产量较三系杂交水稻显著增加^[8]。光周期敏感型PGMS系和热敏感型TGMS系在长日照和(或)高温下表现为雄性不育,而在短日照和(或)低温下雄性表现为可育,消除了CMS系的一些限制。可以利用分子标记辅助选择,集中表达光温敏不育基因,以获得重组光敏不育系或光温敏不育系,从而提高短日照高温条件下的产量。因此,光温敏GMS将会成为CMS系最有前途的替代品而被广泛应用到育种工作中。

随着分子生物技术的发展,插入突变、外源基因导入、RNA干扰、病毒诱导基因沉默(VIGS)等广泛应用于雄性不育育种工作中,如构建启动子与核糖核酸酶的表达体,利用内切酶产生雄性不育基因突变体,将烟草和水稻花药绒毡层和花粉中的特异启动子与核糖核酸酶基因构成嵌合基因,转基因到正常油菜、烟草、番茄、小麦、水稻中可以产生雄性不育系^[84];利用T-DNA插入获得了水稻雌雄双不育突变体*Osfmds*、多雄不育突变体*Osmlp*。将*E. coli*的*argE*基因融合到水稻花粉过敏原(OSIPA)的启动子中获得含有*argE*的转基因植物,在这些植物中使用N-乙酰基-草丁膦后,由于*argE*表达而造成完全不育;当不使用N-乙酰基-草丁膦时,含有*argE*

的转基因植株自花可育,这种不育系不需特异的恢复系^[85]。因此,基因工程将是实现雄性不育的有效途径,但能否为消费者接受仍然未知,其推广应用取决于安全、规范以及公众的接受程度。

4.2 选择适当时期、方法、合适的试验材料

研究植物雄性不育的机制首先要确定雄性不育发生的时期。棉花野生型与 GMS 突变体 Yu98-8A 的孢子母细胞无明显差别,但在减数分裂期突变体绒毡层皱缩,有刺状突起,小孢子碎化,出现无花粉粒的花药囊^[11,86]。其次是选择合适的方法。采取化学试剂、紫外线照射可以直接诱导雄性不育突变体,如在小麦中通过杀雄剂 SQ-1、化学杀雄剂Ⅲ号(吡喃酮类衍生物)处理获得雄性不育材料或者筛选杂交后代,发现新的雄性不育突变体^[86]。再次,选择合适的试验材料。选择遗传背景相同的材料有利于揭示雄性不育的发生机制,如棉花雄性不育突变体 Yu98-8A 由 1 对隐性基因控制,由于遗传背景相同,可用作理想的遗传材料来研究雄性不育的分子调控网络和潜在的花粉败育机制,通过定向育种获得具有杂交优势的新品种。

4.3 筛选出稳定优良的植物雄性不育杂交系和授粉系,实现雄性不育与可育的转化

光敏胞质雄性不育(PCMS)小麦在长日照条件下产生核质杂种,并出现高度雄性不育;而在短日照下则高度可育,可筛选出稳定的授粉系^[87]。在高粱 GMS 中,利用甲磺酸乙酯(EMS)诱变核基因可获得新的突变体。该突变体在大田、温室等不同环境中表现出良好的稳定性,是理想的雄性不育突变体。由此可见,不育与可育的转化是获得雄性不育系较为可行的方法。

4.4 基于分子技术的多学科融合,深化植物雄性不育机制的全面认识,提高选择效率,获得高产不育系

表观遗传调控(DNA 甲基化、RNA 编辑等)是揭示高等植物 CMS 机制和作用模式的关键,如不育水稻的超甲基化能够抑制油菜素内酯下游基因的表达而影响雄性不育,因此,表观遗传调控将是今后研究的方向。今后还应着重研究核质变化对雄性不育遗传的影响,全面深化对植物雄性不育机制的认识,逐步实现机制探索和实践应用的有机融合^[86];利用表型鉴定、线粒体活性分析及线粒体膜电位 MMP 分析、蛋白质电泳分离、蛋白质表达谱鉴定、蛋白质差异表达测定、差异杂交基因鉴定等揭示雄性不育的机制;利用 BSA 与高通量 RNA-seq 测序相结合构建高密度连锁图谱、鉴定育性恢复基因,获得新的分子辅助育种标记。比较分析正常发育与雄性不育

线粒体,鉴定与 CMS 表型相连锁的细胞型,结合新一代转录组测序、蛋白质组学分析为雄性不育提供新的证据。

在细胞形态学和表观遗传鉴定的基础上,利用 RAPD、SCAR、AFLP、SSR、InDel 等分子标记筛选遗传群体,选择、定位、发现新的不育基因,以提高选择效率、缩短育种年限,选育出品质优、配合力好、抗性强的高产不育系。在生产中应充分利用雄性不育系的增产潜力,减少自花授粉引起的品种退化,以种内或属内杂交的异源 CMS 母本连续回交获得遗传稳定的高产后代。品种叠加效应为作物高产、稳产提供了巨大可能,因此,着力抓好授粉植株的选择、数量、合理配置与分布,充分发挥品种叠加效应,进一步提高植物雄性不育的利用效率,提高作物产量和品质,是今后研究和应用的发展趋势。

参考文献:

- [1] MELCHINGER A E, GUMBER R K. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops[M]//LAMKEY K R, STAUB J E. Concepts and breeding of heterosis in crop plants. Madison: CSSA, 1998: 29-44.
- [2] GÓMEZ J F, WILSON Z A. A barley PHD finger transcription factor that confers male sterility by affecting tapetal development[J]. Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(6): 765-777.
- [3] KAUL M L H. Male sterility in higher plants[M]. Berlin: Springer, 1988.
- [4] BARCLAY A. Hybridizing the world[J]. Rice Today, 2010, 9: 32-35.
- [5] GEIGER H H, SCHNELL F W. Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.) [J]. Crop Sci, 1970, 10: 590-593.
- [6] RAJESHWARI R, SIVARAMAKRISHNAN S, SMITH R L, et al. RFLP analysis of mitochondrial DNA from cytoplasmic male-sterile lines of pearl millet[J]. Theor Appl Genet, 1994, 88: 441-448.
- [7] ISLAM M, STUDER B, MØLLER I M, et al. Genetics and biology of cytoplasmic male sterility and its applications in forage and turf grass breeding[J]. Plant Breeding, 2014, 133(3): 299-312.
- [8] NI F, QI J, HAO Q, et al. Wheat Ms2 encodes for an orphan protein that confers male sterility in grass species[J]. Nature Communications, 2017, 8: 15121.
- [9] TANG H W, LUO D P, ZHOU D G, et al. The rice restorer Rf4 for wild-abortive cytoplasmic male sterility encodes a mitochondrial-localized PPR protein that functions in reduction of WA352 transcripts[J]. Molecular Plant, 2014, 7(9): 1497-1500.

- [10] 李园园. 水稻雄性不育突变体的细胞学研究及遗传分析[D]. 雅安:四川农业大学,2008:8-9.
- [11] FANG W, ZHAO F, SUN Y, *et al.* Transcriptomic profiling reveals complex molecular regulation in cotton genic male sterile mutant Yu 98-8A [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (9): e0133425.
- [12] 张政值. 太谷核不育小麦 (*Triticum aestivum*) 雄性不育相关基因的克隆研究[D]. 南京:南京农业大学, 2003:5-6
- [13] 李泽福, 夏加发, 唐光勇. 植物雄性不育类型及其遗传机制的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2000, 28 (6): 742-746.
- [14] MA X D, XING C Z, GUO L P, *et al.* Analysis of differentially expressed genes in genic male sterility cotton (*Gossypium hirsutum* L.) using cDNA-AFLP[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007, 34 (6): 536-543.
- [15] 秦娜, 张立平, 田自华, 等. 小麦雄性不育遗传及基因工程方面研究进展[J]. *华北农学报*, 2005, 20 (专辑): 107-112.
- [16] LIANG J L, MA Y, WU J, *et al.* Map-based cloning of the dominant genic male sterile *Ms-cd1* gene in cabbage (*Brassica oleracea*) [J]. *Theor Appl Genet*, 2017, 130 (1): 71-79.
- [17] BA Q S, ZHANG G S, NIU N, *et al.* Cytoplasmic effects on DNA methylation between male sterile lines and the maintainer in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Gene*, 2014, 549 (1): 192-197.
- [18] 石明亮, 陈国清, 彭长俊, 等. 玉米雄性不育类型、遗传机理及育种利用方法研究动态[J]. *天津农学院学报*, 2013, 20 (1): 21-27.
- [19] 戴文懿, 孙亚梅, 高贝, 等. 拟南芥温敏雄性不育突变体 *atms1* 的获得及表型分析[J]. *上海大学学报 (自然科学版)*, 2011, 17 (5): 681-686.
- [20] 帅琪峰. 白菜核雄性不育两用系花蕾 cDNA 文库的构建及雄性不育相关基因的初步筛选[D]. 杭州:浙江大学, 2004:3-5.
- [21] XIN Z, HUANG J, SMITH A R, *et al.* Morphological characterization of a new and easily recognizable nuclear male sterile mutant of sorghum (*Sorghum bicolor*) [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (1): e0165195.
- [22] RIESEBERG L H, BLACKMAN B K. Speciation genes in plants[J]. *Ann Bot*, 2010, 106 (3): 439-455.
- [23] BERGMAN P, EDQVIST J, FARBOS I, *et al.* Male-sterile tobacco displays abnormal mitochondrial atp1 transcript accumulation and reduced floral ATP/ADP ratio [J]. *Plant Mol Biol*, 2000, 42 (3): 531-544.
- [24] ZHU J, CHEN H, LI H, *et al.* Defective in tapetal development and function 1 is essential for anther development and tapetal function for microspore maturation in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2008, 55 (2): 266-277.
- [25] 李东霄, 邓小莉, 冯素伟, 等. 温敏核不育小麦可育和败育花粉的超微结构观察[J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35 (8): 1119-1125.
- [26] KANG L, LI P F, WANG A F, *et al.* A novel cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* (inap CMS) with carpeloid stamens via protoplast fusion with Chinese Woad [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 529.
- [27] ZUBKO M K. Mitochondrial tuning fork in nuclear homeotic functions[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9: 61-64.
- [28] LINKE B, BÖRNER T. Mitochondrial effects on flower and pollen development [J]. *Mitochondrion*, 2005, 5: 389-402.
- [29] YANG K, CHEN Y, SHI M, *et al.* A novel dominant rice male sterility mutant, *OsDMS-1*, simultaneously controlled by independent loci on chromosomes 1, 2, and 3 [J]. *Mol Breeding*, 2017, 37 (3): 25. <https://doi.org/10.1007/s11032-017-0635-7>.
- [30] 汪静, 徐浩, 王继玥, 等. 玉米 CMS - C 不育系及其保持系线粒体膜通透性的比较分析[J]. *植物生理学报*, 2014, 50 (6): 823-828.
- [31] 巴青松, 张改生, 李桂萍, 等. 小麦线粒体与细胞质雄性不育关系的研究进展[J]. *麦类作物学报*, 2015, 35 (1): 16-21.
- [32] DING X L, LI J J, ZHANG H, *et al.* Identification of miRNAs and their targets by high-throughput sequencing and degradome analysis in cytoplasmic male-sterile line NJCMS1A and its maintainer NJCMS1B of soybean [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17: 24.
- [33] JI J, HUANG W, LI D, *et al.* A CMS-related gene, *Ψatp6-2*, causes increased ATP hydrolysis activity of the mitochondrial F₁F_o-ATP synthase and induces male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2014, 32: 888-899.
- [34] 张鹏飞, 宋瑜龙, 张改生, 等. 小麦雄性不育系绒毡层异常代谢与小孢子败育的关系[J]. *中国农业科学*, 2014, 47 (9): 1670-1680.
- [35] 马慧坤. 水稻雄性核不育突变体的表型观察及基因初步定位[D]. 福州:福建农林大学, 2014:7-8.
- [36] 夏涛, 刘纪麟. 玉米细胞质雄性不育系物质代谢系统的研究[J]. *华中农业大学学报*, 1993, 12 (1): 1-6.
- [37] LI Y, LIU T K, DUAN W K, *et al.* Instability in mitochondrial membranes in polima cytoplasmic male sterility of *Brassica rapa* ssp. *chinensis* [J]. *Funct Integr Genomics*, 2014, 14 (2): 441-451.
- [38] DAXINGER L, KANNO T, HUETTEL B, *et al.* MSAP: An approach to identify endogenous targets of RNA-directed DNA methylation and Pol IV in *Arabidopsis thaliana* [J]. *FEBS Journal*, 2007, 274 (1): 74.

- [39] PORTIS E, Acquadro A, Comino C, *et al.* Analysis of DNA methylation during germination of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds using methylation-sensitive amplification polymorphism (MSAP) [J]. *Plant Sci*, 2004, 166(1):169-178.
- [40] GUZY-WROBELSKA J, FILEK M, KALICIAK A A, *et al.* Vernalization and photoperiod-related changes in the DNA methylation state in winter and spring rapeseed [J]. *Acta Physiol Plant*, 2013, 35(3):817-827.
- [41] CHEN X Q, MA Y, CHEN F, *et al.* Analysis of DNA methylation patterns of PLBs derived from *Cymbidium hybridum* based on MSAP [J]. *Plant Cell Tissue Org Cult*, 2009, 98(1):67-77.
- [42] CHAKRABARTY D, YU K W, PAEK K Y. Detection of DNA methylation changes during somatic embryogenesis of Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*) [J]. *Plant Sci*, 2003, 165(1):61-68.
- [43] PERAZA-ECHEVERRIA S, HERRERA-VALENCIA V A, JAMES-KAY A. Detection of DNA methylation changes in micropropagated banana plants using methylation-sensitive amplification polymorphism (MSAP) [J]. *Plant Sci*, 2001, 161:359-367.
- [44] Li Y D, SHAN X H, LIU X M, *et al.* Utility of the methylationsensitive amplified polymorphism (MSAP) marker for detection of DNA methylation polymorphism and epigenetic population structure in a wild barley species (*Hordeum brevisubulatum*) [J]. *Ecol Res*, 2008, 23:927-930.
- [45] CAO D H, GAO X, LIU J, *et al.* Methylation sensitive amplified polymorphism (MSAP) reveals that alkali stress triggers more DNA hypomethylation levels in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) roots than salt stress [J]. *Afr J Biotechnol*, 2011, 10(82):18971-18980.
- [46] SHA A H, LIN X H, HUANG J B, *et al.* Analysis of DNA methylation related to rice adult plant resistance to bacterial blight based on methylation-sensitive AFLP (MSAP) analysis [J]. *Mol Gen Genomics*, 2005, 273(6):484-490.
- [47] BERNHARD T, FRIEDT W, SNOWDON R J, *et al.* New insights into genotypic thermodependency of cytoplasmic male sterility for hybrid barley breeding [J]. *Plant Breeding*, 2017, 136(1):8-17.
- [48] 王宝和, 徐建军, 吴银慧, 等. 水稻光温敏雄性核不育系广占 63S 不育基因 *PTGMS2-1* 的遗传分析与分子定位 [J]. *中国水稻科学*, 2010, 24(4):429-432.
- [49] MILCZARSKI P, HANEK M, TYRKA M, *et al.* The application of GBS markers for extending the dense genetic map of rye (*Secale cereale* L.) and the localization of the *Rfe1* gene restoring male fertility in plants with the C source of sterility-inducing cytoplasm [J]. *J Appl Genet-ics*, 2016, 57(4):439-451.
- [50] LI X, WANG A H, ZU F, *et al.* Identification of a nuclear-recessive gene locus for male sterility on A2 chromosome using the *Brassica* 60 K SNP array in non-heading Chinese cabbage [J]. *Genes & Genomics*, 2016, 38(12):1151-1157.
- [51] GLOVER J, GRELON M, CRAIG S, *et al.* Cloning and characterization of *MS5* from *Arabidopsis*: A gene critical in male meiosis [J]. *Plant Journal*, 1998, 15(3):345-356.
- [52] YUE J, REN Y, WU S J, *et al.* Differential proteomic studies of the genic male-sterile line and fertile line anthers of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Genes & Genomics*, 2014, 36(4):415-426.
- [53] STONE J D, KOLOUŠKOVÁ P, SLOAN D B, *et al.* Non-coding RNA may be associated with cytoplasmic male sterility in *Silene vulgaris* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(7):1599-1612.
- [54] ZHANG H G, CHE J L, GE Y S, *et al.* Ability of *Rf5* and *Rf6* to restore fertility of chinsurah Boro II -type cytoplasmic male sterile *Oryza sativa* (ssp. *Japonica*) lines [J]. *Rice*, 2017, 10:2.
- [55] TANG H W, ZHENG X M, LI C L, *et al.* Multi-step formation, evolution, and functionalization of new cytoplasmic male sterility genes in the plant mitochondrial genomes [J]. *Cell Research*, 2017, 27(1):130-146.
- [56] WANG W, SCALI M, VIGNANI R, *et al.* Male-sterile mutation alters *Zea m1* (β -expansin 1) accumulation in a maize mutant [J]. *Sex Plant Reprod*, 2004, 17:41-47.
- [57] ARIIZUMI T, HATAKEYAMA K, HINATA K, *et al.* A novel male-sterile mutant of *Arabidopsis thaliana*, *faceles-spollen-1*, produces pollen with a smooth surface and an acetolysis-sensitive exine [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, 53:107-116.
- [58] 聂明建, 王国槐. 植物核糖核酸酶与转基因工程雄性不育系研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2006, 22(3):122-126.
- [59] CIGAN A M, SINGH M, BENN G, *et al.* Targeted mutagenesis of a conserved anther-expressed P450 gene confers male sterility in monocots [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(3):379-389.
- [60] ZHANG W, SUN Y J, TIMOFEJEVA L, *et al.* Regulation of *Arabidopsis* tapetum development and function by *DYSFUNCTIONAL TAPETUM* (*DYT1*) encoding a putative bHLH transcription factor [J]. *Development*, 2006, 133(16):3085-3095.
- [61] FARQUHARSON K L. A domain in the bHLH transcription factor *DYT1* is critical for anther development [J]. *The Plant Cell*, 2016, 28(5):997-998.
- [62] SORENSEN AM, KROBER S, UNTE U S, *et al.* The Ara-

- bidopsis* *ABORTED MICROSPORES* (*AMS*) gene encodes a MYC class transcription factor[J]. *Plant Journal*, 2003, 33(2):413-423.
- [63] WILSON Z A, ZHANG D B. From *Arabidopsis* to rice: Pathways in pollen development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(5):1479-1492.
- [64] WILSON Z A, MORROLL S M, DAWSON J, *et al.* The *Arabidopsis* *MALE STERILITY1* (*MS1*) gene is a transcriptional regulator of male gametogenesis, with homology to the PHD-finger family of transcription factors[J]. *Plant J*, 2001, 28(1):27-39.
- [65] JUNG K H, HAN M J, LEE Y S, *et al.* Rice *Undeveloped Tapetum1* is a major regulator of early tapetum development[J]. *Plant Cell*, 2005, 17(10):2705-2722.
- [66] LI N, ZHANG D S, LIU H S, *et al.* The rice tapetum degeneration retardation gene is required for tapetum degradation and anther development[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(11):2999-3014.
- [67] ZHANG D S, LIANG W Q, YUAN Z, *et al.* Tapetum degeneration retardation is critical for aliphatic metabolism and gene regulation during rice pollen development[J]. *Mol Plant*, 2008, 1(4):599-610.
- [68] 刘永明, 张玲, 周建瑜, 等. 植物细胞核雄性不育相关 bHLH 转录因子研究进展[J]. *遗传*, 2015, 37(12):1194-1203.
- [69] XU J, YANG C Y, YUAN Z, *et al.* The *ABORTED MICROSPORES* regulatory network is required for postmeiotic male reproductive development in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(1):91-107.
- [70] ITO T, NAGATA N, YOSHIBA Y, *et al.* *Arabidopsis* *MALE STERILITY1* encodes a PHD-Type transcription factor and regulates pollen and tapetum development[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(11):3549-3562.
- [71] YANG C, VIZCAY-BARRENA G, CONNER K, *et al.* Male sterility1 is required for tapetal development and pollen wall biosynthesis[J]. *Plant Cell*, 2007, 19:3530-3548.
- [72] ARIIZUMI T, TORIYAMA K. Genetic regulation of sporopollen in synthesis and pollen exine development[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2011, 62:437-460.
- [73] AARTS M G M, HODGE R, KALANTIDIS K, *et al.* The *Arabidopsis* *MALE STERILITY2* protein shares similarity with reductases in elongation/condensation complexes[J]. *Plant J*, 1997, 12:615-623.
- [74] CHEN W W, YU X H, ZHANG K S, *et al.* *Male Sterile2* encodes a plastid-localized fatty acyl carrier protein reductase required for pollen exine development in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2011, 157(2):842-853.
- [75] 赵淑清, 董晶晶. 拟南芥花药和花粉发育的分子调控机制[J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 2015, 38(1):177-184.
- [76] 郑焕, 张计育, 王新卫, 等. 葡萄雌能花相关基因 *VvMS2* 的克隆及表达分析[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(14):2953-2962.
- [77] GE X C, DIETRICH C, MATSUNO M, *et al.* An *Arabidopsis* aspartic protease functions as an anti-cell-death component in reproduction and embryogenesis[J]. *EMBO Reports*, 2005, 6(3):282-288.
- [78] SHEORAN I S, ROSS A R, OLSON D J. Differential expression of proteins in the wild type and *7B-1* male-sterile mutant anthers of tomato (*Solanum lycopersicum*): A proteomic analysis[J]. *Journal of Proteomics*, 2009, 71(6):624-636.
- [79] ZHENG R, YUE S, XU X Y, *et al.* Proteome analysis of the wild and *YX-1* male sterile mutant anthers of wolfberry (*Lycium barbarum* L.)[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):1-13.
- [80] LI J J, PANDEYA D, JO Y D, *et al.* Reduced activity of ATP synthase in mitochondria causes cytoplasmic male sterility in chili pepper[J]. *Planta*, 2013, 237(4):1097-1109.
- [81] 孔祥海. 植物细胞质雄性不育分子生物学研究进展[J]. *中国生态农业学报*, 2004, 12(3):40-44.
- [82] ANDERSEN J R, SCHRAG T, MELCHINGER A E, *et al.* Validation of *Dwarf8* polymorphisms associated with flowering time in elite European inbred lines of maize (*Zea mays* L.)[J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111(2):206-217.
- [83] 洪骏. 一个水稻雄性不育突变体的细胞学研究及不育基因定位[D]. 南京:南京农业大学, 2014:10-12.
- [84] MARIANI C, BEUCKELEER M D, TRUETTNER J, *et al.* Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene[J]. *Nature*, 1990, 347:737-741.
- [85] RAO G S, TYAGI A K, RAO K V. Development of an inducible male-sterility system in rice through pollen-specific expression of L-ornithinase (*argE*) gene of *E. coli*[J]. *Plant Science*, 2017, 256:139-147.
- [86] WANG S P, ZHANG G S, ZHANG Y X, *et al.* Comparative studies of mitochondrial proteomics reveal an intimate protein network of male sterility in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(20):6191-6203.
- [87] MURAI K, OHTA H, KURUSHIMA M, *et al.* Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterile elite lines for hybrid wheat breeding, showing high cross-pollination fertility under long-day conditions[J]. *Euphytica*, 2016, 212(2):313-322.