

植物雄性不育基因的研究进展^①

缪颖 陈睦传

(厦门大学植物细胞与分子生物学实验室 厦门 361005)

摘要 本文概述了植物雄性核不育基因的分子标记及其定位,综述了植物细胞质雄性不育中不育系与保持系在叶绿体和线粒体基因组的结构、转录和翻译产物方面的差异以及和雄性不育之间的可能关系,以及恢复系中的恢复基因分子水平的研究现状;讨论了环境条件如光周期和温度对雄性不育的影响在分子水平上的研究现状,指出了植物雄性不育基因研究方面存在的问题和解决的思路。

关键词 植物雄性不育,核不育基因,细胞质不育基因,光周期,温度

Studies on Molecular Mechanism of Male Sterility in Plants

MIAO Ying CHEN Mu-Chuan

(Laboratory for Plant Cell & Molecular Biology, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract This paper briefly describes the current status of studies on the molecular marker and localization of the genie male sterile genes, studies on the relationships between mtDNA structure, transcription and translation and cytoplasmic male sterility, and the relationship between cpDNAs-structure, transcription and translation and cytoplasmic male sterility. The relation between malesterility and environmental factors is discussed. The problems and approaches regarding plant malesterility studies are pointed out.

Keywords Plant male sterility, Genie male sterile genes, Cytoplasmic male sterile genes, Photoperiod, Temperature

作物的雄性不育现象早在 19 世纪就被发现。本世纪以来,雄性不育的遗传理论也不断发展,证明雄性不育表现规律分为胞质不育和核不育两种类型,特别是近代兴起的分子生物学理论和技术,把对植物雄性不育遗传机制的研究推进到了一个更深的领域。近十余年来,由于分离和研究细胞器 DNA 技术的改进,特别是限制性内切酶技术、电泳技术、克隆技术以及序列分析技术、分子杂交技术的改进和发展,对于研究和认识植物雄性不育的分子机制起了巨大的推动作用。产生雄性不育的分子机制虽然各不相同,却不外乎遗传和环境两大因子的影响。从植物雄性不育性的遗传背景来看,可分为核不育和细胞质不育。环境因子对不育性的影响主要表现在温度和光照方面。本文针对植物细胞核不育、细胞质不育、环境条件对雄性不育的影响三方面在基因水平上的研究进展作一综述。

1 细胞核雄性不育(GMS)基因

对于 GMS 的分子机制的研究国内外报导都较少。直到 1992 年 Bedinger 等才对核不

① 国家自然科学基金资助(39870461)和中国博士后科学基金资助项目

收稿日期:1999-01-16 接受日期:1999-07-20 责任编辑:程红焱

育基因进行研究。但 GMS 广泛存在, 据 Kaul (1988) 统计, 已在 294 种植物和 21 个种属间杂交组合中发现了 GMS, 35 种植物通过理化诱变也获得了 GMS 突变体。GMS 核不育基因和 CMS 依赖胞质的核不育基因是两类不同性质的基因, 它们可处于一体中, 在不同时期表达, 如玉米、矮牵牛、油菜和梨属。一个物种控制育性的基因位点可能很多, 但一个核不育材料多为一对基因控制的。已知小麦 4A、4B、5A、5B 和 5D 染色体上存在着有控制育性的基因位点, 每个位点的突变或缺失都能引起雄性不育。太谷核小麦的显性不育基因位于 4D 染色体短臂上, 并且显性核不育基因 Tal 也广泛应用于小麦的育种实践中(刘秉华和杨丽, 1992)。Aarts 等(1993)从拟南芥中通过转座子标签法分离并测得了第一个核不育基因 MS2 的序列结构。MS2 基因 cDNA 序列中有一小段和小麦线粒体 DNA 是同源的, 同源性这一现象可以为线粒体和呼吸对花粉发育的影响以及线粒体基因重排导致 CMS 提供一点线索。对 MS2 基因以及其它物种中的同源基因进一步研究能使我们大大提高对花粉发育的认识, 可能给用于杂种生产中的雄性不育植株的生产提供方法。目前我们对白菜型油菜的核不育两用系进行 GMS 基因的分子标记, 并筛选出 0.72kb 的特异基因片段, 经测序, 对照 GenBank, 与油菜小孢子发育早期的调控基因 BP4 58% 同源, 并含有启动子序列(Miao 和 Cao, 1999)。表 1 列举了已定位到确定的染色体上的核不育基因。

表 1 核不育基因在染色体上的分布

植物名称	核不育基因		携带核不育基因的染色体数目	连锁群数目
	已知的	定位的		
大麦	18	15	7	7
番茄	55	25	8	12
豌豆	38	10	5	7
玉米	60	33	10	10
水稻	31	15	5	9
白菜	21	2	2	

2 细胞质雄性不育(CMS)基因

近年来, 对 CMS 基因的研究集中在(1)不育系与保持系在叶绿体和线粒体基因组的结构、转录和翻译产物方面的差异以及和雄性不育之间的可能关系上; (2)恢复系中的恢复基因分子水平的研究。

2.1 叶绿体 DNA(cpDNA)及其产物与 CMS

叶绿体是绿色植物细胞所特有的细胞器, 和线粒体一样具有自主性, 是高等植物核外的另一类遗传系统。有关 cpDNA 对 CMS 的影响的研究并不完全, 结论也存在较多的分歧。

Pring 等对玉米 4 种细胞质的 cpDNA 的限制性核酸内切酶片段分析发现: 各胞质的 cpDNA 之间没有明显的差异(Pring 等, 1999)。在高粱细胞质雄性不育材料 cpDNA 的限制性内切酶片段分析中也没有发现与正常胞质的差异。Kadowaki 等(1990)用 PstI 和 XbaI 酶切水稻黎明不育系及其保持系的 cpDNA 的电泳分析未发现不育系与保持系之间存在多

态性。在细香葱 cpDNA 的 RFLP 和 BAPD 分析及其基因翻译产物—蛋白质合成实验的电泳分析均未发现有差异。在烟草中, 目前尚不能决定 cpDNA 是否与雄性不育性有关。在一些杂交种中 cpDNA 与 CMS 也没有关系。

但李继耕等在菠菜、玉米、小麦、高粱、水稻等多种作物中, 利用 DNA 双相电泳技术对叶绿体与雄性不育性的关系进行系统的研究表明: 不育系的叶绿体基因组与其相应的保持系之间存在明显的差异。李继耕也对叶绿体蛋白质、叶绿体超微结构进行了研究, 都发现不育系和保持系之间存在差异。因此他认为高等植物的细胞质雄性不育性同叶绿体 DNA、叶绿体蛋白质以及叶绿体超微结构之间存在某些联系是肯定的; 叶绿体 DNA 的突变引起它所编码的一系列蛋白质特性的变化, 因此雄性不育性受到影响也是可能的(李继耕, 1983)。在萝卜不育系 401A 中 cpDNA 的特异性序列编码核糖体蛋白小亚基 S12 的 C 一末端 7 个氨基酸残基和 S7 的 N 一末端的 93 个氨基酸残基, 从而构成 rps12—rps7 操纵子的一部分, 说明叶绿体核糖体蛋白 S12 和 S7 可能和 CMS 存在某些联系(李继耕, 1992)。由于发现大麦可育系比细胞质不育系具有较高的胡萝卜素含量, 较低的叶黄素/胡萝卜素 B 比率以及异常的叶绿素 a/b 比率, 因此认为叶绿体可能是大麦雄性不育基因的载体。同时对高粱、甘蓝型油菜、白菜型油菜核质互作型雄性不育、榨菜胞质不育 cpDNA 限制性核酸内切酶片段的分析也都显示了叶绿体可能是这些植物胞质不育基因的载体(高洁等, 1987)。周长久等(1994)比较萝卜雄性不育系的 cpDNA 的 RFLP 的图谱有差异。Chen 等(1993)应用原位杂交技术证实: 高粱雄性不育系和保持系的 cpDNA Hind II 酶切片段确实不同, 并且克隆到 rpo2 这一基因片段, 通过测序再和其他作物如水稻、玉米、烟草、梨等同源序列比较, 证实了 rpo2 是编码 RNA 聚合酶亚单位的。但他在报告中对于 CMS 机理究竟是否同这一基因片段有关没有作出肯定的结论。

因此从现有的研究资料来看, 确切认为 cpDNA 一定同雄性不育有关的结论并不多。cpDNA 和 mtDNA 之间是否存在一定的相互作用及这种相互作用是否对 CMS 有影响等这些问题都有待于研究。越来越多的研究发现: cpDNA 和 mtDNA 之间存在同源性, cpDNA 和 CMS 之间关系的研究有待于进一步深入。

2.2 线粒体 DNA(mtDNA)及其产物与 CMS

Levings 和 Pring(1976)首次利用多种限制性核酸内切酶酶切玉米正常胞质(N)和 T 型胞质的 mtDNA, 发现两者的酶切图谱有明显的差异。他们俩的工作是对细胞质雄性不育胞质基因进行分子水平研究的开端。随后对玉米, 珍珠米, 向日葵, 矮牵牛, 甜菜及菜豆等作物的 RFLP 图谱作了研究, 都表明 mtDNA 表现了很高的多态性程度(Levings 等, 1990), 而 cpDNA 则没有多态性, 蛋白质离体翻译合成实验电泳后结果一样。在细香葱、水稻和玉米的 mtDNA 的 RFLP 和 RAPD 分析所得到的结果也一样(许仁林等, 1995; 汪志纯等, 1997)。

对 CMS 的各种材料的研究至今为止都认为胞质不育和 mtDNA 的突变有关。这些突变体经常产生能表达的嵌合可读框 orf(open reading frames)。异常的线粒体以及和雄性不育有关的序列明显是由于 DNA 的重排、插入、缺失所产生的(Dewey 等, 1986)

CMS—T 细胞质玉米的线粒体基因 T—urf13 编码着一条 13kD 的多肽 urf 13。urf 13 蛋白质直接或间接地增加了玉米对真菌的敏感性并且影响花粉的发育(Dewey 等, 1986)。对向

日葵可育与 CMS 花药 mtDNA 组成与表达的比较研究发现, 其 mtDNA 的差异存在于编码 F1 的 ATP 酶 α -亚基基因(atpA)的 3' 端。序列分析表明, 不育花药 mtDNA 的 atpA 编码区下游发生了包括倒位与插入的重排。这种重排产生了一个新的开放可读框 of, 这个可读框可与 atpA 共转录, 产生一种 15kD 蛋白质。这表明雄性不育性与 atpA 基因重排所产生的新的 of 以及其编码的 15kD 蛋白质存在密切关系(Laver 等, 1991)。Johns 等发现菜豆的 CMS 与线粒体上被称为 PVS 的 3kb 特异序列有关。PVS 序列至少存在两个 of, 分别编码 10.9kD 和 26.7kD 的蛋白质。Johns 对含 PVS 序列的区域作了 DNA 的限制性图谱和 DNA 测序。但文章中并未指出 PVS 序列影响 CMS 的机理(John, 1992)。在矮牵牛的 mtDNA 中 pcf 序列和其 CMS 紧密相关, 花药中 pcf 的转录频率是叶中 4~5 倍(Young 等, 1987)。日本学者 Kadowaki 等(1990)比较了 BT 型不育系与其保持系的线粒体 COX I、COX II、Cob、atp6 等基因的组织结构, 发现少 6 基因和 Cob 基因的拷贝数不育系与保持系不同, 不育系有 2 个 atp6 基因拷贝, 保持系只有 1 个拷贝。DNA 序列分析表明, 不育系的 2 个 atp6 基因拷贝中, 一个是正常的, 另一个是嵌合基因 *urf-mc*, 并认为 *urf-mc* 与 BT 型雄性不育有关。许仁林等应用 AP-PCR 技术从水稻 WA 型雄性不育系的 mtDNA 中得到一个特异的扩增片段 R2-630WA, 并证明了 R2-630WA 的确与雄性不育系密切关联。对 R2-630WA 片段的序列分析发现, 该序列中含有一个包含 20 个氨基酸残基的短肽的编码区域, 其功能如何, 值得进一步研究; 此序列中含有一个长 10bp 的小反向重复序列 5'-AC-CATATGGT~3'。许仁林等认为这反向重复序列可能是水稻 mtDNA 发生分子内或分子间重组的一个热点部位。

小重复序列在植物线粒体基因组上广泛存在, 在玉米、甘蓝小麦、向日葵上都发现, 其大小最长的达 689bp, 最短的为 7bp。这类小重复序列不仅是 mtDNA 分子内重组的热点区, 而且这类发生在小反向重复序列间的分子重组一般难以逆转。和 CMS 有关的植物线粒体的嵌合基因, 如玉米的 *urf-13T* 基因(Dewey, 1986), 矮牵牛的 *pcf* 基因(Young 等, 1987), 水稻的 *urf-mc* 基因(许仁林等, 1995)都是由于小反向重复序列的存在所发生的分子重组的结果。

对 pol CMS 研究认为它可能来源于芥菜型油菜。许多学者的研究均发现 pol 胞质不育系和可育系的差异表现在线粒体 DNA 的 atp6 基因的调控水平上(L'Homme 等, 1993; 1997)。Singh(1991)认为 atp6 基因上游一个类似 tRNA 因子因其加工过程不同, 部分造成 atp6 表达的差异。Handa 等(1992)发现不育胞质线粒体 DNA 在 atp6 基因位点附近发生重组, 产生一个新的能编码 105 个氨基酸的 *orf224*, 这段基因在育性恢复过程中转录受抑制, 这段序列可能与 pol 胞质不育有关。

mtDNA 片段的丢失也会引起雄性不育。Pla 等(1995)发现: 烟草的两个 CMS 的突变体, 由于缺失 mtDNA 的 *nad7* 基因的最后两个外显子, 导致 NAD7 多肽的缺失, NAD7 多肽的缺失虽不至于使大多数细胞丧命, 却足以导致花粉的败育。与 CMS 有关的 mtDNA 片段见表 2。

表 2 与 CMS 有关的 mtDNA 片段

植物名称	不育胞质类型	mtDNA 片段	参考文献
高粱	9E	<i>cox1</i> 假基因	Leaver, 1989
水稻	BT	<i>urf-rme</i>	Kadowaki 等, 1990
玉米	T	<i>urf-13</i>	Hanson 等, 1999; Wise, 1999
矮牵牛		<i>pcf</i>	Boeshore 等, 1985
向日葵		ORFH522	Kohler 等, 1991
胡萝卜		PKT5	Kanzaki 等, 1991
菜豆		<i>pvs</i>	John 等, 1992
		<i>orf107</i>	Tang, 1998
		<i>urf209</i>	Tang, 1998
烟草		<i>nad7</i>	Pla 等, 1995
油菜	<i>pol</i>	<i>pol-urf</i>	Handa 等, 1992
	<i>ogu</i>	<i>orf138</i>	Grelon 等, 1994; Temple 等, 1992
	<i>pol</i>	<i>orf 224</i>	L'Homme 等, 1993; 1997

除了对线粒体主 DNA 研究认为 CMS 和 mtDNA 的重排、插入、缺失有关外, 研究者还对线粒体的质粒样 DNA 和 CMS 关系进行了研究。在早期玉米等作物线粒体 DNA 的分析研究中, 发现存在质粒样 DNA。它们在不育系和保持系中表现出特异性分布, 似乎与 CMS 有关。Yamaguchi 等(1991)首次发现 BT 型不育系线粒体中, 存在大小为 1.5kb(B1)和 1.2kb (B2)的两种质粒样 DNA, 而在相应的保持系中却未发现质粒样 DNA。随后, 在其它水稻不育系和保持系中都发现有质粒样 DNA, 但在大小或数量上彼此有差异。Pring 等从玉米 S 型胞质 mtDNA 中发现两个低分子量的质粒样 DNA, 被定名为 S1 和 S2。S1 和 S2 在结构上是相似的, 两者在近 5' 端有 1254bp 的同源区域, 每个分子的两端均具有 208bp 反向重复序列(IR), IR 的存在类似转座因子的作用。Lonsdale 和 Schardl(1983)证实了 S1、S2 的 208bp 的 IR 区与线粒体主 DNA 的 $\delta-\delta, \varphi-\varphi'$ 区域有较高的同源性, 并且在这个区域内, S1、S2 分子与线粒体主 DNA 发生重组、交换从而导致线粒体主 DNA 的分子重排以及线状化的 mtDNA 分子的产生。从 B1 和 B2 在线粒体主 DNA 和核 DNA 中存在同源顺序来看, 质粒样 DNA 可能来自线粒体主 DNA, 然后自行复制, 并以转座子形式再整合到线粒体基因组的不同位点上。此外, 不育系中的质粒样 DNA 也可能插入到核基因组中, 作为线粒体向细胞核传递信息的一种机制。但另外的研究发现, 质粒样 DNA 和线粒体 DNA 无同源顺序, 而在核 DNA 中却存在, 因此认为质粒样 DNA 也可能来自核 DNA。但有许多事实与上述观点不符。其一, Kadowaki 等在水稻 WO440A 中未发现有线粒体质粒样 DNA。其次, 野败型 V41A; B 中均含有 4 个质粒样 DNA, 并无差异。第三, 台中 65A 有 B1 和 B2, 其同质恢复系也含 B1 和 B2。因此许多研究者认为游离质粒样 DNA 不一定和 CMS 有关系。

2.3 核质关系与 CMS

核质关系包括两方面: CMS 依赖的育性基因与胞质的关系和核背景基因型与 CMS 胞质的关系。CMS 胞质与 CMS 依赖的和核基因互作方式, 可以通过 CMS 与可育胞质间差异的 mtDNA 片段的表达进行研究。在玉米、水稻、萝卜、矮牵牛、甜菜、烟草和油菜等植物中, CMS 系差异片段的转录本大小和丰度受恢复基因的调控。从 RNA 水平来看, 恢复基

因既可在转录时又可在转录后调控胞质基因的表达。恢复基因对线粒体蛋白质的作用的研究列于表3。

表3 CMS系与其同核异质可育系线粒体高体翻译蛋白质差异

植物名称	CMS类型	CMS系差异蛋白质		Rf效应	参考文献
		增加	减少		
玉米	T	13	21	+	Forde等,1980; Dill等,1997
	C	17.5	15.5		Forde等,1978,1980; Tang,1998
	S	58-84			Forde等,1978,1980
高粱	A1	66			Dixon, Leaver, 1982
	A3	12, 54-82			Dixon, Leaver, 1982
	9E	42	38		Dixon, Leaver, 1982
水稻	BT		22	+	刘祚昌等,1989
	WA	20			刘祚昌等,1989, Zhang, 1994
	D	70.8			李仁林等,1992
小麦	T		28		司智海,刘植义,1989
油菜	ogu	37,17	40,16		Li等,1998; Landyren等,1996
烟草	deb	30,28		+	Hanson,1989,1999
	rap	30			Hanson,1989, 1999
矮牵牛		25		+	Nivison, Hanson, 1989
细香葱		17.5		+	Mannschedel等,1989
向日葵		16		+	季静等, 1998
胡萝卜		17		-	Kanzaki, 1991

核基因在线粒体的生物遗传和功能上起着重要作用。虽然在酵母和哺乳动物中,关于细胞核和线粒体是如何相互作用的研究已取得了许多进展,但在高等植物中对于核基因是如何调控线粒体基因表达的机理却知之甚少。He等(1995)对菜豆的研究中发现:使花粉恢复育性的2个核基因Fr和Fr2是通过不同机理实现育性恢复的。Fr2抑制和雄性不育有关的mtDNA中的PVS序列的表达,而Fr是通过删除PVS序列使得花粉恢复育性的。PVS序列的删除发生在正在发育的大孢子母细胞中。但Fr是如何影响这一过程的机理并不清楚。对CMS-T胞质玉米研究中发现:抑制uf-13编码的13kD蛋白质合成只需Rf1一个恢复基因,而恢复育性则同时需要Rf1和Rf2两个恢复基因(Dill等,1997),Rf1基因怎样调控13kD蛋白质的表达仍是一个谜。Cui等(1996)对Rf2基因进行分离和克隆,研究中认为它的表达产物可能是乙醛酸脱氢酶。该酶分解乙醛,从而解毒;也有可能是在能量代谢中起着作用。Li等(1998)报道油菜胞质不育中核恢复基因调控mtDNA的转录。Zhang等(1994)利用RAPD和RFLP标记技术对水稻WA-CMS的Rf-3恢复基因作了基因图谱,水稻中的Rf1恢复基因定位在第10条染色体上,Ichikawa等已经建立了基于rapid-PCR之上的检测Rf1区域的系统。最近季静等对向日葵的Rf1恢复基因作了标记并阐明Rf1恢复基因在CMS育性恢复中的作用(季静等,1996;1998)。因此认为许多物种中CMS的表现型是由于线粒体损伤所引起的,核恢复基因抑制了引起线粒体损伤那部分基因的表达从而引起花粉恢复育性。综上所述,核育性恢复基因通过调控和CMS有关的mtDNA片段的表达或删除和CMS有关的转录活跃的mtDNA片段使得育性得

以恢复。但核育性恢复基因是否和其他核基因一起协调作用来使育性恢复这一问题也值得探讨。

CMS 胞质和核背景基因型的互作已知表现在下列几个方面: (1) 诱导 mtDNA 结构变化, 引起 CMS 和引起 CMS 恢复可育(Hanson, 1989); (2) 在转录水平上调控线粒体基因组表达(Hanson 等, 1999; Tang, 1998; Menassa 等, 1999; Wise 等, 1999); (3) 影响 CMS 对环境的敏感性(Kaul, 1988)和败育过程(陈伟程等, 1986)。

3 雄性不育基因表达和环境条件关系

有些雄性育性的表达受到环境条件的调控。在不同的环境条件下, 雄性育性会发生转换, 育性转换有时是量变式的, 有时是质变式的。这种转换为人工生理调控育性创造了条件。环境条件可分为两类: 一类是自然环境, 如光照、温度; 另一类是人工创造的植物生长发育环境即人工环境, 如化学药剂处理。

据 Kaul 统计: 70% 的不育基因型对环境条件十分敏感, 其中 CMS 敏感类型比例(3:1) 高于 GM 敏感类型比例(2.3:1), 温度敏感性(50%) 明显多于光周期敏感类型(13%)。我国发现的湖北光敏感核不育水稻(简称农垦 58S) 是一个在一定温度范围内长日照条件下表现雄性不育, 短日照条件下表现雄性可育的隐性突变体, 核育性基因的表达受光周期调节(石明松等, 1986)。张端品等(1990)用标记基因通过经典的遗传分析将不育基因定位到第 5 染色体上, 林兴华等(1996)用 RFLP 法将不育基因定位于第 3 和第 7 染色体上。这两家实验室实验结果不一致的原因有待研究。李子银等(1999)最近用 AFLP 法获得与不育基因连锁的标记, 但到目前为止, 仍没有成功地克隆核不育基因的报道。王台和童哲(1992; 1996; 1997)的研究表明“农垦 58S”叶片及叶绿体中有特异蛋白质存在, 已鉴定出 2 个 61kD 和 1 个 45D 的特异性蛋白质, 并对 61kD 蛋白质进行了纯化及 N 一端氨基酸序列分析, 发现 61kD 蛋白质和水稻叶绿体 ATPase β 亚基的 N 端氨基酸序列相同。但 61kD 蛋白质是否确是叶绿体 ATPase 的 β 亚基, 它与光敏核不育特异性有何联系等问题还有待于进一步研究。最近又分离一个 41 kD 的蛋白质, 并进行了 N 端序列分析, 但功能尚不清楚。此外也有研究表明光周期处理诱导的叶绿体超微结构及其光化活性的变化与育性调控有关, 内源赤霉素等植物激素也参与了光周期调节育性的过程(赵玉锦等, 1996)。光敏色素作为光敏核不育育性调节的光周期受体已得到证明。植物光形态形成的大量研究揭示了光敏色素调节高等植物发育、分化和生长的各个过程, 其中包括调节数十种酶或蛋白的合成。光敏色素处于育性调节信号传递过程中第 1 个关键性的部位, 所以对于雄性不育系和它原始种间光敏色素差异研究对于探索光周期控制育性表达的机理具有重要的意义。梁成志、童哲等(1994)对“农垦 58S”光敏色素基因进行了 RFLP 分析。但梁成志等人的实验结果表明农垦 58S 和农垦 58 的光敏色素基因差别很小, 只有少数的二核苷酸 CpG 的甲基化程度不同。光敏色素基因研究有待于进一步深入。

温度对育性表达的分子机理研究得较少。不同作物甚至同一作物不同的雄性不育系对温度的反应不同, 根据不育性对温度的反应, 可分为高温敏感型和低温敏感型。温度对雄性不育性的影响较为普遍, 即使在光敏核不育水稻的育性转换中也起着重要作用, 温度对其育性影响的研究表明影响育性的温度范围不同, 总的趋势是低温导致育性增加, 较

高温促使表现不育。Tatliglu 对温敏不育的细香葱进行研究认为温度对育性的影响是遗传控制的,是由一显性核基因 T 控制;T 在高温下的作用似恢复基因,而在低温下无效。T 基因是否直接影响线粒体内物质的合成还是随温度改变而影响着和 CMS 相关的 mt-多肽的合成?T 作用的具体机理还不清楚。Dickson 证明温敏雄性不育青花菜基因 ms6 是一隐性基因。杨晓云和曹寿椿(1997; 1998)对不结球白菜 pol 胞质雄性不育研究中认为:温敏不育最根本的原因在于其遗传上具有控制花药正常发育、花粉正常形成的结构基因,并在一定的温度条件诱导下能够表达。温度调控雄性不育基因是遗传机制,温敏雄性不育基因是一个温度调节基因,只有当温度在某个特定范围内温度调节基因才得以表达。与普通的雄性不育一样,温敏雄性不育也是基因调控细胞内一系列生理生化变化的结果,生理生化反应的变化导致细胞显微结构的改变,进而在外部形态上表现出来。光照和温度通过调节核育性基因的表达来影响植物的育性。童哲最近对光敏感核不育水稻的发育生物学研究做了综述,提出了光温敏核不育水稻育性调节的多因子协同作用模型(童哲, 1998)。

4 结束语

雄性不育性作为一个性状而言,它的实现是极其复杂的,涉及育性基因在一定时、空上的表达以及体内、体外因子对这种表达的影响和调控等因素。综上所述,分析 cpDNA 和 mtDNA 及核质关系在解释雄性不育机理方面已取得一定的进展,提高了人们对植物雄性不育遗传机制的认识,这是生理生化研究所达不到的。但从总体上看,目前的研究结果尚不足以建立起对雄性不育现象全面的理解,特别是对胞质育性基因的确切定位、序列结构、核质基因产物的作用,以及这种作用对小孢子发生和发育的影响等还没有说服力的结果和认识。同时对育性调控基因及调控产物的研究也处于起步阶段。因此,我们认为可从以下几个思路进行深入的研究:(1)直接从 DNA 入手分离核不育基因和胞质不育基因,通过分析基因的序列结构与功能,揭示雄性不育分子机理。(2)从发育生物学角度出发,研究雄性不育基因在个体发育和系统发育中的功能与作用,阐明雄性不育发生的分子机制。(3)从细胞信号传导角度,研究环境对雄性不育的影响。有机地将三个方面结合将最终揭示植物雄性不育这一具有重大理论意义和经济价值的遗传现象的本质。

参 考 文 献

- 王台,童哲,1992.光周期敏感核不育水稻叶绿体的特异性蛋白质.植物学报,34(6):426~431
- 王台,童哲,匡廷云,汤佩松,1996.光敏核不育水稻 61KD 特异性蛋白质的纯化和 N 端序列分析.植物学报,38(10):772~776
- 王台,童哲,匡廷云,汤佩松,1997.光敏核不育水稻农垦 58S 41kD 蛋白质的 N-端序列分析.植物学报,39(10):979~982
- 石明松,邓景扬,1986.湖北光敏感核不育水稻的发现、鉴定及其利用途径.遗传学报,13(2):107~112
- 司智海,刘植义,1991.普通小麦 T 型细胞质雄性不育系及其保持系与线粒体多肽的电泳比较研究遗传学报,18(1):44~50
- 刘祚昌,赵世民,詹庆才,陈一吾,1989 水稻线粒体基因翻译产物与细胞质雄性不育性.遗传学报,16(1):14~21
- 刘秉华,杨丽,1992.植物细胞核雄性不育的研究与利用.生物学通报,5:15~16
- 许仁林,谢东,师素云,陆维忠,国伟,汪训明,1995.水稻线粒体不育有关特异片段的克隆及序列分析.植物学报,37

- 许仁林, 姜晓红, 师素云, 刘嵩民, 易琼华, 1992. 水稻野败型细胞质雄性不育系和保持系与蛋白质多肽的比较研究. 遗传学报, 19(5): 446~452
- 李子银, 林兴华, 谢岳峰, 张端品, 1999. 利用分子标记定位农垦 58S 的光敏核不育基因. 植物学报, 41(7): 731~735
- 李继耕, 1983. 叶绿体遗传与细胞质雄性不育. 中国农业科学, 1: 49~52
- 李继耕, 1992. 细胞质雄性不育性的分子机理. 遗传, 14(2): 37~40
- 杨晓云, 曹寿椿, 1997. 温度对不结球白菜波马胞质雄性不育系育性的影响. 南京农业大学学报, 20(2): 22~27
- 杨晓云, 曹寿椿; 1998. 不结球白菜波里马胞质雄性不育系花药发育的细胞形态学研究. 南京农业大学学报, 20(3): 36~43
- 汪志纯, 王京兆, 曾孟潜, 王斌, 刘雅楠, 1997. 玉米多胞质雄性不育系 mtDNA 的 RAPD 分析. 中国农业科学, 30(4): 45~49
- 陈伟程, 段韶芬, 1986. 玉米 C 型细胞质雄性不育恢复性遗传研究. 河南农业大学学报, 20(2): 125~139
- 张端品, 邓训安, 余功能, 林兴华, 谢岳峰, 李泽炳, 1990. 农垦 58S 水稻光敏抗雄性不育基因的染色体定位. 华中农业大学学报, 9: 407~419
- 林兴华, 余功能, 张端品, 谢岳峰, 秦发兰, 1996 农垦 58S 水稻光敏抗雄性不育基因的染色体的图谱定位. 华中农业大学学报, 15: 1~5
- 周长久, 张露, 李继耕, 1994. 萝卜雄性不育系叶绿体 DNA 的 RFLP 分析. 园艺学报, 21(1): 45~49
- 季静, 王罡, Bellassen E, Serieys H, Berville A, 1996. 运用 Bulked DNA—RAPD 方法寻找向日葵胞质雄性不育核恢复基因 R7 探针研究. 中国科学(C 辑), 26: 376~384
- 季静, 王萍, 胡汉桥, 阎石, 王罡, 1998. 向日葵 CMS 育性恢复的研究. 遗传学报, 25(3): 265~270
- 赵玉锦, 童哲, 陈华君, 金幼菊, 1996 内源植物激素与光敏核不育水稻农垦 58S 育性的关系植物学报, 38: 936~941
- 高洁, 孔繁瑞, 李继耕, 1987. 油菜细胞质雄性不育系叶绿体 DNA 特异片段的分子克隆. 遗传学报, 14: 337~343
- 梁成志, 童哲, 宋文源, 朱立煌, 1994. 光敏核不育水稻光敏色素基因的 RFLP 分析. 植物学报, 36(9): 664~670
- 童哲, 1998. 光敏核不育水稻的发育生物学研究评述. 植物学报, 40(3): 189~199
- Arats M, Dirkse W G, Stiekema W J, Pereira A, 1993. Transposon thong of a male sterility gene in Arabidopsis. Nature, 363(M): 715~717
- Chen Z L, Muthukrishnan S, Liang G H, Schertz K F, Hart G E, 1993. A chloroplast DNA deletion located in RNA polymerase gene *prp2* in CMS lines of sorghum. Mol Gen Genet, 236: 251~259
- Cui X, Wise K P, Schnable P S, 1996. The *rfl2* nuclear restorer gene of male~sterile T~ cytoplasm maize. maize 272: 1334~1336
- Dewey R E, Levings C S III, Timothy D H, 1986. Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the Texas male~sterile cytoplasm. Cell, 44(3): 439~449
- Dill C L, Wise R P, Schnable P S, 1997. an and *Rf** mediate unique T~ *rfl3*~ transcript accumulation, revealing a conserved motif associated with RNA processing and restoration of pollen fertility in T~ cytoplasm maize. Genetics, 147(3): 1367~1379.
- Dixon L K, 1982. Mitochondrial sensitivity to *Drechslera maydi* T~ toxin and the synthesis of a variant mitochondrial polypeptide in plant derived from maize tissue cultures with Texas male~sterile cytoplasm. Theor Appl Genet, 63: 75~80
- Forde B G, Oliver C J, 1978. Variation in mitochondrial translation products associated with male~sterile cytoplasm in maize. Proc Natl Sci, USA, 75: 3841~3845
- Forde B G, Oliver C J, 1980. Nuclear and cytoplasmic genes controlling synthesis of variant mitochondrial polypeptides in male~sterile maize. Proc Natl Acad Sci, USA, 77: 418~422
- Grelon M, Budar F, Bonhomme S, Delletier G, 1994. Ogura cytoplasmic male~sterility (CMS)~ associated of 138 is translated into mitochondrial membrane polypeptide in male sterile Brassica cybrids. Mol Gen Genet, 243(5): 540~547
- Handa H, Nakajima K, 1992. Different organization and altered transcription of the mitochondrial *atp6* gene in the male~sterile cytoplasm of rapeseed (*Brassica napus* L.). Curr Genet, 21(2): 153~159
- Hanson M R, 1989. Male sterility loci in plant mitochondrial genomes. In: Millin B J (ed) Oxford Surveys of Plant Molecular Biology, 6: 61~82
- Hanson M R, Wilson R K, Bentolila S, Kohler R H, Chen H C, 1999. Mitochondrial gene organization and expression in *petunia* male fertile and sterile plants. J Hered, 90(3): 362~8
- He S, Lyznik A, Mackenzie S, 1995. Pollen fertility restoration by nuclear gene *Fr* in CMS bean: nuclear~directed alteration of a mitochondrial population. Genetics, 139(2): 955~962
- Johns C, Lu M, Lyznik A, Mackenzie S, 1992. A mitochondrial DNA sequence is associated with abnormal pollen development in cytoplasmic male gene region. Plant Cell, 3(12): 1349~1362

- Kadowaki K, Suzuki T, Kazama S, 1990. A chimeric gene containing the 5' portion of atp6 is associated with cytoplasmic male sterility of rice. *Mol Gen Genet*, **224** : 10~16
- Kanzaki H, Takeda M, Kaneya T, 1991. Sequence analysis of a mitochondrial DNA fragment isolated from cultured cells of cytoplasmic male sterile. *Strain Jpr J Genet*, **66**(6) :719~724
- Kaul M L H, 1988. Male sterility in higher plants. Berlin : Springer-verlag. L'Homme Y, 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. *Gavr Genet*, **31**(4) : 325~335
- Kohler R H, Hom R, Lossl A, Zetsche K, 1991. Cytoplasmic male sterility in sunflower is correlated with the 10' transcription of a new open reading frame with the atpA gene. *Mol Gen Genet*, **227**(3) :369~376
- L'Homme Y, Brown G G, 1993. Organizational differences between cytoplasmic male sterile and male fertile Brassica mitochondrial genomes are confined to a single transposed locus. *Nucleic Acids Research*, **21**(8) :1903~1909
- L'Homme Y, Stahl R J, U X Q, Hameed A, Brown G G, 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. *Gavr Genet*, **31**(4) :325~335
- Landgren M, Zeffestrand M, Sundberg E, Glimelivs K, 1996. Alloplasmic male sterile Brassica lines containing B. *turnerfortii* mitochondria express an ORF 3' of the atp6 gene and a 32 kDa protein. *Plant Mol Biol*, **32**(5) :879~890
- Laver H K, Reynolds S J, Moneger F, Leaver C J, 1991. Mitochondrial genome organization and expression associated with cytoplasmic male sterility in sunflower (*Helianthus annuus*). *The Plant J*, **1**(2) : 185~193
- Levings C S III, Pring D R, 1976. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA in normal and Texas cytoplasmic male sterile maize. *Science*, **193** : 158~160
- Leaver J R, Gray M W, 1982. Mitochondrial genome organization and expression in higher plants. *Ann Rev Plant Physiol*, **33** :373~422
- Li X Q, Jean M, Landry B S, Brown G G, 1998. Restorer genes for different forms of brassica cytoplasmic male sterility map to a single nuclear locus that modifies transcripts of several mitochondrial genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, Aug 18; **95**(17) : 10032~10037
- Menassa R, L'Homme Y, Brown G G, 1999. Post-transcriptional and developmental regulation of a CMS-associated mitochondrial gene region by a nuclear restorer gene. *Plant J*, **17**(5) :491~499
- Miao Y, Cao J S, 1999. Separation and identification of novel marked fragment closely linked genic male sterile genes of *Brassica campestris*. In The XVI International Botanical Congress, in Missouri, USA. Nivison H T, Hanson M R, 1989. Identification of a mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in *petunia*. *Plant Cell*, **1**(11) : 1121~1130
- Pla M, Mathieu C, De Paep R, Chetrit P, Vodel F, 1995. Deletion of the last two exons of the mitochondrial nad7 gene results in lack of the NAD7 polypeptide in a Nicotiana glauca CMS mutant. *Mol Genet*, **248** :79~88
- Pring D R, Tang H V, Hawad 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**(3) : 386~393.
- Scharl C L and Lonsdale, 1985. Mitochondrial DNA rearrangement associated with fertile revertants of S-type male sterile maize. *Cell*, **43** : 361~368
- Singh M I, Brown G G, 1991. Suppression of cytoplasmic male sterility by nuclear genes alters expression of a novel mitochondrial sterile gene in brassica plants. *Plant Cell*, **4**(4) :435~449
- Tang H V, Chang R, Pring D R, 1998. Cosegregation of single genes associated with fertility restoration and transcript processing of sorghum mitochondrial orf107 and orf209. *Genetics*, **150**(1) :383~391
- Temple M, Makaroff C A, Mutschler M A, Earle E D, 1992. Novel mitochondrial genomes in Brassica napus somatic hybrids. *Curr Genet*, **22**(3) :243~249
- Wise R P, Gobelman-Werner K, Pei D, Dill C L, Schnable P S, 1999. Mitochondrial transcript processing and restoration of male fertility in T-cytoplasm maize. *J Hered*, **90**(3) :380~385
- Yamaguchi H, Iwabuchi M, Kyozaiba J, Shimamoto J, 1991. Electrophoretic analysis of mitochondrial DNA from normal and male sterile cytoplasms in rice. *Jab J Genet*, **58** :607~611
- Young E G, Ha M R, 1987. A fused mitochondrial gene associated with cytoplasmic male sterility is developmentally regulated. *Cell*, **50** :41~49
- Zhang Q F, Shen B Z, Dai X K, Mei M H, Maroof M A S, Li Z B, 1994. Using bulked extremes and recessive class to map genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, **91** : 8675~8679