

油菜胞质不育类型相关基因研究进展

俞咪娜^{1,2}, 董媛媛¹, 徐攀峰¹, 张明龙¹

(1. 浙江大学 原子核农业科学研究所, 农业部核农学重点开放实验室, 浙江 杭州 310029,

2. 南京农业大学 植物保护学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 细胞质雄性不育在油菜杂种优势利用中具有重要作用, 研究细胞质雄性不育的不育机理对有效利用杂种优势, 实现三系配套及创造强优势组合具有重要意义。介绍 Ogu CMS, Pol CMS, Nap CMS 等目前国际上主要的甘蓝型油菜细胞质雄性不育类型, 综述了线粒体基因组上与 CMS 性状相关基因的位点或片段的最新研究进展, 并讨论当今学术界有关 CMS 产生机理的主要论点。

关键词: 甘蓝型油菜; 细胞质雄性不育; 线粒体 DNA; 不育机理

中图分类号: S565.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2008)增刊-0007-05

Progresses on Studying Infertility-related Genes of Cytoplasmic Male Sterility in *Brassica napus* L.

YU Mi-na^{1,2}, DONG Yuan-yuan¹, XU Pan-feng¹, ZHANG Ming-long¹

(1. Institute of Nuclear-Agricultural Sciences, Key Laboratory of Chinese Ministry of Agriculture for Nuclear-Agricultural Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2. Plant Protection College, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: CMS in rapeseed is of tremendous importance in its commercial application in hybrid seed production. It is a great significance on studying the mechanism of cytoplasmic male sterility (CMS) for the effective use of heterosis and creating superior combination. This paper introduced the current major types of CMS in *Brassica napus* L. such as Ogu CMS, Pol CMS, Nap CMS and so on. We also reviewed the progresses of infertility-related sites or fragments of CMS in the mitochondrial genome, and the main points of the sterile mechanism were discussed.

Key words: *Brassica napus* L.; Cytoplasmic male sterility; Mitochondrion DNA; Sterile mechanism

油菜是一种适应性强、用途广、经济利用价值高的油料作物, 在我国广泛种植。细胞质雄性不育 (Cytoplasmic male sterility, CMS) 培育油菜杂交新品种, 是实现油菜优质高产、稳产的一种有效途径。目前, 国内外已报道研究的主要类型有: 萝卜胞质雄性不育系 (Ogu CMS)、波里马胞质雄性不育系 (Pol CMS)、黑芥胞质雄性不育系 (Nigra CMS)、*B. tournefortii* Tour 胞质雄性不育系统 (Tour CMS)^[1]、Nap 胞质雄性不育系统 (Nap CMS)、NCa 胞质雄性不育系 (NCa CMS) 等。

对大量植物 CMS 不育机理研究表明, 植物叶绿体基因组较小且相对稳定, 与 CMS 没有明显相关性, 而植物线粒体 DNA (mtDNA) 具有复杂性和不均

一性, 存在分子间和分子内重排等现象^[2]。同时在 mtDNA 内广泛存在大小为 7~689 bp 的同向或反向重复序列, 是 mtDNA 分子内重组形成嵌合基因的热点区, 功能基因位于重复序列的边缘, 就有可能在重组时受到影响而引起基因结构的变化, 影响基因功能^[3]。在 CMS 植株的线粒体基因组中发现受核恢复基因调控的 ORF、URF 阅读框和嵌合基因, 更显示 mtDNA 与 CMS 存在密切关系^[4]。目前已发现与 CMS 相关的 mtDNA 片段即开放阅读框 (Open reading frame, ORF) 至少有 14 个, 由线粒体编码序列、线粒体侧翼序列及一些未知序列组成, 直接与线粒体启动子序列结合或与线粒体上游基因共转导、表达发挥作用^[5]。但总体来说对油菜 CMS 的研究还处于

收稿日期: 2007-12-15

基金项目: 浙江省科技厅杂交油菜新品种选育及中试 (2006C12019); 浙江大学大学生科研计划 (第九期); 农业部专项 (04-05-03B)

作者简介: 俞咪娜 (1985-), 女, 浙江萧山人, 硕士, 主要从事植物病理学研究。

通讯作者: 张明龙 (1952-), 男, 浙江杭州人, 副研究员, 主要从事油菜遗传育种研究。

初始阶段, 这些差异引起不育的真正机理尚未研究清楚^[6]。

1 油菜细胞质雄性不育类型及不育相关基因

1.1 Ogu 胞质雄性不育系

起源于 Ogura 在日本鹿儿岛萝卜群体中发现的天然雄性不育系。1977 年 Barnerot 等^[7]通过连续回交把甘蓝型油菜的细胞核导入萝卜 CMS 细胞质中, 育成甘蓝型油菜 Ogu CMS 植株。该材料不育性十分稳定, 但在低温下存在叶绿素缺乏, 叶片黄化, 蜜腺发育不良, 影响昆虫传粉等问题^[1], 在油菜中找不到恢复源。

1988 年 Makaroff 等^[8]酶切分析萝卜 Ogu CMS 及其保持系的线粒体基因组, 比较不育系与可育系酶切图谱, 发现至少 10 个片段存在倒置现象; 而且正常胞质萝卜与 Ogu CMS 胞质萝卜间存在 *atp6* 和 *cox1* 的转录本差异。Banhomme 等和 Temple 等^[9,10]分别在 Ogu CMS 的 mtDNA 中发现有特异的 2.5 kb *Nco*I 带和 7.0 kb *Nru*I 带, 其中 *Nco* 2.5 中存在 *ORF138* 和 *ORF158* 两个基因及一个 tRNA 基因 (*trnM*), *ORF38* 和 *ORF158* (一个常见的线粒体基因) 共转录成 1.4 kb 的嵌合 mRNA, 序列分析表明其中 *ORF138* 为 Ogu CMS 特有的新基因。*ORF138* 包括起始密码和终止密码, 经测序得到有效碱基 705 bp, 其中编码区序列长 417 bp, 是完整的功能单位^[11]。

Mohammed Bellaoui 等研究线粒体 *ORF138* 的 3 种不同结型 *Nco*2.5/13S (不育), *Nco*2.7/13F (回复突变) 和 *Bam*4.8/18S (不育) (具有相同的 5' 端, 不同的 3' 端结构), 发现它们在体内的转录差异由 3' 端引起。建立 mRNA 体外衰变和加工表达系统表明 3' 端的顺式作用元件决定了 RNA 的加工和稳定性, *Nco*2.5/13S 无此结构则形成的 *ORF138* mRNA 迅速被降解。可见 mRNA 的 3' 端结构决定了其本身的稳定性, mRNA 的稳定性决定了 *ORF138* 能否编码出与胞质雄性不育相关的蛋白质^[12-14]。

在蛋白质水平上, Subbiah 和 Christopher^[15]制备谷胱甘肽型 *ORF138* 与 S 转移酶的融合蛋白抗体, 表明翻译或翻译后加工造成 Orf138 蛋白具有器官特异性表达特点, 而在花药、花瓣、萼片和子房组织中表达没有明显的组织特异性表明基因型与组织特异性蛋白质表达不相关。Yann Duroc 等^[16]研究显示, Orf138 蛋白与雄性不育植株的线粒体内膜相连, 分子量为 22 kDa, 易形成寡聚体。将 *ORF138* 基因转入大肠杆菌, *ORF138* 表达不影响大肠杆菌的呼

吸作用却抑制大肠杆菌生长, 说明 Orf138 作用原理与玉米雄性不育相关的 T-URF13 作用机制存在一定差异, 而更准确解释 Orf138 的生化性质和生理作用还需要对其在质膜上行为进行深入研究。

1.2 Nap 胞质雄性不育系

又称 Shiga-Thompson 系统, Shiga 和 Baba 从日本甘蓝型油菜品种 Chisayanatane × Hokuriku 23 的杂交后代中发现细胞质雄性不育 S CMS。1976 年 Shiga 等发现与 S CMS 属于同一类型的另一个雄性不育系 T CMS, 两者合称 Nap CMS。Nap CMS 的恢复系较多, 但找不到有效的保持系, 而且不育性不稳定, 对温度十分敏感^[7]。

1993 年 L'Homme 等^[17]用 21 个线粒体基因作探针研究 Nap CMS 的育性表达调控, 显示控制 Nap CMS 的不育基因区域位于线粒体 DNA 上的 *NAD5/ORF139/ORF222* 位点。用分别包括 *ORF222*、*NAD5*、*ORF139* 序列的 DNA 片段进一步分析 Nap 不育系、Nap 可育 F₁ 的转录产物变化, 结果只有 *ORF222* 探针在 Nap 不育系和 Nap 可育 F₁ 间存在明显的转录产物差异^[18]。Gregory 和 Mona (1998)^[13,18,19]研究发现 *ORF222* 基因为 4.5 kb, 与 Pol CMS 的线粒体基因组中的 *ORF224* 不育相关基因具有 80% 的同源性。也有研究显示 *ORF222* 与 *ORF224* 的核苷酸序列有 85% 的相似性, 两者编码的蛋白质有 79% 相似^[20]。

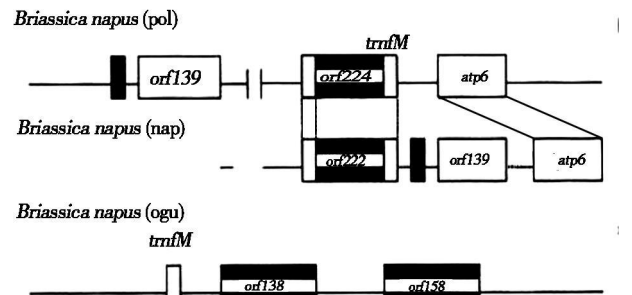


图1 与 CMS 相关的线粒体基因结构 (Patrick S. Schnable 等^[21])

Fig. 1 Chimeric cytoplasm male sterility (CMS) - associated regions in the mitochondrial genomes.

1.3 Pol 胞质雄性不育系

1972 年傅廷栋在原产于波兰的甘蓝型油菜品种波利马中发现的天然不育株。该不育系农艺性状好, 开花中后期彻底不育, 已实现三系配套并在生产中大量推广应用。Pol CMS 被认为是当前最有希望、最有实用价值且研究进展最快的甘蓝型油菜胞质不育系^[7]。一些学者已经把 Pol CMS 的不育基因转移到白菜型油菜和大白菜中, 育成的蔬菜杂交种已在生产上得到广泛推广应用^[22,23]。

近年来,发现 *ORF224/ATP6* 基因座位与 *Pol CMS* 的不育性状是高度连锁的, *Pol CMS* 和可育系的差异表现在 *ATP6* 基因的调控水平上^[24]。袁美等^[25]对 *Pol CMS* 及可育系花蕾的 mtRNA 进行 Northern blot,发现 *ATP6* 在保持系中只转录产生一个丰度很高的 1.1 kb 转录本,在不育系和恢复系中,这个转录本的丰度明显减少并出现了分子量较大的 2 个转录本 2.2, 1.9 kb。与不育系相比,恢复系 2.2, 1.9 kb 转录本丰度明显减少,并伴随着两个新的转录本 1.4, 1.3 kb。*ATP6* 基因上游还发现分子重排现象,有一个编码 224 个氨基酸的 *ORF224* 基因。*ORF224* 由 *ORFB* 基因 5' 端 58 个氨基酸编码序列及一个 501 个核苷酸未知来源序列组成共 675 个核苷酸,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TGA^[14,26]。*ORF224* 下游有截断的 *trfM* 假基因和 *ATP6* 基因,而正常胞质的 *ATP6* 基因 5' 上游只有完整的 *trnM* (*tRNA fmet* 基因) 假基因^[10,27]。Handa 等分析 *Pol CMS* 油菜和正常株的 *ATP6* 基因序列发现它们完全相同,都编码 261 个氨基酸多肽,只是不育株 *ATP6* 基因上游存在一个编码 105 个氨基酸多肽的开放阅读框 *pot-urf*^[24,28]。

ORF224 基因编码 224 个氨基酸的蛋白质,分子量为 26 kDa,可能是一个膜整合蛋白^[29]。赵荣敏等^[30,31]将扩增出的 3 个 *ORF224* 基因片段在大肠杆菌中表达,未检测到特异的 Orf224 蛋白,但发现诱导后大肠杆菌生长受到抑制作用。Yann D 等^[32,33]通过表达不育相关基因检测到不育株中特有的蛋白质。

目前关于 *ORF224* 引起 CMS 的可能原因主要有 2 种假说^[34]: 一是认为 *ORF224* 与其下游基因 *ATP6* 共转录减少了 *ATP6* 的转录而减少 Atp6 蛋白量,从而损伤线粒体的正常生理功能,引起花粉败育;另一种假说认为 *ORF224* 可能产生出一种毒性蛋白,引起胞质不育。也有研究认为是表达产物引起核糖体结合位点发生改变,而使得翻译不正常^[24]。*ORF224* 虽是 CMS 的相关因子,但它必须和核基因进行互作才能发挥作用^[26]。因此 *ORF224* 如何引起 CMS 的机制,还需要进一步进行基因工程和蛋白质结构功能等方面的研究。

1.4 B. tournefortii Tour 胞质不育系统

印度学者 Rawat D. S. 和 Anand I. J. 在芥菜型油菜中发现天然细胞质雄性不育材料,1991 年 Pradhan A. K. 等证实该不育材料的细胞质来源于油菜的一个近缘种 *Brassica tournefortii*, 属异源细胞质雄性不育,简称 Tour CMS^[35]。Mathias R. 和 Stiewe G. 等分

别将 Tour CMS 转移到甘蓝型油菜中,得到不育性十分稳定的 Tournefortii-Stiewe 胞质雄性不育系,该材料的线粒体 mtDNA 为 2 个亲本基因重排得到。目前该 CMS 被引到其他地区,并实现三系配套。

Dieterich 等^[36,37]分析了 25 个线粒体基因转录本在不育株和可育株之间的差异,发现在 *ATP9* 周围有差异,在不育株的 *ATP9* 上游重组产生一个编码 193 个氨基酸的 *ORF193*。它与 *ATP9* 共转录,形成一个 1.58 kb 对 CMS 有专一影响的双顺反子 mRNA (specific bi-cistronic mRNA),而在育性恢复植株中,该 1.58 kb 转录本的水平降低^[36,37]。说明 *ORF193* 可能与 Tour CMS 的不育性有关。

ORF193 编码一个 22.7 kDa 的多肽,与 ATP 合酶复合体第 6 亚基 (*Atp6*) 的部分序列具有同源性。因此 Orf193 可能干涉线粒体 F₀F₁-ATP 合酶的功能或组装,从而损伤依赖于 ATP 的花粉发育过程,引起雄性不育^[36,38]。

1.5 NCa 胞质雄性不育系

NCa CMS 是从甘蓝型油菜 *Brassica napus* L. 与埃塞俄比亚芥 *B. carinata* 的远缘杂交后代中选育出来的^[39]。通过对该不育系恢保关系和农艺性状、同工酶等方面的研究,推测 NCa CMS 可能属于一种不同于 *Pol CMS*、*Nap CMS* 等不育系的新胞质不育类型^[40]。

2007 年危文亮等^[41]用 10 个线粒体基因为探针,对 NCa 不育系、保持系和可育 F₁ 幼蕾的 mtRNA 进行 Northern 检测,其中 *ORF222*、*ORF139* 和 *ATP9* 等 3 个探针检测到转录本差异。*ORF222* 和 *ORF139* 分别在不育系和可育 F₁ 中产生相同大小和丰度的转录本,*ORF222* 检测到的 3 条转录本分别为 1.1, 0.9, 0.6 kb, *ORF139* 检测到 0.8, 0.6 kb 两条带,但是在保持系中没有检测到转录本。*ATP9* 探针在不育系和保持系中都检测到 1 条 0.6 kb 的转录本,而在可育 F₁ 中检测到 0.6, 1.2 kb 的转录本。表明 NCa CMS 的形成可能与 *ORF222*、*ORF139* 和 *ATP9* 基因的表达有关,但确定座位还有待进一步研究和探讨。

1.6 其他胞质不育系

Kosena (Kos) CMS 是利用原生质体融合技术将日本萝卜中的 Kosena CMS 不育胞质转移到甘蓝型油菜中,得到的甘蓝型油菜 Kos CMS。Kos CMS 的 mtDNA 酶切图谱与 Ogu CMS 的相比只存在微小差异,Kos CMS 存在 1 个与 Ogu CMS 的不育相关基因 *ORF138* 具有同源性的嵌合基因 *ORF125*^[9] 编码含 125 个氨基酸,分子量为 17 kDa 的特异蛋白。

ORF125 比 *ORF138* 在 95 和 99 位核苷酸处被替换,并在 *ORF138* 内部 3' 端缺失一段 39 bp 的重复序列^[14]。

Diplotaxis muralis CMS 由日向、今野(1976)采用秋水仙碱处理 *D. muralis* × 白菜 F_1 使之染色体加倍,再用白菜连续回交得到二倍体时发现。该 CMS 雄蕊在减数分裂前期已经变形,呈扁平状,含有微量花粉^[42]。近几年,国内外许多科学家也致力于甘蓝型油菜新不育类型的创造和研究,通过大量选育和种质创新工作,得到许多优质不育系,如董振生等^[43]选育的 CMS 212A,王泽斌等^[44]选育的优质 492A CMS,田保明等^[45]育成的 CMS22A,这些 CMS 系都具有较好的农艺性状,但对他们的不育机理研究还有待深入。

2 讨论

植物细胞质雄性不育是一种错综复杂的生物学特征。大多数具有与 CMS 相关 *ORFs* 的植物,保留完整的正常线粒体基因,有研究认为 CMS 植株可能属于功能获得突变体^[46]。

目前 CMS 不育机理的研究主要集中在不育系线粒体基因组上,但研究发现的基因表达产物是什么,如何引起雄性不育还不清楚。而且是否 mtDNA 就是 CMS 的不育基因所在还未有定论,除了线粒体主基因组外,许多研究发现线粒体中还存在可自我复制的线粒体 DNA 质粒。这些质粒按形状可分为环状线粒体 DNA 质粒和线状线粒体 DNA 质粒^[47]。在玉米中已经发现有 S1、S2 和 2.3 kb 3 个线形类质粒,其中 S1、S2 的分布与 CMS 有关^[48]。多数学者认为线粒体 DNA 质粒与 CMS 并不存在简单的联系,线粒体 DNA 质粒的存在增加了线粒体 DNA 的多态性^[49]。大量研究显示高等植物细胞内 3 大遗传体系之间存在遗传物质的交换,mtDNA 具有随机整合其他基因组的 DNA 序列并保持下来的能力,即能获得漫游 DNA,这也增加了线粒体基因组的复杂性^[2,50]。

mtRNA 的大量编辑现象近年来在大多数植物中发现,作为植物线粒体的一种基因表达修正机制,认为 RNA 编辑与 CMS 产生有关^[51,52]。可能 RNA 编辑不充分或偏离,使非正确的编辑产物妨碍线粒体功能的正常发挥,导致不育现象^[6]。

同样具有遗传物质的叶绿体是否与线粒体一样对油菜的 CMS 产生作用,或者与线粒体 DNA 共同作用形成细胞质雄性不育。刘一农等^[6,53]认为,保持系的 cpDNA 在进化过程中核苷酸序列发生变异,

破坏了叶绿体和线粒体及细胞核之间的平衡。而细胞核对线粒体行使功能有一定的指导作用,那么它对线粒体 DNA 重组产生油菜 CMS 相关基因是否也有指导作用。CMS 的机理研究对线粒体、叶绿体、细胞核三者间的互作也应该重视,而不是单纯停留在单方面的研究。

另一方面,对 CMS 的研究很大一部分集中在细胞和 DNA 水平上,RNA、蛋白质等表达水平上缺少相对直观的研究。可以从不同水平研究基因在不同时空上的表达特异性,更为准确立体地展现相关基因和蛋白在植物不育形成中的功能。

油菜 CMS 不育机理研究还处在相对初始阶段,还有许多问题可以借鉴拟南芥、烟草等研究较为成熟的植物的研究方法作进一步研究。相信随着生物技术的发展,CMS 机理将会逐渐明晰,并产生巨大的经济价值。

参考文献:

- [1] 张明龙,章徐鸯,林宝刚,等.国外油菜细胞质雄性不育(CMS)系统的研究进展[J].黑龙江农业科学,2004(1):36-38.
- [2] 朱英国.水稻雄性不育生物学[M].武汉:武汉大学出版社,2000:9-12.
- [3] 张海艳,于元杰,周月亮.植物细胞质雄性不育的生物学研究进展[J].山东农业学报:自然科学版,2004,35(1):137-141.
- [4] 刘齐元,刘飞虎,何宽信,等.烟草雄性不育的分子机理研究进展[J].江西农业大学学报,2003,25(4):514-518.
- [5] Hanson M R, Bentolila S. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development[J]. Plant Cell, 2004(16):154-169.
- [6] 赵军良,梁爱华.高等植物细胞质雄性不育分子机理的研究进展[J].西北植物学报,2004(8):1543-1546.
- [7] 刘燕,董振生,张改生,等.甘蓝型油菜细胞质雄性不育研究进展[J].西北农业学报,2004,13(1):114-119.
- [8] Makaroff C A, Palmer J D. Mitochondrial DNA rearrangements and transcriptional alterations in the male sterile cytoplasm of *Ogura* radish[J]. Mol Cell Biol, 1988, 8(4):1474-1480.
- [9] 田志宏.油菜细胞质雄性不育的分子机理及其应用研究进展[J].湖北农学院学报,2002,22(4):368-372.
- [10] 黄青阳,朱英国.植物细胞质雄性不育与育性恢复的分子机理研究[J].武汉植物学研究,1999,17(Sup):52-60.
- [11] 黄浩.萝卜细胞质雄性不育细胞学与分子标记的初步研究[D].南京:南京师范大学,2004.
- [12] Mohammed B, Georges P. The steady-state level of mRNA from the *Ogura* cytoplasmic male sterility locus in *Brassica* hybrids is determined post-transcriptionally by its 3' region[J]. The EMBO Journal, 1997(16):5057-5068.
- [13] 张明方,杨景华,陈竹君.十字花科作物细胞质雄性不育的分子机理[J].农业生物技术学报,2003,11(5):538-544.
- [14] 袁美,杨光圣,傅廷栋.油菜细胞质雄性不育的分子

- 生物学研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2002, 24(2): 87–90.
- [15] Subbiah K, Christopher A M. Organ-specific reduction in the abundance of a mitochondrial protein accompanies fertility restoration in cytoplasmic male-sterile radish[J]. Plant Mol Biol, 1994(26): 935–946.
- [16] Yann D, Catherine G, Sophie H, et al. Biochemical and functional characterization of ORF138, a mitochondrial protein responsible for Ogura cytoplasmic male sterility in Brassicaceae[J]. Biochemie, 2005(87): 1089–1100.
- [17] L'Homme Y, Brown G G. Organization differences between cytoplasmic male sterile and fertile Brassica mitochondrial genomes are confined to a single transposed locus[J]. Nucl Acids Res, 1993, 21: 1903–1909.
- [18] L'Homme Y, Stahl R J, Li X Q, et al. Brassica napus cytoplasmic male sterility is associated with expression of a mtDNA region containing a chimeric gene similar to the Pol CMS-associated *orf224* gene[J]. Curr Genet, 1997(31): 325–335.
- [19] Gregory G B, Mona D. Molecular analysis of Brassica CMS and its application to hybrid seed production[J]. Acta Hort, 1998(459): 265–274.
- [20] 卢钢, 曹家树, 陈杭. 芸薹属植物分子标记技术和基因组研究进展—文献综述[J]. 园艺学报, 1999, 26(6): 384–390.
- [21] Patrick S, Schnable, Roger P, W. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration[J]. Trends In Plant Science, 1998, 3(5): 175–180.
- [22] 魏忠芬, 王通强, 黄泽素, 等. 甘蓝型油菜萝卜细胞质雄性不育研究进展[J]. 贵州农业科学, 1999, 27(1): 47–50.
- [23] 曾川, 徐洪志, 廖淑梅, 等. 甘蓝型油菜 Pol CMS 微分控制及遗传改良研究进展[J]. 西南农业学报, 2007, 20(1): 163–167.
- [24] 徐一兰, 唐海明, 官春云. 油菜细胞质雄性不育的分子生物学及杂种优势利用研究进展[J]. 作物研究, 2006(5): 446–452.
- [25] Yuan M, Yang G S, Fu T D, et al. Transcriptional control of *orf224/atp6* by the Pol CMS restorer *rfp* gene in *Brassica napus* L[J]. Acta Genetica Sinica, 2003, 30(5): 469–473.
- [26] 王永飞, 马三梅, 张鲁刚, 等. *orf224* 基因与芸薹属中间杂种雄性不育性的相关性[J]. 甘肃农业大学学报, 2006, 41(5): 36–39.
- [27] 王迎春, 赵荣敏, 范云六. 植物细胞质雄性不育分子机理研究进展[J]. 农业生物技术学报, 1996, 4(1): 62–69.
- [28] Handa H, Nakajima K. Different organization and altered transcription of the mitochondrial *atp6* gene in the male-sterile cytoplasm of rapeseed (*Brassica napus*) [J]. Curr Genet, 1992, 21: 153–159.
- [29] Singh M, Brown G G. Suppression of Cytoplasmic Male Sterility by Nuclear Genes Alters Expression of a Novel Mitochondrial Gene Region[J]. The Plant Cell, 1991, 3: 1349–1362.
- [30] 赵荣敏, 王迎春, 范云六. 油菜波利马细胞质雄性不育相关线粒体基因 *orf224* 在大肠杆菌中的克隆和表达[J]. 农业生物技术学报, 1996, 4(1): 15–22.
- [31] 赵荣敏, 王迎春, 范云六. 油菜波利马细胞质雄性不育胞质特异性 *orf224* 在大肠杆菌中表达产物分析[J]. 农业生物技术学报, 1996, 4(1): 38–43.
- [32] Yann Duroc, Catherine G, Sophie H, et al. Nuclear expression of a cytoplasmic male sterility gene modifies mitochondrial morphology in yeast and plant cells[J]. Plant Science, 2006, 170: 755–767.
- [33] 林宝刚, 黄海, 张龙, 等. 甘蓝型油菜 Polima 和 Shan 2A CMS 的 *orf224* 基因的序列分析[J]. 中国农业科学, 2006, 39(6): 1282–1286.
- [34] Singh M, Brown G G, Curr Genet. Characterization of expression of mitochondrial gene region associated with the Brassica "Polima" CMS[J]. Developmental in Fluences, 1993, (24): 316–322.
- [35] 杨光圣, 傅廷栋. 甘蓝型油菜 *Tour* 细胞质雄性不育三系选育成功[J]. 中国农业科学, 1999, 32(2): 112.
- [36] 马三梅, 王永飞. 油菜细胞质雄性不育相关的 DNA 位点和与性恢复基因的研究进展[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(2): 119–125.
- [37] Dieterich J H, Braun H P, Schmitz U K. Alloplasmic male sterility in *Brassica napus* (CMS' Tournfortii-Stiewé) is associated with a special gene arrangement around a novel *atp9* gene[J]. Mol Gen Genomics, 2003, (269): 723–731.
- [38] Stiewe G, Robbelen G. Establishing cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* by mitochondrial recombination with B. tournfortii[J]. Plant Breeding, 1994(113): 294–304.
- [39] 蔡明, 刘贵华, 秦选佑. 甘蓝型油菜雄性不育的遗传研究. I. NCa 甘蓝型油菜异核型雄性不育材料选育初报[J]. 中国油料, 1993(4): 1–3.
- [40] 危文亮, 王汉中, 刘贵华. 甘蓝型油菜新型细胞质雄性不育系 NCa 不育胞质类型的分子鉴定[J]. 中国农业科学, 2005, 38(10): 1965–1972.
- [41] 危文亮, 王汉中, 刘贵华. 甘蓝型油菜 NCa CMS 育性相关候选线粒体基因及其恢复基因的转录调控[J]. 作物学报, 2007, 33(1): 102–106.
- [42] 侯喜林, 曹寿椿, 吴志行. 十字花科作物主要细胞质雄性不育类型及其利用(下)[J]. 长江蔬菜, 1999(6): 1–4.
- [43] 董振生, 刘绚霞, 董军刚, 等. 甘蓝型油菜胞质雄性不育系 212A 的选育与研究[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(4): 31–34.
- [44] 王泽斌, 杨鸿, 彭武. 优质甘蓝型油菜胞质不育系 492A 的选育[J]. 中国西部科技, 2005(6 下半月刊): 52–53.
- [45] 田保明, 王建平, 文雁成, 等. 甘蓝型油菜胞质雄性不育系 CMS22A 的选育与遗传—I. 双低不育系 CMS22A 的选育及其败育类型研究[J]. 河南农业科学, 2005, 2: 22–25.
- [46] Christine D Chase. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial nuclear interactions[J]. TRENDS in Genetics, 2006, 23(2): 81–90.
- [47] Georges Pelletier, Francoise Budar. The molecular biology of cytoplasmically inherited male sterility and prospects for its engineering[J]. Current Opinion in biotechnology, 2007(18): 1–5.
- [48] Levings C S, Brown C G. Molecular biology of plant mitochondrial[J]. Cell, 1989, 56: 171–179.
- [49] 涂, 朱英国. 水稻线粒体基因组与细胞质雄性不育研究进展[J]. 遗传, 1997, 19(5): 45–48.
- [50] 崔萍, 霍丽云. 植物的线粒体基因组研究[J]. 山东轻工业学院学报, 2000, 14(1): 55–58.
- [51] 陈德富, 陈喜文. 植物线粒体基因的表达及控制的生命现象[J]. 生命科学研究, 1999, 3(2): 102–109.
- [52] 马三梅, 王永飞. 关于植物细胞质雄性不育概念的商榷[J]. 种子, 2005, 24(6): 61–62.
- [53] Chen Z. A chloroplast DNA deletion located in RNA polymerase gene *npoc2* in CMS lines of sorghum[J]. Mol Gen Genet, 1993: 236–251.