

洋葱细胞质雄性不育的分子机制

周婷婷, 付雅莉, 任洪杰, 徐启江

(东北林业大学 生命科学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:洋葱细胞质雄性不育(CMS)是由雄性不育细胞质与核雄性可育恢复基因座纯合隐性基因型决定,属于母性遗传。雄性不育是线粒体与细胞核相互作用失衡的结果,其雄性不育表型可以被细胞核的育性恢复基因 *Rf* 所抑制。现介绍了洋葱细胞质雄性不育的遗传研究,综述了已克隆的 CMS 基因及恢复基因的功能特征,重点阐述了洋葱细胞质雄性不育和育性恢复基因作用机理的研究进展,以期对洋葱杂交育种及分子标记辅助育种提供理论参考。

关键词:洋葱;细胞质雄性不育;线粒体 DNA;雄蕊瓣化

中图分类号:S 632 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)03-0183-06

雄性不育是指植物花粉不能正常发挥功能或没有功能特征,分为 3 种类型:细胞核雄性不育(genic male sterility,GMS)、与核基因有关、光周期热敏感基因型

第一作者简介:周婷婷(1989-),女,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,现主要从事植物发育等研究工作。E-mail:ztt19900619@sina.com

责任作者:徐启江(1969-),男,山东安丘人,博士,教授,研究方向为植物分子发育生物学。E-mail:qijiangxu@126.com

基金项目:哈尔滨市科技创新人才专项资金资助项目(2013RFLXJ015)。

收稿日期:2015-11-02

雄性不育(photoperiod thermally-sensitive genotype male sterility,PTGMS)、细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility,CMS)与线粒体 DNA(mitochondrial DNA)有关^[1-2]。母性遗传的细胞质雄性不育性状是被子植物界中极为普遍的一种生物学特征,在大约 200 个物种中广泛存在^[3]。植物细胞质雄性不育与线粒体基因异常有关,在花药发育期,通过交换、缺失或插入产生的各种重组线粒体基因干扰了线粒体正常功能,造成细胞核与细胞质之间的协同作用被破坏,从而引发雄性不育^[4-6]。

洋葱(*Allium cepa* L.)细胞质雄性不育系是最早用于生产 F_1 代杂种的雄性不育系统^[7],建立起了由雄性

Research on the Present Situation Problems and Development Strategy of Celery Industry in Xiji County of Ningxia

SA Jindong, WANG Lin, GUO Zhiqian

(Guyuan Branch, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Guyuan, Ningxia 756000)

Abstract: Considerable research about the present situation, problems and development strategy of celery industry in Xiji county of Ningxia had been conducted in order to realize its sustainable development. The results showed that the income of the local celery was 3 695.74—15 695.74 RMB per 667 m². Considering the county's 3.695 74—15.695 74 hundred million RMB of the total revenue, and 742.12—3 151.76 RMB of the per capita annual income 808.70—3 434.52 RMB for agricultural population, celery price should be kept more than 0.73 RMB per kilogram to ensure farmers profit. In conclusions, the local celery industry faced with a serious of problems, including simple production structure, inferior irrigation works, backward operational mode, terrible technical service, lack of management institutions, inadequate facilities, insufficient publicity and promotion, short industry chain and fierce competition. Developmental countermeasures were advised, e.g., revising the developmental plan, optimizing cropping system, building the irrigation system, improving the operation mode, strengthening of technical support, improving the management measures, strengthening infrastructure, deepening the publicity and promotion and strengthening processing and conversion.

Keywords: Ningxia; Xiji; celery; present situation; countermeasure

不育系、保持系和恢复系构成的 3 系育种程序。作为杂交母本的 CMS 系缺少功能性核育性恢复基因 (restorer of fertility, *Rf*), 其雄性不育细胞质是由胞质不育基因引起的。SATOHI^[8]发现线粒体 *cob* 基因的起始编码上游区域插入了叶绿体基因片段, 推测该插入导致了洋葱细胞质雄性不育。此外, 在洋葱不育系的叶绿体基因中也发现了区别于可育系的稳定变异^[9], 不育系和可育系的 *Trna-Leu* 和 *Trna-Thr* 基因中间有不同大小的片段插入、且重复数不同。细胞质雄性不育系统是研究质核互作、细胞器遗传转化、杂交育种的模式系统, 在细胞学、生物化学、经典遗传学、分子生物学等层面上开展了洋葱细胞质雄性不育系花药败育时期和原因、育性恢复、分子标记、不育基因克隆、不育性形成机制、育性恢复基因克隆及作用机制等研究, 推动了对植物细胞质雄性不育机理的认识和应用。现综述洋葱细胞质雄性不育分子机理的研究进展, 旨在为洋葱杂交育种及分子标记辅助育种提供理论参考。

1 洋葱细胞质雄性不育系类型

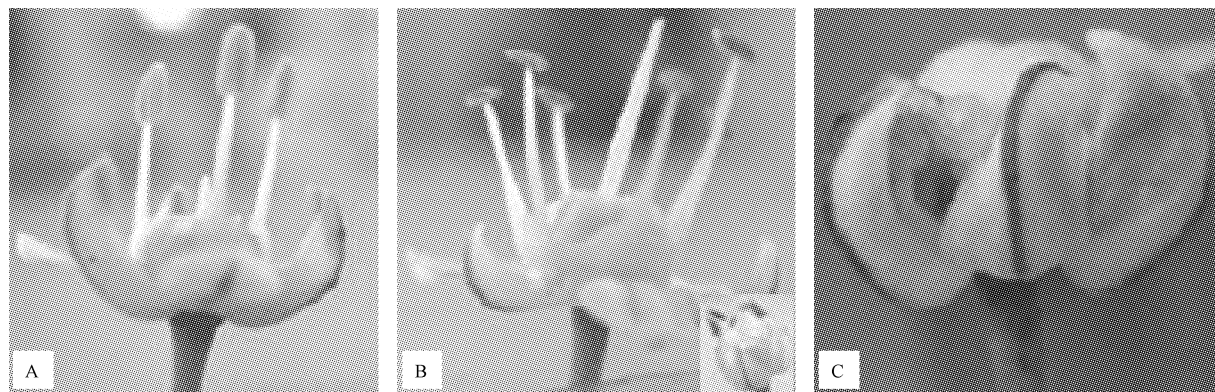
洋葱 CMS 属于质核互作型, 其雄性不育受细胞质基因 (*S*) 和细胞核基因 (*msms*) 共同控制。目前用于洋葱 F_1 杂种生产的 CMS 与育性恢复系统有 2 个, 即 CMS-S^[10] 和 CMS-T^[11], CMS-S 系统是在洋葱栽培品种 ‘Italian Red’ 中发现的, 编号为 13-53 的单株自交后不能结籽, 其不育性是由细胞质 (*S*-细胞质) 与单一的核恢复基因相互作用造成的, 育性可以被细胞核育性位点的显性等位基因 *Ms* 所恢复^[12], 雄性不育植株拥有不育细胞质、育性恢复位点为纯合隐性基因 (*S msms*)。拥有正常细胞质 (*N*)、育性恢复位点为纯合隐性基因 (*N msms*) 的植株为保持系, 通过不育系与保持系杂交可以保持雄性不育系。研究指出, *ms* 隐性等位基因普遍存在于洋葱和分葱 (*Allium fistulosum* L. var. *caespeitosum* Makino) 的事实表明, 在洋葱进化的早期已经发生从 *Ms* 到 *ms* 的突变,

并且这种突变发生了多次^[13-14]。

CMS-T 系统是在法国洋葱栽培品种 ‘Jaune paille des Vertus’ 中发现的^[11], 遗传分析表明, CMS-T 系统的质核互作遗传机理比 *S* 型细胞质复杂得多, 其不育性受 3 对核基因调控: 1 对相对独立的基因 (*A*) 和 2 对互补基因 (*B* 与 *C*)^[15]。由于遗传的复杂性以及育性易于恢复, CMS-T 系统很难用于 F_1 杂种生产。

对线粒体和叶绿体基因组片段分析表明, CMS-T 细胞质与 CMS-S 细胞质的亲缘关系比较远, 而与正常细胞质 (*N*) 亲缘关系比较近, 说明 CMS-T 细胞质起源于 *N* 细胞质^[16]。由可育系细胞质基因直接突变而来, *S* 型不育系可能是可育系细胞质摄入外来基因而发育形成的。CMS-S 型细胞质由于在不同环境条件下能稳定保持其雄性不育性状, 育性恢复又是受单细胞核基因控制的, 因此被普遍用于洋葱 F_1 杂种选育^[17]。

在选育新的洋葱不育系方面, 美国、荷兰和日本等均均以 CMS-S 保持系为轮回亲本来改造现有的不育系, 因此育成的不育系其细胞质仍然与原不育系相同, 这不仅对丰富种质资源的遗传背景作用不大, 还由于细胞质的单一性、同质性在生产上存在病害特异流行生理小种侵袭的潜在危险, 创造新的不育类型是洋葱利用雄性不育系制种的一个方向。PATHAK 等^[18]在洋葱品种 ‘Nasik White Globe’ 中发现了一种新的不育源, 其雄性不育性由细胞质不育因子控制, 细胞质基因对核基因有完全的抑制作用。利用此不育源与 350 份材料测交, 其后代均为雄性不育。HAVEY^[19]通过洋葱与实蒴葱远缘杂交, 用洋葱对远缘杂种进行回交, 构建了具有实蒴葱胞质的洋葱雄性不育系。此外, 马有会等^[20]首次报道了洋葱瓣化型细胞质雄性不育系 *psf-A*, 育性由 1 对核基因控制, 不育性状稳定, 不易受环境条件的影响, 是区别于 *S* 型和 *T* 型的洋葱 CMS 新类型 (图 1)。



注: A. 野生型花; B. 褐药型花; C. 雄蕊瓣化型花。

Note: A. Wild flower; B. Brown anther type flower; C. Stamen petalody flower.

图 1 洋葱花的表型

Fig. 1 The flower phenotype in onion

CMS 的表型主要包括以下 3 种:一是同源转化,即雄性生殖器官(雄蕊)转化为花瓣或雌性生殖器官(心皮);二是雄蕊或雄蕊的特有结构如花药、绒毡层细胞退化;三是雄性器官发育正常但不能产生功能性花粉。目前用于配制 F_1 代杂种的洋葱雄性不育系均为褐药型 CMS。开展雄蕊瓣化型洋葱 CMS、褐药型洋葱 CMS 的比较遗传学、分子生物学分析,可阐释线粒体 CMS 决定基因产生的机制、功能特征、调控核基因表达的信号转导途径、作用方式及其调控的核内靶基因与雄蕊瓣化的关联,揭示雄蕊瓣化型洋葱 CMS 发生的分子基础,拓展洋葱 CMS 资源。

2 洋葱细胞质雄性不育系的细胞形态学特征

2.1 洋葱细胞质雄性不育的细胞学特征

洋葱细胞质雄性不育系花药败育与绒毡层发育有关。主要分为 3 类:绒毡层的提前解体、绒毡层的过度肥大和绒毡层的迟延解体。第 1 种类型是 TATEBE 在从美国引到日本的‘Yellow Globe Danvers’品种中观察到的,花药绒毡层在花粉四分体之前解体,随后小孢子解体;第 2 种败育类型在美国栽培种‘Italian Red’、‘Scott County Globe’^[21] 和印度品种‘Maharashtra’都有报道;第 3 种类型在‘Zittauer Gelbe’和‘Kasticka’中观察到。细胞学特征观察证实,洋葱细胞质雄性不育是由于小孢子和绒毡层细胞之间相互作用的异常行为产生的,不是任何组织单独行为的结果^[22]。

为了揭示洋葱雄性不育小孢子发生败育的现象,杜敏霞等^[23]对洋葱雄性不育 0127A 和雄性可育 0127B 的小孢子发育细胞形态学观察发现:在造孢组织时期,花药发育一致。但在花粉母细胞时期,雄性不育花药的绒毡层收缩与中层完全分离,开始衰退。在二分体和四分体时期,可育系的绒毡层开始溶解,细胞壁解体使原生质体彼此联合在一起。在雄性不育花药中,花粉母细胞形成二分体和四分体,绒毡层解体粘附在药室内壁上。在单包花粉粒时期,药室内壁上出现了纤维层,在其外面还有一薄层表皮层。雄性不育花药中的小孢子萎缩成月牙状,且只见收缩的细胞核,而不见细胞质。对照可育花药,四分体小孢子已从胼胝质中释放出来,成为彼此分离的单胞花粉粒,绒毡层完全消失。成熟花粉粒时期,可育花药的中层已基本解体,花药一侧的 2 个药室间因隔膜解体融为一体。在成熟花粉粒中可见明显的营养核与生殖核。而雄性不育花粉粒进一步收缩、干瘪,有的花粉粒的成分被释放到药室小腔中,只留下空的小孢囊。空花粉粒收缩重叠在一起形成一条黑色条带,在成熟期花室也不开裂。陈沁滨等^[24]发现洋葱雄性不育系 101A 和正常 101B 的植株形态特征基本一致,101A 小花苞不开放,花药小而干瘪无药,花丝细,短并退化,雌蕊较长,伸出花苞外且授粉后结实良好,101B 花粉正常。李园园等^[25]对洋葱不育系 63A 和保持系 63B 进

行花药发育过程中显微结构和超微结构观察发现:不育花药花粉母细胞时期,花粉母细胞发育正常,花粉囊形状不规则,绒毡层发育迟缓。四分体时期,四分体形成正常,中层严重退化,绒毡层与药室壁完全脱离,细胞质浓缩、空泡化。利用 DNA 梯度技术发现不育系绒毡层细胞提早发生程序性死亡。小孢子发育时期,小孢子细胞质发生浓缩、降解,绒毡层完全解体。推测不育系小孢子败育与中层、绒毡层提前衰退有关。

2.2 洋葱雄性不育小孢子败育的时期和特点

高等植物雄性器官从小孢子母细胞发育到双核花粉粒期间都有可能发生败育。不同作物、不同雄性不育类型败育时期的特点各不相同^[26]。双子叶植物不育花粉的败育高峰在造孢细胞至四分体时期较多,而单子叶植物则多在在花粉的单核期至双核期败育,且败育发生在所有的发育阶段^[27]。因此,依植物种类不同,花粉败育的时期和形式多种多样,即使同一种植物也有不同的类型,败育的时期和特征也有差异。通过对洋葱雄性不育材料 0127A 和可育材料 0127B 小孢子发育过程的观察发现:不育材料的小孢子在四分体时期以前与可育材料无差别,都能形成四分体,但在单胞花粉粒时期不育材料的小孢子细胞质被降解,染色浅,缺乏营养物质,无法形成正常的花粉粒^[27]。

3 洋葱细胞质雄性不育系的分子鉴定

鉴别 CMS 的类型及恢复育性的等位基因(MS)位点是选择洋葱雄性不育系和保持系的关键一步,有助于掌握其遗传规律和遗传机理,为合理利用雄性不育系及选育保持系提供理论基础。利用分子标记技术可快速鉴别细胞质类型,例如,利用 RFLP 技术获得洋葱线粒体 DNA 多态性^[28-33]。Ms 位点连锁的 RFLP 标记用于辅助选择洋葱保持系^[34]。CHO 等^[35]用 PCR-RFLP 标记和 SNP 标记区分洋葱雄性可育(N)和雄性不育(S)细胞质。这个标记位于 1 个叶绿体 *psbA* 基因扩增子内。用限制性酶 *MspI* 水解扩增子发现 N-细胞质植株有一个功能 *MspI* 位点(CCGG),而 S-细胞质植株有一个替代位点(CTGG),但不是 *MspI* 的水解位点。与 CHO 等^[36]利用 CMS 特异的 SCAR 标记结果一致。刘杰等^[37]运用 RAPD 技术对洋葱细胞质雄性不育系和相应保持系的线粒体 DNA 进行多态性分析发现:100 个引物中有 98 个引物未扩增出多态性片段,说明不育系和保持系的线粒体 DNA 具有很高的同源性。虽然叶绿体 DNA 不直接参与胞质不育,但源于叶绿体基因组的 DNA 标记也可用来区分细胞质类型^[38]。例如,细胞质雄性不育系 101A 属于 S 型细胞质,其特异片段位于叶绿体基因组^[24]。SATO^[8]、HAVEY^[9]发现 S 型细胞质中线粒体 *cob* 基因存在非正常转录,测序结果表明,*cob* 基因上游区插入一段 471 bp 的叶绿体 DNA 序列,利用此序列的多态性,可以快速而准确地区分 S 型和 N 型细胞质^[39]。

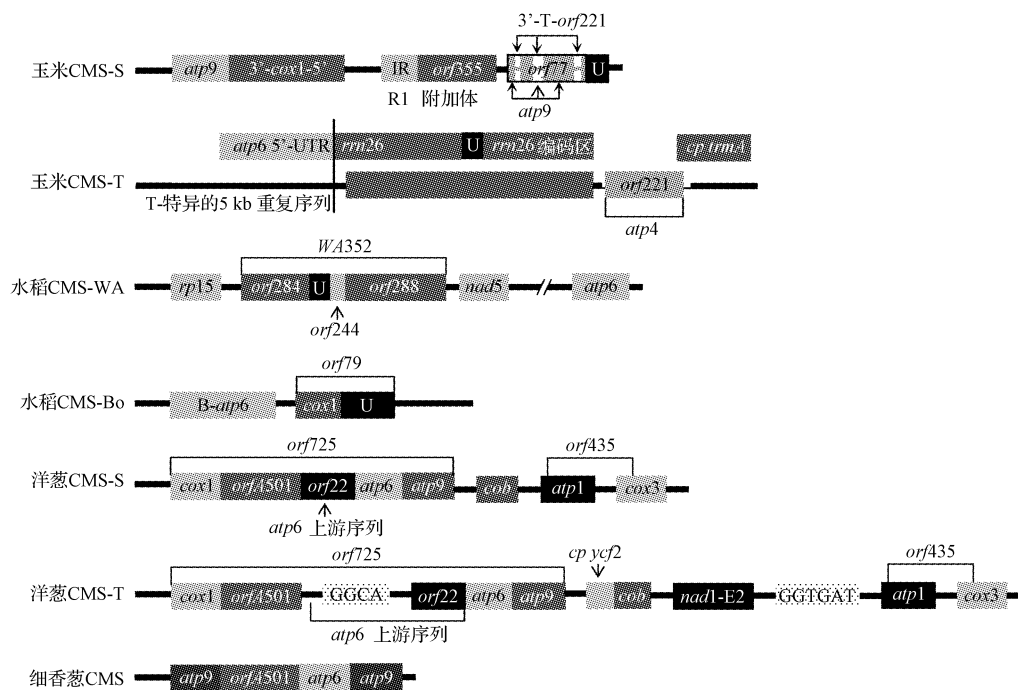
CHO等^[36]和HONG等^[40]对洋葱叶绿体DNA间区序列测序结果表明在S型细胞质与N型细胞质相比缺失一段100 bp的核苷酸序列。并开发了与CMS不育因子连锁的SCAR标记辅助选择保持系。但是,这些方法均不能鉴别T型细胞质。*orfA501*标记存在于S型和T型细胞质,在N型细胞质中缺失^[41]。因此,联合利用*cob*和*orfA501*标记可以区分出S、T和N3种类型的细胞质。

4 洋葱细胞质雄性不育的分子机制

不同单子叶植物其参与决定细胞质雄性不育(CMS)的基因结构不同,见图2。叶绿体和线粒体变异基因是否直接导致了洋葱雄性不育,目前仍不清楚。但是,洋葱细胞质雄性不育机制可能与细香葱类似。细香葱CMS1的花药绒毡层行为及小孢子解体方式与洋葱CMS-S类似。而且,洋葱CMS-S细胞质中存在细香葱CMS1 *orfA501*的同源片段^[42]。导致细香葱细胞质雄性

不育的嵌合基因是由*atp6*与*orfA501*连接后插入到*atp9*中形成的,该基因包含3个阅读框,在雄性不育植株中前2个阅读框的表达水平与正常植株中相似,但是最后1个阅读框的表达水平远低于正常植株,其转录受到细胞核恢复基因的影响^[43]。

洋葱T型细胞质雄性不育受1对独立(*aa*)和2对互补(*bbcc*)的细胞核基因共同控制,杂交后代分离比较复杂。*orfA501*是鉴别洋葱CMS-T不育和可育胞质的有效分子标记,但是,该标记在CMS-T和CMS-S线粒体基因组中均存在。*orfA501*与*coxI*基因紧密相连,3'端与*atp9*、*atp6*、*atp1*等基因相连接。在洋葱T型细胞质雄性不育系中,*orfA501*在单核花粉粒时期的表达量比四分体和花粉粒成熟早期的要高,表明单核花粉粒时期是小孢子败育的关键时期,四分体以后的小孢子能正常游离,但观察不到正常成熟的花粉粒。



注:U,未知起源的插入序列;CP,叶绿体;IR,反向重复序列;UTR,非编码区。

Note:U,insertion sequence of unknown origin;CP,chloroplast;IR,inverted repeat sequence;UTR,untranslated region.

图2 部分单子叶植物线粒体基因组内与细胞质雄性不育(CMS)相关嵌合基因的结构^[16,43-45]

Fig.2 Genomic structures of cytoplasmic male sterility (CMS)-associated genes in partial monocot species^[16,43-45]

洋葱CMS-S型细胞质雄性不育是由1对核隐性基因(*msms*)和不育细胞质(S-cytoplasm)控制,不育细胞质的育性可被核基因中显性等位基因 *M_s* 恢复。S型不育系可能是可育系细胞质摄入外来基因形成的,T型不育系是由可育系细胞质基因直接突变而来,因为T型不育系与可育系细胞质基因的相似性要高于S型不育系^[17,46]。目前,大多数已鉴定的CMS相关线粒体基因均是通过mtDNA重排,由多个序列片段融合而形成新的嵌合开放阅读框^[47-49]。KIM等^[50]通过基因组步移法

从CMS-S和CMS-T洋葱中克隆了嵌合基因*orf725*:其5'端包含*cox1*的近乎全序列、3'端与细香葱*orfA501*同源,从CMS-S和N型细胞质中分别分离了正常活性*coxI*和变异失活*coxI*。洋葱CMS相关线粒体基因*orf725*在正常可育细胞质中无表达,对线粒体发挥正常功能十分重要的*coxI*基因在CMS-S型细胞质中无表达。但是,在CMS-T型细胞质中*orf725*和*coxI*基因均表达^[50]。表明洋葱CMS-T与CMS-S可能存在不同的雄性不育机制。

洋葱 CMS-T 和 N 型细胞质中的 *atp6* 和 *orf22* 无差异。但是, CMS-S 细胞质存在特异的 2 个 SNP 和 1 个 4 bp 的插入序列。在 CMS-S 细胞质中, 通过短重复序列介导的重组, 叶绿体 *ycf2* 的部分序列整合在 *cob* 的上游序列内。 *cox2* 基因的 II 类内含子存在断裂, *cox2* 基因的外显子 1 和外显子 2 侧翼序列分别存在 2 个变异体, 这 4 个变异体在 CMS-T 和 N 型细胞质中完全相同, 在 CMS-S 细胞质中以 Sublimons 形式存在, 这也充分证明 CMS-T 雄性不育源于正常的细胞质^[50]。

同源转化的洋葱雄蕊瓣化型 (petaloid-stamen type) CMS 不育性状稳定, 在一代杂种生产上具有更高的应用价值。 CMS 决定基因引起的花器官同源异型转化, 类似于细胞核内花器官特征属性基因突变产生的表型^[51]。研究表明 CMS 的雄蕊转化为心皮表型是由于 B 基因表达降低引起的。 CMS 决定基因的产物可引起线粒体 ATP 产量降低, ATP 的缺乏阻止了依赖于 ATP 的 UFO (unusual floral organ) 和 ASK1 (*Arabidopsis* SKP1-like) 的水解作用, 而这二者是 B 基因表达的负调控者, 因此, UFO 和 ASK1 在花的第 3 轮内积累而导致雄蕊心皮化^[52]。在胡萝卜 CMS 中, A 基因在第 3 轮内表达而导致雄花瓣化表型。课题组在分析洋葱雄蕊瓣化同源转换的分子机制时发现, 决定花瓣特征属性的 A 功能基因 *APETALA2*-like 基因的表达区域扩展到第 3 轮, 与调控该基因表达的 *MiR172* 有关 (数据未发表)。对瓣化型 CMS 研究目前仅局限于胡萝卜、拟南芥、油菜、榨菜等少数植物, 其中仅有胡萝卜瓣化型 CMS 成功用于生产一代杂种, 对其不育机理的研究也多一些。目前为止, 还未获得与瓣化型 CMS 表型相关的全长基因^[53]。

5 展望

洋葱雄性不育发生的分子机制还没有得到完全阐明。发现参与控制洋葱雄性不育的细胞质基因并注释其功能, 对于深入开展洋葱雄性不育机理的研究具有重要意义。利用二代基因组测序技术, 对洋葱 N 型和 S 型细胞质的叶绿体基因组进行了全测序, 获得能够区分 N 和 S 型细胞质的叶绿体基因, 例如 *accD*、*atpA*、*ycf4*、*ndhA* 等。通过深入解析细胞质雄性不育基因及育性恢复基因的功能、调控机制, 可以为洋葱育种提供理论参考。

参考文献

- [1] GABAY-LAUGHNAN S, KUZMIN E V, MONROE J, et al. Characterization of a novel thermosensitive restorer of fertility for cytoplasmic male sterility in maize[J]. *Genetics*, 2009, 182: 91-103.
- [2] DONG D K, LI Z, YUAN F J, et al. Inheritance and fine mapping of a restorer-offertility (*Rf*) gene for the cytoplasmic male sterility in soybean[J]. *Plant Sci*, 2012, 188-189: 36-40.
- [3] WISE R P, PRING D R. Nuclear-mediated mitochondrial gene regulation and male fertility in higher plants: Light at the end of the tunnel[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(16): 10240-10242.
- [4] DEWEY R E, LEVINGS C S, TIMOTHY D H. Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the Texas male-sterile cytoplasm[J]. *Cell*, 1986, 44: 439-449.
- [5] HANSON M R. Plant mitochondrial mutations and male sterility[J]. *Annu Rev Genet*, 1991, 25: 461-486.
- [6] NAKADA K, SATO A, YOSHIDA K, et al. Mitochondria-related male infertility[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(41): 15148-15153.
- [7] BUDAR F, PELLETIER G. Male sterility in plants: occurrence, determinism, significance and use[J]. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, 2001, 324(6): 543-550.
- [8] SATOH Y. PCR amplification of CMS-specific mitochondrial nucleotide sequences to identify cytoplasmic genotypes of onion (*Allium cepa* L.)[J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 96(3-4): 367-370.
- [9] HAVEY M J. Identification of cytoplasmic using the polymerase chain reaction to aid in the extraction of maintainer lines from open-pollinated populations of onion[J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 90(2): 263-268.
- [10] JONES H A, EMSWELLER S L. A male-sterile onion[J]. *Proc Am Soc Hortic Sci*, 1936, 34: 582-585.
- [11] BERNINGER E. Contribution à l'étude de la sterilité-male de l'oignon (*Allium cepa* L.)[J]. *Ann Amélior Plantes*, 1965, 15: 183-199.
- [12] JONES H A, CLARKE A E. Inheritance of male sterility in the onion and the production of hybrid seed[J]. *Proc Am Soc Hortic Sci*, 1943, 43: 189-194.
- [13] LITTLE T, JONES H, CLARKE A. The distribution of the male-sterility gene in varieties of onion[J]. *Herbertia*, 1944(11): 310-312.
- [14] DAVIS E. The distribution of the male-sterility gene in onion[J]. *J Am Soc Hortic Sci*, 1957, 70: 316-318.
- [15] SCHWEISGUTH B. Etude d'un nouveau type de sterilité male chez l'oignon, *Allium cepa* L. [J]. *Ann Amélior Plant*, 1973(23): 221-233.
- [16] KIM S, YOON M K. Comparison of mitochondrial and chloroplast genome segments from three onion (*Allium cepa* L.). cytoplasm types and identification of a trans-splicing intron of *cox2*[J]. *Current Genetics*, 2010, 56: 177-188.
- [17] HAVEY M J. Diversity among male-sterility-inducing and male-fertile cytoplasmic of onion[J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 101(5-6): 778-782.
- [18] PATHAK C S, GOWDA R V. Breeding for the development of onion hybrids in India: problems and prospects[J]. *International Symposium on Alliums for the Tropics*, 1993, 358: 239-242.
- [19] HAVEY M. Seed yield, floral morphology, and lack of male-fertility restoration of male-sterile onion (*Allium cepa*) populations possessing the cytoplasm of *Allium galanthum*[J]. *J Am Soc Hortic Sci*, 1999, 124: 626-629.
- [20] 马有会, 王火旭, 崔成日, 等. 洋葱瓣化型细胞质雄性不育系 *psf-A* 的遗传分析[J]. *北方园艺*, 2011(6): 23-24.
- [21] PETERSON C E, FOSKETT R L. Occurrence of pollen sterility in seed fields of Scott County Globe onions[J]. *Proc Am Soc Hortic Sci*, 1953, 62: 443-48.
- [22] 吴海涛, 马蓉莉, 刘洪炯, 等. 洋葱细胞质雄性不育系选育研究进展[J]. *园艺学报*, 2009, 36(2): 297-302.
- [23] 杜敏霞, 刘湘萍. 洋葱雄性不育材料小孢子发生的细胞形态学观察[J]. *华北农学报*, 2007(22): 48-51.
- [24] 陈沁滨, 侯喜林, 王建军, 等. 洋葱细胞质雄性不育系 101A 的分子鉴定[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(12): 2430-2433.
- [25] 李园园, 杨清, 严继勇, 等. 洋葱 63A 细胞质雄性不育与绒毡层的提早衰退有关[J]. *作物学报*, 2006, 32(3): 369-372.
- [26] 耿三省, 王志源, 蒋健箴, 等. 辣椒雄性不育系小孢子发生的细胞学观察[J]. *园艺学报*, 1994, 21(2): 165-169.
- [27] LASER L D, LERSTEN N R. Anatomy and cytology of microsporogen-

- esis in cytoplasmic male sterile angiosperms[J]. Botanical Review, 1972, 38; 425-454.
- [28] COURCEL A D, VEDER F, BOUSSAC J. DNA polymorphism in *Allium cepa* cytoplasm and its implications concerning the origin of onions[J]. Theor Appl Genet, 1989, 77: 793-798.
- [29] HAVEY M J. Phylogenetic relationships between cultivated *Allium* species from restriction enzyme analysis of the chloroplast genome[J]. Theor Appl Genet, 1991, 81(6): 752-757.
- [30] HAVEY M J. A putative donor of S-cytoplasm and its distribution among open-pollinated populations of onion[J]. Theor Appl Genet, 1993, 86(1): 128-134.
- [31] HAVEY M J, BARK O. Molecular confirmation that sterile cytoplasm has been introduced into open-pollinated cultivars of onion[J]. J Am Soc Hortic Sci, 1994, 119(1): 90-93.
- [32] SATOH Y, NAGAI M, MIKAMI T, et al. The use of mitochondrial DNA polymorphism in the classification of individual onion plants by cytoplasmic genotypes[J]. Theor Appl Genet, 1993, 86(2-3): 345-348.
- [33] SZKLARCZYK M, SIMLAT M, JAGOSZ B, et al. The use of cytoplasmic markers in onion hybrid breeding[J]. Cellular and Molecular Biology Letters, 2002, 7(2B): 625-634.
- [34] GOKCE A F, MCCALLUM J, SATO Y, et al. Molecular tagging of the Ms locus in onion[J]. J Am Soc Hortic Sci, 2002, 127(4): 576-582.
- [35] CHO K S, YANG T J, HONG S Y, et al. Determination of cytoplasmic male sterile factors in onion plants (*Allium cepa* L.) using PCR-RFLP and SNP markers[J]. Molecules and Cells, 2006, 21(3): 411-417.
- [36] CHO K S, YANG T J, KWON Y S, et al. Development and application of SCAR markers related to cytoplasmic male sterility in onion (*Allium cepa* L.)[J]. Kor Soc Hort Sci, 2001, 42: 527-532.
- [37] 刘杰, 崔成日, 崔崇士, 等. 洋葱细胞质雄性不育系与相应保持系线粒体 DNA 的 RAPD 分析[J]. 东北农业大学学报, 2004, 35(3): 322-324.
- [38] VON K C, KIELKOWSKA A, HAVEY M J. Sequencing and annotation of the chloroplast DNAs and identification of polymorphisms distinguishing normal male-fertile and male-sterile cytoplasm of onion[J]. Genome, 2013, 56(12): 737-742.
- [39] LILLY J W, HAVEY M J. Sequence analysis of a chloroplast intergenic spacer for phylogenetic estimates in *Allium* section *cepa* and a PCR-based polymorphism detecting mixtures of male-fertile and male-sterile cytoplasmic onion[J]. Theor Appl Genet, 2001, 102(1): 78-82.
- [40] HONG S Y, KWON Y S, WOO J G, et al. Selection of maintainer line in open-pollinated onion (*Allium cepa* L. cv. "Manchuhwang") using SCAR marker linked to cytoplasmic male sterile factor[J]. Korean Journal of Breeding, 2005, 37(3): 133-137.
- [41] ENGELKE T, TEREFE D, TATLIOGLU T. A PCR based marker system monitoring CMS (S), CMS (T) and (N) cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.)[J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 162-167.
- [42] ENGELKE T, TATLIOGLU T. The fertility restorer genes X and T alter the transcripts of a novel mitochondrial gene implicated in CMS1 in chives (*Allium schoenoprasum* L.)[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2004, 271(2): 150-160.
- [43] SCHNABLE P S, WISE R P. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration[J]. Trends in Plant Science, 1998, 3(5): 175-180.
- [44] 吴海涛, 王建军, 侯喜林, 等. 洋葱型细胞质雄性不育相关基因的结构与表达模式研究[J]. 园艺学报, 2010, 37(4): 631-636.
- [45] CHEN L, LIU Y G. Male sterility and fertility restoration in crops[J]. Annu Rev Plant Biol, 2014, 65: 579-606.
- [46] HOLFORD P, CROFT J, NEWBURY H J. Differences between, and possible origins of, the cytoplasm found in fertile and male-sterile onions (*Allium cepa* L.)[J]. Theor Appl Genet, 1991, 82: 737-744.
- [47] HANSON M R, BENTOLILA S. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development[J]. Plant Cell, 2004, 16(Suppl): S154-S169.
- [48] KUBO T, KITAZAKI K, MATSUNAGA M, et al. Male sterility-inducing mitochondrial genomes; how do they differ[J]. Crit Rev in Plant Sci, 2011(30): 378-400.
- [49] HORN R, GUPTA K J, COLOMBO N. Mitochondrion role in molecular basis of cytoplasmic male sterility[J]. Mitochondrion, 2014(19): 198-205.
- [50] KIM S, LEE E T, CHO D Y, et al. Identification of a novel chimeric gene, *orf725*, and its use in development of a molecular marker for distinguishing among three cytoplasm types in onion (*Allium cepa* L.)[J]. Theor Appl Genet, 2009, 118(3): 433-441.
- [51] KRIZEK B A, FLETCHER J C. Molecular mechanisms of flower development; an armchair guide[J]. Nat Rev Genet, 2005(6): 688-698.
- [52] TEIXEIRA R T, FARBOS I, GLIMELIUS K. Expression levels of meristem identity and homeotic genes are modified by nuclear-mitochondrial interactions in alloplasmic male-sterile lines of *Brassica napus* [J]. Plant J, 2005, 42: 731-742.
- [53] ROBISON M M, WOLYN D J. A 60 kDa COX1 protein in mitochondria of carrot irrespective of the presence of C-terminal extensions in the *cox1* reading frames[J]. Mol Genet Genomics, 2006, 275: 68-73.

Molecular Mechanism of Cytoplasmic Male Sterility in *Allium cepa* L.

ZHOU Tingting, FU Yali, REN Hongjie, XU Qijiang

(College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: Maternally inherited onion cytoplasmic male sterility (CMS) was conditioned by the interaction of the male-sterile cytoplasm and the homozygous recessive genotype at a nuclear male-fertility restoration locus. CMS was caused by disturbances in the nuclear-mitochondrial interaction, the male-sterile phenotype could be reversed by the action of nuclear-encoded fertility restorer (*Rf*) genes. This paper discussed the inheritance of cytoplasmic male sterility, the functional characters of CMS genes and fertility restorer genes cloned were summarized. The molecular mechanism and advances of cytoplasmic male sterility and fertility restoration related with CMS were stated.

Keywords: *Allium cepa* L.; cytoplasmic male sterile; mitochondrial DNA; petaloid-stamen