

# 玉米 CMS-C 同质异核不育系育性恢复的遗传研究

赵超凡<sup>1</sup>, 黄玲<sup>1,2</sup>, 刘永明<sup>1</sup>, 张鹏<sup>1</sup>, 魏桂<sup>1</sup>, 曹墨菊<sup>1</sup>

1. 四川农业大学玉米研究所, 教育部作物基因资源与遗传改良重点实验室, 农业部西南玉米生物学及遗传育种重点实验室, 成都 611130
2. 四川省农业科学院经济作物育种栽培研究所, 成都 610300

**摘要:** 玉米是最早利用细胞质雄性不育系生产杂交种的作物之一, C 型细胞质雄性不育系 (C-type cytoplasmic male sterile, CMS-C) 在杂交种生产中具有重要的作用, 育性恢复的稳定性直接影响其应用价值。然而, 玉米 CMS-C 的育性恢复机理复杂, 且至今仍不明确。为进一步探究玉米 CMS-C 育性恢复的影响因素, 本研究以玉米 CMS-C 同质异核不育系 C48-2、C 黄早四和 C478 为母本, 分别与测验系 18 白、自 330、5022 以及恢复系 A619 组配杂交获得  $F_1$ 。其中育性恢复  $F_1$  通过自交获得  $F_2$ , 并以育性恢复  $F_1$  为父本分别给育性保持  $F_1$  授粉, 组配双交群体, 共获得 4 个  $F_2$  群体, 6 个双交群体。同时以不育系 C48-2、C 黄早四和 C478 为母本, 各自的保持系 48-2、黄早四和 478 为父本杂交组配不完全双列杂交  $F_1$ 。将所有杂交组合的  $F_1$ 、 $F_2$  以及双交组合群体分别在不同年份不同地点种植观察, 通过植株田间育性调查并结合室内花粉镜检鉴定育性表现。结果表明: 1) 同一测验系对玉米 CMS-C 同质异核不育系的恢保关系不同, 暗示不育系的核背景参与调控育性恢复表现; 2) 在不同年份不同地点对 (C48-2×A619)  $F_2$  群体进行种植观察, 发现不同环境下  $F_2$  群体可育株与不育株的分离比均符合 15:1, 但在云南种植的可育株的育性级别主要为 III 和 IV 级, 而在四川种植的可育株的育性级别主要为 V 级, 表明环境对恢复系 A619 恢复后代的育性表现有影响; 3) 通过恢保关系测定发现 18 白不能恢复 C478, 48-2 也不能恢复 C478, 但双交群体 [(C478×18 白)  $F_{1S}$ ×(C48-2×18 白)  $F_{1F}$ ] 后代却出现了可育株与不育株的分离; 同理, 双交群体 [(C48-2×自 330)  $F_{1S}$ ×(C478×自 330)  $F_{1F}$ ] 的后代也出现了可育株与不育株的分离。因此, 本文推测 C48-2、C478 核背景中存在微效恢复基因, 这些微效基因与 18 白、自 330 中的微效恢复基因通过杂交聚合后能使 C478、C48-2 的育性恢复, 暗示玉米 CMS-C 的育性恢复呈现一定的剂量效应。这些结果为进一步认识玉米 CMS-C 育性恢复的复杂性和多样性奠定了基础, 为深入研究玉米 CMS-C 育性恢复机理以及加快 CMS-C 在不育化制种中的应用提供重要参考。

**关键词:** 玉米; CMS-C; 育性恢复; 双交群体

收稿日期: 2017-12-07; 修回日期: 2018-02-07

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号: 2016YFD0101206)和四川省科技厅支撑计划项目(编号: 2016NZ0106)资助[Supported by the National Key Research and Development Project of China (No. 2016YFD0101206) and the Science and Technology Department of Sichuan Province (No. 2016NZ0106)]

作者简介: 赵超凡, 硕士研究生, 专业方向: 玉米生物技术育种。E-mail: zhaozfc@163.com

通讯作者: 曹墨菊, 教授, 博士生导师, 研究方向: 玉米杂种优势利用。E-mail: caomj@sicau.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-401

网络出版时间: 2018/4/26 12:36:20

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180426.1236.002.html>

## Genetics of fertility restoration in the isocyttoplasm allonuclear C-group of cytoplasmic male sterility in maize

Zhuofan Zhao<sup>1</sup>, Ling Huang<sup>1,2</sup>, Yongming Liu<sup>1</sup>, Peng Zhang<sup>1</sup>, Gui Wei<sup>1</sup>, Moju Cao<sup>1</sup>

1. Key Laboratory of Crop Genetic Resource and Improvement of Ministry of Education, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Maize in Southwest Region of Ministry of Agriculture, Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

2. Industrial Crops Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610300, China

**Abstract:** Maize is one of the first crops to produce hybrids using cytoplasmic male sterile lines. The C-type cytoplasmic male sterile (CMS-C) line is vital for hybrid seed production, and the fertility-restoration reaction along with its stability has a direct bearing on its applications. However, fertility restoration mechanism of CMS-C is complex and is still not clear so far. To further explore the factors affecting the fertility restoration of maize CMS, a series of test crosses were carried out by pollinating the isocyttoplasm allonuclear CMS-C lines C48-2, Chuangzaosi and C478 with the test lines 18 bai, zi 330, 5022 and the restorer line A619, respectively. Four F<sub>2</sub> populations and six double-cross combinations were obtained from the self-cross of fertility restored F<sub>1</sub> and pollinating male-sterility-maintained F<sub>1</sub> with the male-fertility-restored F<sub>1</sub>, respectively. Meanwhile, we developed the incomplete diallel-cross combinations using the isocyttoplasm allonuclear male sterile lines as maternal parents and their respective maintainer lines 48-2, huangzaosi and 478 as paternal parents. All the F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and double-cross populations were planted at distinct locations in different years, and the fertility-restoration reaction was scored by field investigation and pollen staining with I<sub>2</sub>-IK. The results were as follows: 1) The same test line could restore the CMS-C line at a certain genetic background, but failed to restore the CMS-C line at the other genetic backgrounds, suggesting that the genetic background of CMS-C lines plays an important role in the fertility restoration. 2) The fertile-to-sterile segregation ratio of (C48-2×A619) F<sub>2</sub> population planted in both Sichuan and Yunnan fitted well to 15 : 1 by the  $\chi^2$  test. However, the fertility level of individuals in Yunnan mainly belonged to the III and IV grades, but which in Sichuan mainly belonged to the V grade, indicating the environmental factors had effect on the fertility-restoration reaction of (C48-2×A619) F<sub>2</sub>. 3) In our study, 18 bai could not restore C478, and 48-2 could not restore C478, but the fertile and sterile segregated plants were unexpectedly found in their double-cross population [(C478×18 bai) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 bai) F<sub>1F</sub>]. The similar case was also observed in the double-cross population [(C48-2 × zi 330) F<sub>1S</sub> × (C478 × zi 330) F<sub>1F</sub>]. Therefore, we speculated that there are minor fertility restorer genes not only in the nuclear background of C48-2 and C478, but also in zi 330 and 18 bai, and when these minor genes were gathered by hybridization, they could restore the fertility of C478 and C48-2. This conforms to the restorer genes dose-effect for fertility restoration in the plant CMS system. These results not only contribute to our understanding of the complexity and diversity of CMS-C restoration mechanism, but also provide an important reference for the practical applications about maize CMS-C.

**Keywords:** maize; CMS-C; fertility restoration; double-cross populations

植物在有性繁殖过程中不能产生正常的花药、花粉或雄配子的遗传现象称为雄性不育(male sterility)。根据遗传特点,植物雄性不育可以分为两类:细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)和细胞核雄性不育(genic male sterility, GMS),CMS由核基因与线粒体基因互作不协调引起,而GMS由核

基因单独控制<sup>[1]</sup>。玉米(*Zea mays* L.)是最早利用细胞质雄性不育生产杂交种的作物,根据恢复专效性,玉米CMS分为T、S和C共3种类型<sup>[2, 3]</sup>。由于玉米T小种的爆发流行致使玉米T型雄性不育的利用受到限制<sup>[4]</sup>;S型属于配子体不育,败育不彻底且受环境影响较大,在生产上难以大面积推广<sup>[5]</sup>;C型不

育系属于孢子体不育,花粉败育彻底,育性表现相对稳定,在生产上可能具有较大的应用前景<sup>[6,7]</sup>。

早期基于线粒体 DNA 内切酶消化图谱的差异,人们推测植物细胞质雄性不育可能与线粒体有关<sup>[8~10]</sup>。经进一步的研究表明,大多数植物细胞质雄性不育的形成与嵌合的线粒体开放阅读框(open reading frame, ORF)有关<sup>[11,12]</sup>。细胞质雄性不育系的育性恢复机理复杂多样,恢复基因一方面可通过抑制线粒体嵌合不育基因的转录或者翻译而使育性恢复<sup>[9,13~16]</sup>,另一方面也可通过改变线粒体基因组 DNA 的结构使育性恢复<sup>[17~19]</sup>。关于玉米 CMS-C 的育性恢复,不同研究者利用不同材料,从不同角度进行了大量研究,结果不尽相同。陈伟程等<sup>[20]</sup>认为玉米 CMS-C 育性恢复受两对独立的显性重复基因控制,其后来研究表明玉米 CMS-C 育性恢复受 *Rf4*、*Rf5* 强恢复基因及 *Rf6* 弱恢复基因控制<sup>[21]</sup>;Khey-Pour 等<sup>[22]</sup>证明玉米 CMS-C 亚组中的 C、RB、ES、Bb 共 4 种胞质的育性恢复均只受 *Rf4* 单基因控制;Sisco<sup>[23]</sup>以玉米 CMS-C 中的 C I 亚组不育胞质为材料,用 RFLP 分子标记技术将恢复系 A619 携带的恢复基因定位在第 8 号染色体短臂末端,但同时指出在第 3 号染色体上也可能存在 *Rf4* 的部分序列;Hu 等<sup>[24]</sup>认为玉米 CMS-C 育性恢复基因 *Rf5* 存在一个显性抑制基因 *Rf-I*,该基因对恢复基因 *Rf4* 不具有抑制作用。

玉米 CMS-C 育性恢复除了受恢复基因影响,特殊环境也可能对其表现有影响。陈伟程等<sup>[25]</sup>指出凉爽高湿更有利于玉米 CMS-C 育性恢复,并且植株的育性表现与环境有关。Christophe 等<sup>[26]</sup>将玉米 7 个 CMS-T、8 个 CMS-C 和 7 个 CMS-S 3 种 CMS 胞质的杂交群体在 17 种环境中种植,发现 CMS-T 的稳定性最高,其次是 CMS-C, CMS-S 的稳定性最差。Bueckmann 等<sup>[27]</sup>对玉米的 2 个 CMS-S(Torres 和 Zidane)和 1 个 CMS-T(DSP2)进行研究,结果表明在高温条件下 DSP2 和 Torres 几乎都完全不育,而在低温条件下有部分植株花药外露且能少量散粉。Tracy 等<sup>[28]</sup>对玉米几个恢复程度不同的 A632 亚系进行研究,发现亚系 A632-Pr-MS 对不育性几乎完全保持,亚系 A632-Pr-LB-1 和 A632-Pr-LB -2 对不育性表现不同程度的育性恢复。将 A632-Pr-LB-1 和 A632-Pr-LB -2 与 A632-Pr-MS 分别进行杂交,连续两年种植其杂交后代并观察育性表现,发现不同年份

间植株雄花颖壳表现迟开裂并部分可育(late-breaking partial fertility, LBPMF)的比例差异较大,表明环境对植株雄花颖壳的开裂有明显影响。陈伟等<sup>[29]</sup>对新鉴定出的爆裂玉米细胞质雄性不育系 CMS-P 进行研究,发现不同测验系对相同不育系的育性恢复能力存在差别,同一测验系与 CMS-P 的测交  $F_1$  在不同年份间花粉可染率也不同。关于环境对植物细胞质雄性不育系育性恢复表现的影响,在其他植物上已有研究报道。如杨光圣等<sup>[30]</sup>对甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.) 4 种主要不育胞质类型 Ogu、Pol、nap、陕 2A 和白菜型油菜(*Brassica campestris* L.)细胞质雄性不育系阿油 A,通过在不同光照条件和不同地区种植观察,发现油菜细胞质雄性不育的育性表现受温度影响,而与光照无关。

此外,玉米 CMS 的育性恢复受多个 QTL 位点控制。如 Kohls 等<sup>[31]</sup>研究表明,玉米 CMS-C 的育性恢复受多基因控制,并将其 3 个主要的 QTL 位点定位在染色体 bin 2.09、bin 3.06 和 bin 7.03,同时检测到 6 个微效 QTL 位点。Feng 等<sup>[5]</sup>通过对玉米 CMS-S 进行育性恢复的 QTL 定位研究,除定位到 *Rf3* 外,还定位到 19 个控制花粉育性的主效 QTL 位点、3 个控制花药开裂的主效 QTL 位点以及 8 个控制散粉的主效 QTL 位点。

本课题组前期研究发现,测验系 18 白能够恢复 C48-2 的育性,但对 C478 为保持;自 330 能恢复 C478,但对 C48-2 为保持,而自交系 A619 则对 C48-2 和 C478 均为恢复。为了进一步探究玉米 CMS-C 育性恢复机理,本研究一方面将相同胞质不同核背景(以下简称同质异核)的不育系 C48-2、C 黄早四、C478 与测验系 18 白、自 330、5022 以及恢复系 A619 杂交进行恢保关系测定,同时将不育系 C48-2、C 黄早四、C478 分别与保持系 48-2、黄早四、478 组配不完全双列杂交  $F_1$ ;另一方面将育性恢复  $F_1$ :(C 黄早四 $\times$ 自 330)  $F_1$ 、(C478 $\times$ 自 330)  $F_1$ 、(C48-2 $\times$ 18 白)  $F_1$ 、(C48-2 $\times$ A619)  $F_1$  自交获得  $F_2$ ,同时将育性恢复  $F_1$ :(C48-2 $\times$ 18 白)  $F_{1F}$ 、(C48-2 $\times$ A619)  $F_{1F}$  和(C478 $\times$ 自 330)  $F_{1F}$  的花粉分别授予育性保持  $F_1$ :(C478 $\times$ 18 白)  $F_{1S}$ 、(C48-2 $\times$ 自 330)  $F_{1S}$ ,以获得双交群体。通过在不同年份不同地点种植观察杂交后代的育性表现,探索玉米 CMS-C 育性恢复的影响因素,为玉米 CMS-C 不育系的生产利用提供參考。

# 1 材料和方法

## 1.1 材料

不育系 :C48-2 ,C 黄早四 ,C478 ;保持系 :48-2、黄早四、478 ;测验系 :18 白、自 330、5022 ;恢复系 A619。不育系与测验系杂交获得  $F_1$  ,用于恢保关系鉴定。根据恢保关系鉴定结果,将育性恢复  $F_1$  : (C 黄早四 $\times$ 自 330)  $F_1$ 、(C478 $\times$ 自 330)  $F_1$ 、(C48-2 $\times$ 18 白)  $F_1$ 、(C48-2 $\times$ A619)  $F_1$  自交获得 4 个  $F_2$  群体;将育性恢复  $F_1$  : (C48-2 $\times$ 18 白)  $F_{1F}$ 、(C48-2 $\times$ A619)  $F_{1F}$  和(C478 $\times$ 自 330)  $F_{1F}$  分别与不育性保持  $F_1$  (C478 $\times$ 18 白)  $F_{1S}$ 、(C48-2 $\times$ 自 330)  $F_{1S}$  杂交组配 6 个双交群体。4 个  $F_2$  群体及 6 个双交群体具体信息见表 1。其中 A619 由河南农业大学汤继华老师馈赠,其余供试材料均由四川农业大学玉米研究所提供。

## 1.2 材料种植

2006 年 4 月在四川雅安分别播种不育系 C48-2、C 黄早四、C478 ;保持系 :48-2、黄早四、478 ;测验系 :18 白、自 330、5022 和恢复系 A619 ,并以不育系为母本,保持系、测验系及恢复系为父本,配制杂交  $F_1$ 。2007 年 4 月在四川雅安种植所有杂交  $F_1$  ,并进行育性鉴定,将育性恢复  $F_1$  进行自交获得  $F_2$  ,

同时用育性恢复  $F_1$  给不育性保持  $F_1$  授粉获得双交群体。2008 年 4 月在四川雅安播种(C 黄早四 $\times$ 自 330)  $F_2$ 、(C478 $\times$ 自 330)  $F_2$  群体。2014 年 10 月在云南西双版纳种植 3 个  $F_2$  群体(田间区号为 154、155、156) 和 6 个双交群体(田间区号为 157~162)。2015 年 4 月在四川温江种植 2 个(C48-2 $\times$ A619)  $F_2$  群体(田间区号为 Z1、Z2)。所有材料均采用常规大田管理,单株挂牌,在抽雄后进行田间育性调查和花粉室内染色观察。

## 1.3 田间育性鉴定

在成株期,采用 Duvick<sup>[32]</sup>提出的 5 级育性鉴定标准(表 2),对所有供试材料进行单株育性调查。每两天调查一次,直到雄穗散粉完毕。

## 1.4 室内花粉镜检

当可育植株雄穗有少量花药外露时,在每株雄穗主轴上、中、下 3 个部位分别取 1 对小穗,用 FAA 固定液(100 mL 甲醛、100 mL 乙酸、1800 mL 70%乙醇)将其固定于 1.5 mL EP 管中。室内镜检时,将上、中、下 3 对小穗的花药混合,用 1~2 滴 1%  $I_2$ -IK 染色,观察 3 个视野,分别对可染、半染和不染的花粉粒数目进行统计,分类标准见表 3,计算花粉的可染率。

表 1 供试  $F_2$  及双交群体的信息

Table 1 Information of  $F_2$  populations and double-cross combinations in this experiment

材料名称	群体大小(株)	田间区号	种植时间	种植地点
(C 黄早四 $\times$ 自 330) $F_2$	134		2008 年 4 月	四川雅安
(C478 $\times$ 自 330) $F_2$	142			
(C48-2 $\times$ 18 白) $F_2$	127	154	2014 年 10 月	云南西双版纳
(C48-2 $\times$ A619) $F_2$ (2013 年 10 月云南组配)	170	155		
(C478 $\times$ 自 330) $F_2$	126	156		
(C478 $\times$ 18 白) $F_{1S}\times$ (C48-2 $\times$ 18 白) $F_{1F}$	94	157		
(C478 $\times$ 18 白) $F_{1S}\times$ (C48-2 $\times$ A619) $F_{1F}$	129	158		
(C478 $\times$ 18 白) $F_{1S}\times$ (C478 $\times$ 自 330) $F_{1F}$	91	159		
(C48-2 $\times$ 自 330) $F_{1S}\times$ (C48-2 $\times$ 18 白) $F_{1F}$	110	160		
(C48-2 $\times$ 自 330) $F_{1S}\times$ (C48-2 $\times$ A619) $F_{1F}$	131	161		
(C48-2 $\times$ 自 330) $F_{1S}\times$ (C478 $\times$ 自 330) $F_{1F}$	133	162		
(C48-2 $\times$ A619) $F_2$ (2013 年 10 月云南组配)	156	Z1	2015 年 4 月	四川温江
(C48-2 $\times$ A619) $F_2$ (2014 年 10 月云南组配)	95	Z2		

$F_{1S}$  : 表示不育性保持  $F_1$  ;  $F_{1F}$  : 表示育性恢复  $F_1$ 。

表 2 玉米雄花育性 5 级分级标准

Table 2 The five-level classification criterion of male fertility in maize

级别	类型	表型
I 级	完全不育	雄花没有花粉或花粉发生败育, 花药干瘪, 不露出颖壳
II 级	高度不育	雄花没有花粉或花粉发生败育, 少数花药露出颖壳, 花药干瘪
III 级	半可育	花药半饱满, 露出颖壳的花药常占半数, 不同植株差异较大
IV 级	高度可育	雄花小穗大部分开花散粉, 花粉正常, 大部分花药露出颖壳, 花药饱满
V 级	完全可育	雄花小穗都能正常开花, 并大量散粉, 花粉正常

表 3 花粉育性鉴定标准

Table 3 The identification criterion of pollen fertility

类型	表型
可染	花粉与 I <sub>2</sub> -IK 染液反应后成黑色或蓝黑色, 花粉的形状规则, 表现为椭圆形或圆球形, 且充满整个花粉粒
不染	花粉与 I <sub>2</sub> -IK 染液反应后不变色, 仍为染液的颜色, 花粉形状为透明的空壳
半染	花粉与 I <sub>2</sub> -IK 染液反应后成黄褐色, 花粉形状规则, 表现为圆球形或椭圆形

用 1% I<sub>2</sub>-IK 染色。

1.5 统计分析

通过  $\chi^2$  法检验各群体育性分离比并对小穗开裂与花粉可染性进行独立性检验。

2 结果与分析

2.1 恢保关系测定

以测验系 18 白、自 330、5022 和恢复系 A619 为父本, 对玉米 CMS-C 同质异核不育系 C48-2、C 黄早四、C478 进行授粉杂交, 获得杂交 F<sub>1</sub>。对 F<sub>1</sub> 进行种植观察。在成株期, 按照 Du Vick<sup>[32]</sup> 的 5 级育

性标准进行田间育性鉴定, 结果见表 4; 对 F<sub>1</sub> 进行花粉室内染色镜检, 结果见表 5。由表 4 及表 5 可

表 4 不育系与测验系杂交 F<sub>1</sub> 田间育性表现

Table 4 Fertility-restoration reactions of F<sub>1</sub> populations derived from the crosses between male sterile lines and test lines

不育系	测验系			
	18 白	自 330	5022	A619
C48-2	F	S	S	F
C 黄早四	S	F	S	F
C478	S	F	S	F

F: 完全可育; S: 不育。

表 5 不育系与测验系杂交 F<sub>1</sub> 花粉镜检结果

Table 5 Pollen staining of F<sub>1</sub> populations derived from the crosses between male sterile lines and test lines

杂交组合	可育株	不育株	花粉镜检		
			可染(%)	半染(%)	不染(%)
(C48-2×18 白) F <sub>1</sub>	42	0	89.5	1.4	9
(C 黄早四×18 白) F <sub>1</sub>	0	42	27	0	73
(C478×18 白) F <sub>1</sub>	0	40	1.3	0.2	89.5
(C48-2×自 330) F <sub>1</sub>	0	42	5.2	0	94.4
(C 黄早四×自 330) F <sub>1</sub>	42	0	97.5	0	2.5
(C478×自 330) F <sub>1</sub>	42	0	54.2	0.7	45.1
(C48-2×5022) F <sub>1</sub>	0	41	3.2	0	96.8
(C 黄早四×5022) F <sub>1</sub>	0	42	0	0	100
(C478×5022) F <sub>1</sub>	0	42	13.3	0	86.7

以发现, 18 白能完全恢复 C48-2, 但不能恢复 C 黄早四和 C478; 自 330 能恢复 C 黄早四和 C478, 但不能恢复 C48-2, 而 5022 对 C48-2、C 黄早四和 C478 均不能恢复其育性; A619 则完全恢复 C48-2、C 黄早四和 C478。

将不育系 C48-2、C 黄早四、C478 与保持系 48-2、黄早四、478 组配不完全双列杂交, 并对杂交  $F_1$  的田间育性表现进行调查, 结果见表 6。由表 6 可以发现, 48-2 对 C48-2 和 C478 不育性保持, 对 C 黄早四恢复育性; 黄早四对 C 黄早四和 C478 不育性保持, 对 C48-2 恢复育性; 478 对 C48-2、C 黄早四和 C478 均保持不育性。

可见, 同一测验系对相同胞质不同核背景下的不育系具有不同的恢复能力, 同一不育系对不同测验系的育性恢复反应不同。

2.2 育性恢复组合  $F_2$  群体的育性表现

将育性恢复组合(C48-2 $\times$ 18 白)  $F_1$ 、(C 黄早四 $\times$

自 330)  $F_1$ 、(C478 $\times$ 自 330)  $F_1$  和(C48-2 $\times$ A619)  $F_1$  自交获得  $F_2$  群体。2008 年 4 月, 在四川雅安种植(C 黄早四 $\times$ 自 330)  $F_2$  和(C478 $\times$ 自 330)  $F_2$ , 2014 年 10 月在云南西双版纳种植 (C48-2 $\times$ 18 白)  $F_2$ 、(C48-2 $\times$ A619)  $F_2$  和(C478 $\times$ 自 330)  $F_2$ , 成株期进行田间育性调查和室内花粉镜检。

结果表明, 2008 年 4 月在四川雅安种植的(C 黄早四 $\times$ 自 330)  $F_2$  群体, 其可育株(F) 不育株(S)符合 3 : 1, 而(C478 $\times$ 自 330)  $F_2$  群体可育株(F) 不育株(S)符合 9 : 7, 然而 2014 年 10 月在云南种植的(C478 $\times$ 自 330)  $F_2$  群体可育株(F)与不育株(S)的分离比为 39 : 87, 与 2008 年 4 月在四川雅安种植的(C478 $\times$ 自 330)  $F_2$  群体育性分离结果存在明显的偏差(表 7)。可见, 自 330 对 C478 和 C 黄早四的恢复效应不同, 且在不同环境条件下自 330 对 C478 恢复后代的育性表现不同。

2014 年 10 月在云南西双版纳种植(C48-2 $\times$ 18 白)  $F_2$  群体, 可育株(F) 不育株(S)分离比符合 9 : 7; 在不同地点(云南、四川)种植(C48-2 $\times$ A619)  $F_2$  群体, 可育株(F) 不育株(S)分离比均为 15 : 1, 表明 A619 对 C48-2 表现出两对恢复基因。

2014 年 10 月, 在云南西双版纳种植(C48-2 $\times$ A619)  $F_2$  (2013 年 10 月云南组配, 田间区号为 155), 可育株(Ⅲ+Ⅳ+Ⅴ)占整个群体的 91.76%, 其中完全可育株(Ⅴ级)只占整个群体的 18.24% (图 1)。2015 年 4 月, 在四川温江种植不同年份组配的(C48-2 $\times$ A619)  $F_2$ , 其中 2013 年 10 月云南组配材料田间区号记为 Z1, 2014 年 10 月云南组配材料田间区号记为 Z2。结果表明, Z1、Z2 两组材料的可育株(Ⅲ+Ⅳ+Ⅴ)

表 6 同质异核不育系与其相应保持系组配杂交  $F_1$  的育性表现

Table 6 Fertility-restoration reactions of  $F_1$  populations derived from the crosses between isocyttoplasm allonuclear male sterile lines and their corresponding maintainer lines

不育系	保持系		
	48-2	黄早四	478
C48-2	S	F	S
C 黄早四	F	S	S
C478	S	S	S

F: 完全可育; S: 不育。

表 7  $F_2$  群体的育性表现及卡平方检验

Table 7 Fertility-restoration reactions of  $F_2$  populations and  $\chi^2$  test

材料名称	总株数	F	S	期望比例	$\chi^2$	种植时间	种植地点	田间区号
(C 黄早四 $\times$ 自 330) $F_2$	134	92	42	3 : 1	2.55	2008 年 4 月	四川雅安	
(C478 $\times$ 自 330) $F_2$	142	80	62	9 : 7	0.00			
(C48-2 $\times$ 18 白) $F_2$	127	74	53	9 : 7	0.14			154
(C48-2 $\times$ A619) $F_2$ (2013 年 10 月云南组配)	170	156	14	15 : 1	0.83	2014 年 10 月	云南西双版纳	155
(C478 $\times$ 自 330) $F_2$	126	39	87					156
(C48-2 $\times$ A619) $F_2$ (2013 云南组配)	156	143	13	15 : 1	2.47			Z1
(C48-2 $\times$ A619) $F_2$ (2014 云南组配)	95	88	7	15 : 1	0.06	2015 年 4 月	四川温江	Z2

$\chi^2_{0.05}=3.84$ 。



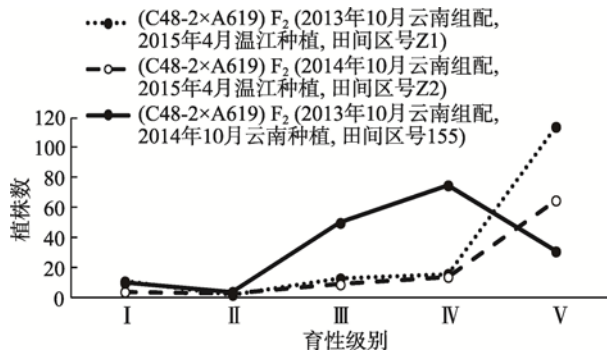


图 1 (C48-2×A619) F<sub>2</sub> 在不同年份、不同地点种植的田间育性表现

Fig. 1 Fertility-restoration reactions of (C48-2×A619) F<sub>2</sub> planted at distinct locations in different years

分别占整个群体的 91.03% 和 92.63% ,其中完全可育株(V级)分别占整个群体的 73.08% 和 68.42% ;同一年份组配的(C48-2×A619) F<sub>2</sub> ,分别于 2014 年 10 月在云南(田间区号为 155)和 2015 年 4 月在四川(田间区号为 Z1)种植,可育株在育性表现级别上存在差异,2014 年 10 月在云南种植的可育株多为Ⅲ、Ⅳ级,而 2015 年 4 月在四川种植的可育株多为Ⅴ级;不同年份组配的(C48-2×A619) F<sub>2</sub> (Z1 与 Z2),2015 年 4 月在四川温江种植,可育株在育性表现级别上差异不大,均为Ⅴ级可育株占多数(图 1)。可见,不同年份配制的组合,在同一环境下种植,其育性表现较为一致,而同一年份配制的组合在不同环境条件下种植,其花药的外露程度或育性级别有较大差异。

对 2014 年 10 月在云南种植的 3 个 F<sub>2</sub> 群体的所有单株编号,进行单株调查和镜检。结果发现,在(C48-2×18 白)F<sub>2</sub> 群体小穗颖壳不开裂和半开裂的植株共有 109 株,占整个群体的 85.8% ;其花粉表现不染的植株有 52 株,占整个群体的 40.9% ;半染的植株有 42 株,占整个群体的 33.1% ;花粉可染植株有 15 株,占 11.8%。2014 年 10 月在云南种植的(C48-2×A619) F<sub>2</sub> 群体小穗颖壳不开裂和半开裂的植株有 82 株,占整个群体的 48.2% ;其花粉表现不染的植株有 12 株,占整个群体的 7.1% ;半染的植株有 23 株,占整个群体的 13.5% ;花粉可染植株有 47 株,占 27.6% (图 2)。可见,(C48-2×18 白) F<sub>2</sub> 群体小穗颖壳不开裂和半开裂的植株比例以及花粉不染和半染的比例均高于(C48-2×A619) F<sub>2</sub> 群体。然而,

2015 年 4 月在温江种植的两个(C48-2×A619) F<sub>2</sub> 群体,出现两个极端现象,即不开裂的小穗其花粉不染,全开裂的小穗其花粉全部可染,没有半开裂的小穗,也没有半染的花粉。虽然在云南和四川种植(C48-2×A619) F<sub>2</sub> 群体的育性分离比均符合 15 : 1,但植株的小穗开裂程度和花粉中淀粉的累积量有一定差异,表明环境对强恢复系所配组合的育性恢复表现也有影响。(C478×自 330) F<sub>2</sub> 群体小穗颖壳不开裂和半开裂的植株有 112 株,占整个群体的 88.9% ;其花粉表现不染的植株有 87 株,占整个群体的 69% ;整个群体花粉半染只有 6 株,与(C48-2×18 白) F<sub>2</sub> 相比,恢复度更低(图 2)。

通过对 2014 年 10 月在云南种植的 3 个 F<sub>2</sub> 群体的小穗颖壳开裂性状与花粉可染率进行  $\chi^2$  独立性检验,发现  $\chi^2=367.94>\chi^2_{0.01(4)}=13.28$ ,表明花粉可染性与小穗颖壳的开裂程度具有相关性。

### 2.3 双交群体的育性表现

将育性恢复组合(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub>、(C48-2×A619) F<sub>1F</sub> 和(C478×自 330) F<sub>1F</sub> 的花粉分别授予育性保持组合(C478×18 白) F<sub>1S</sub> 和(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>,获得 6 个双交群体,于 2014 年 10 月在云南西双版纳基地种植观察,调查结果见表 8。由表 8 可以看出,[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub>]中可育株与不育株育性分离比符合 1 : 1。由前面的分析可知,18 白不能恢复 C478,48-2 也不能恢复 C478,但(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub> 却能恢复 C478 育性,推测 C48-2 核背景中存在微效恢复基因,这些微效基因与 18 白中的微效恢复基因通过杂交聚合后能使 C478 的育性恢复;同样,[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C478×自 330) F<sub>1F</sub>]群体中也出现可育株与不育株的育性分离,表明 C478 核背景中的微效恢复基因与自 330 中的微效恢复基因通过杂交聚合后也能使 C48-2 的育性恢复。

[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C478×自 330) F<sub>1F</sub>]和[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub>]这 2 个双交群体中可育株(F) : 不育株(S)分离比均符合 1 : 1,说明自 330 与 18 白的主效恢复基因为非等位基因。而对于[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×A619) F<sub>1F</sub>]群体,129 株中可育株为 115 株,不育株仅为 14 株;[(C48-2×

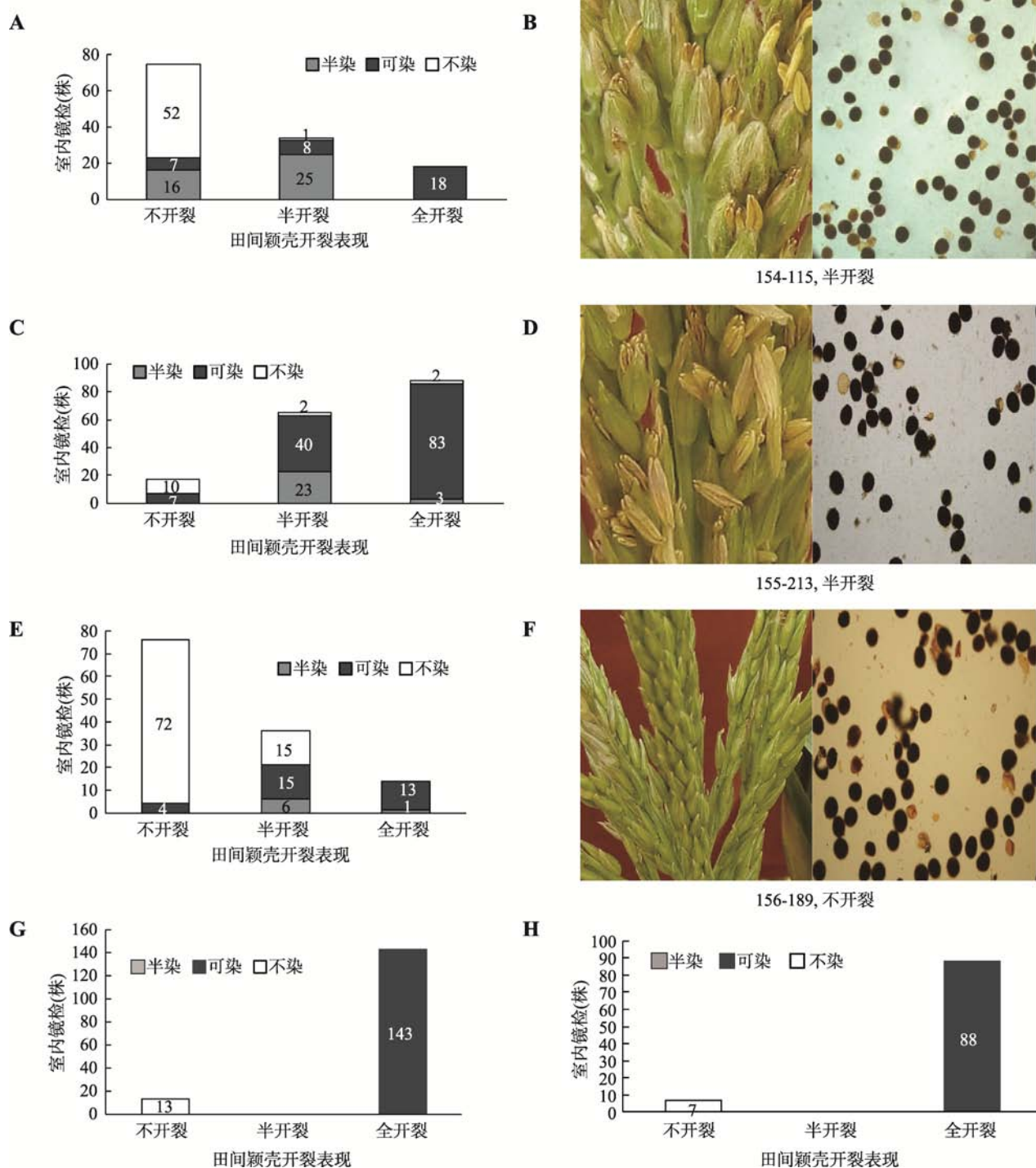


图2  $F_2$  群体雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性

Fig. 2 Dehiscence degree of tassel glumes and pollen staining of  $F_2$  populations

A: (C48-2×18 白)  $F_2$  群体雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性统计结果(田间区号 154, 共 127 株); B: (C48-2×18 白)  $F_2$  群体中株号为 115 的植株雄穗颖壳开裂田间表现及花粉  $I_2$ -IK 染色; C: (C48-2×A619)  $F_2$  群体雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性统计结果(田间区号 155, 170 株); D: (C48-2×A619)  $F_2$  群体中株号为 213 的植株雄穗颖壳开裂表现及花粉  $I_2$ -IK 染色; E: (C478×自 330)  $F_2$  群体雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性统计结果(田间区号 156, 共 126 株); F: (C478×自 330)  $F_2$  群体中株号为 189 的植株雄穗颖壳开裂田间表现及花粉  $I_2$ -IK 染色; G: (C48-2×A619)  $F_2$  群体雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性统计结果(田间区号 Z1, 156 株); H: (C48-2×A619)  $F_2$  群体雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性统计结果(田间区号 Z2, 95 株)。柱状图中的数字代表植株数。



表 8 双交群体育性表现及  $\chi^2$  检验Table 8 Fertility-restoration reactions of double-cross populations and  $\chi^2$  test

材料名称	育性级别					总株数	F	S	期望比例	$\chi^2$	田间区号
	I	II	III	IV	V						
(C478×18 白) F <sub>1S</sub> ×(C48-2×18 白) F <sub>1F</sub>	47	0	18	26	3	94	47	47	1 1	0	157
(C478×18 白) F <sub>1S</sub> ×(C48-2×A619) F <sub>1F</sub>	12	2	42	53	20	129	115	14	—	—	158
(C478×18 白) F <sub>1S</sub> ×(C478×自 330) F <sub>1F</sub>	41	2	12	22	14	91	48	43	1 1	0.18	159
(C48-2×自 330) F <sub>1S</sub> ×(C48-2×18 白) F <sub>1F</sub>	50	9	35	16	0	110	51	59	1 1	0.45	160
(C48-2×自 330) F <sub>1S</sub> ×(C48-2×A619) F <sub>1F</sub>	35	5	59	29	3	131	91	40	—	—	161
(C48-2×自 330) F <sub>1S</sub> ×(C478×自 330) F <sub>1F</sub>	78	5	39	11	0	133	50	83	—	—	162

表中的 6 个双交群体于 2014 年 10 月种植于云南。

自 330) F<sub>1S</sub>×(C48-2×A619) F<sub>1F</sub>]群体有 131 株, 其中可育株 91 株, 不育株仅为 40 株, 表明 18 白、自 330 的主效恢复基因均与 A619 的恢复基因非等位。

2014 年 10 月在云南种植 6 个双交群体, 也均出现小穗颖壳开裂不完全的现象(图 3)。对所有单株进行花粉镜检, 发现 6 个群体在田间都有小穗颖壳不开裂, 但花粉有可染和半染的情况; 田间表现半开裂的小穗几乎全部可染或者半染。有趣的是, 以 (C478×18 白) F<sub>1S</sub> 做母本时, 小穗颖壳不开裂的植株其花粉可染或半染的很少; 相反, 以 (C48-2×自 330) F<sub>1S</sub> 做母本时, 小穗颖壳不开裂的植株其花粉可染或半染的较多(图 4)。这些结果表明, C48-2 与 C478 的恢复机理可能存在差异。

同样将 6 个双交群体小穗颖壳开裂性状及花粉染色调查结果合并, 通过  $\chi^2$  独立性检验发现,  $\chi^2=529.45>\chi^2_{0.01(4)}=13.28$ , 再次表明小穗颖壳开裂程度与花粉可染率具有一定的相关性。

### 3 讨 论

#### 3.1 同质异核不育系对相同测验系的育性恢复反应不同, 暗示不育系核背景可能参与调控育性恢复表现

本研究基于恢保关系的测定结果, 发现同一个测验系对玉米 CMS-C 同质异核不育系的恢保关系不同。同样也发现同一个保持系对玉米 CMS-C 同型不育系保持, 但对相同不育胞质不同核背景的不育系即异型不育系可能表现为保持, 也可能表现为恢

复。类似现象在前人的研究中也发现, 如郑用琰等<sup>[33]</sup>观察到恢 313 与 CMO17 的测交后代育性表现为 I 级的保持, 与 C77 的测交后代育性表现为 V 级恢复, MO17 与 CMO17 的测交后代育性表现为 II 级保持, 与 C77 的测交后代育性表现为 IV 级恢复。由此不难看出, 所谓的恢复系应该是对特定核质组合下的不育系而言, 而所谓的保持系也是针对相同核背景下的不育系即同型不育系而言。特定的核质组合不仅决定了其本身的雄花育性表现, 也决定了哪些材料能恢复其不育性, 哪些材料不能恢复其不育性。可见, 玉米 CMS-C 同质异核不育系的育性恢复不仅取决于不育系本身的核质互作, 也依赖于特定的不育系与父本系的核核互作。陈伟程等<sup>[34]</sup>对玉米 CMS-C 花粉败育的细胞学观察发现, 不同核背景的不育系在败育方式上表现出多样性。Hu 等<sup>[24]</sup>在研究玉米 CMS-C 的恢复基因 *Rf5* 时, 也发现同一个材料对某些不育系恢复而对另外一些不育系则不能恢复, 并且最终被解释为在不能被恢复的不育系中含有 *Rf5* 的抑制基因, 所以表现为育性不被恢复。综上所述, 玉米 CMS-C 型不育系的核背景不仅影响其花粉败育方式, 同样也影响其育性恢复方式。

#### 3.2 微效基因通过累加达到某一个阈值也可以实现对玉米 CMS-C 不育系的育性恢复

在对本研究所配制的双交群体进行种植观察时发现, 双交组合 (C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub> 和 (C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C478×自 330) F<sub>1F</sub> 都出现了育性分离。前期的研究表明, 18 白不能恢复 C478 的育性, 48-2 也不能恢复 C478 的育性, 但以育性恢

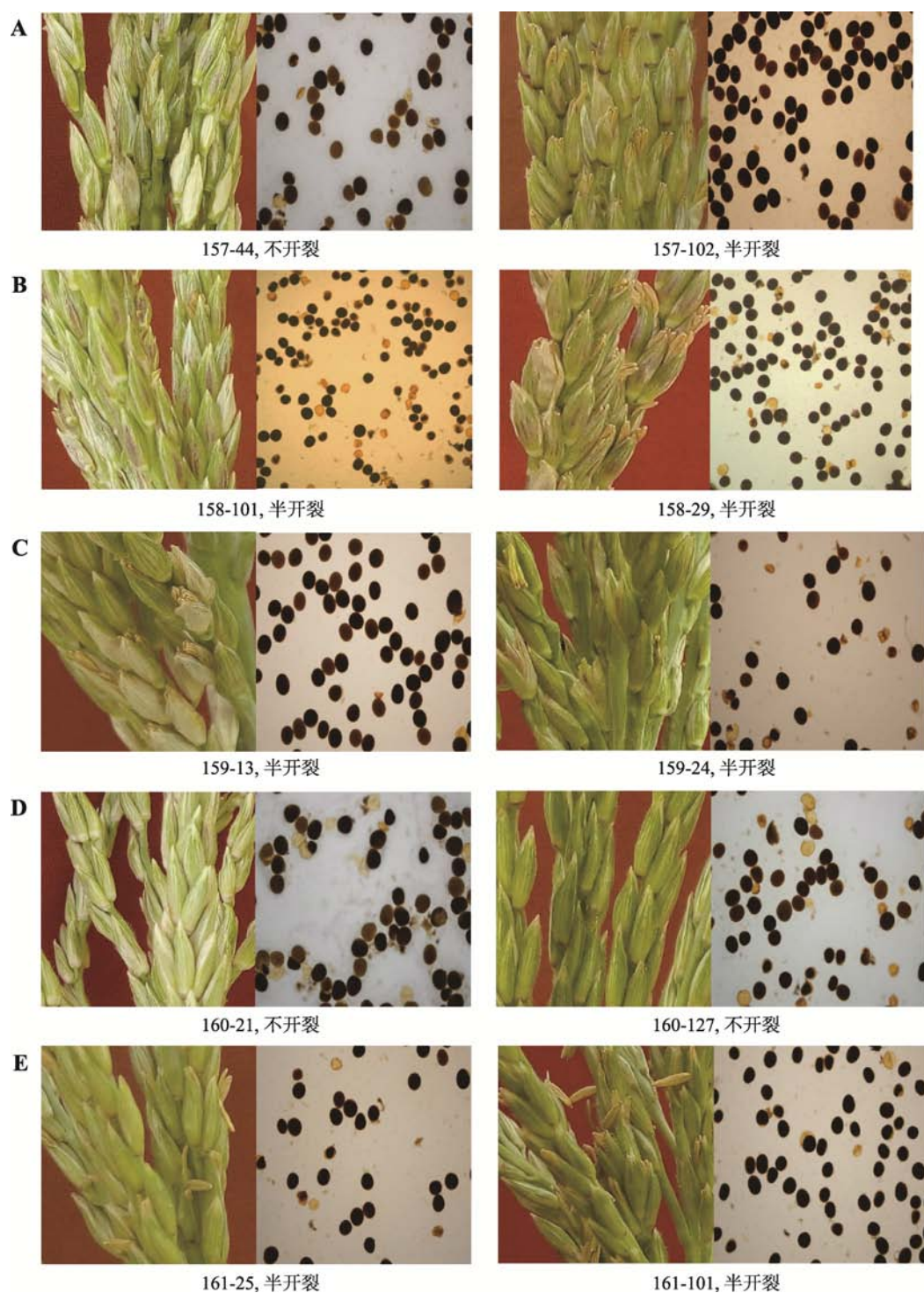


图 3 双交群体植株雄穗颖壳开裂田间表现和花粉镜检

Fig. 3 Field characterization of the tassel glumes dehiscence performance and pollen staining of double-cross populations

A~E: 分别为双交群体[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub>] (田间区号 157)、[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×A619) F<sub>1F</sub>] (田间区号 158)、[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C478×自 330) F<sub>1F</sub>] (田间区号 159)、[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub>] (田间区号 160)和[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C48-2×A619) F<sub>1F</sub>] (田间区号 161)中某单株雄穗颖壳田间开裂表现和花粉 I<sub>2</sub>-IK 染色。每张图片下面的数字代表田间区号及相应的株号, 如 157-44、157-102 分别表示第 157 区的第 44 株和 157 区的第 102 株。

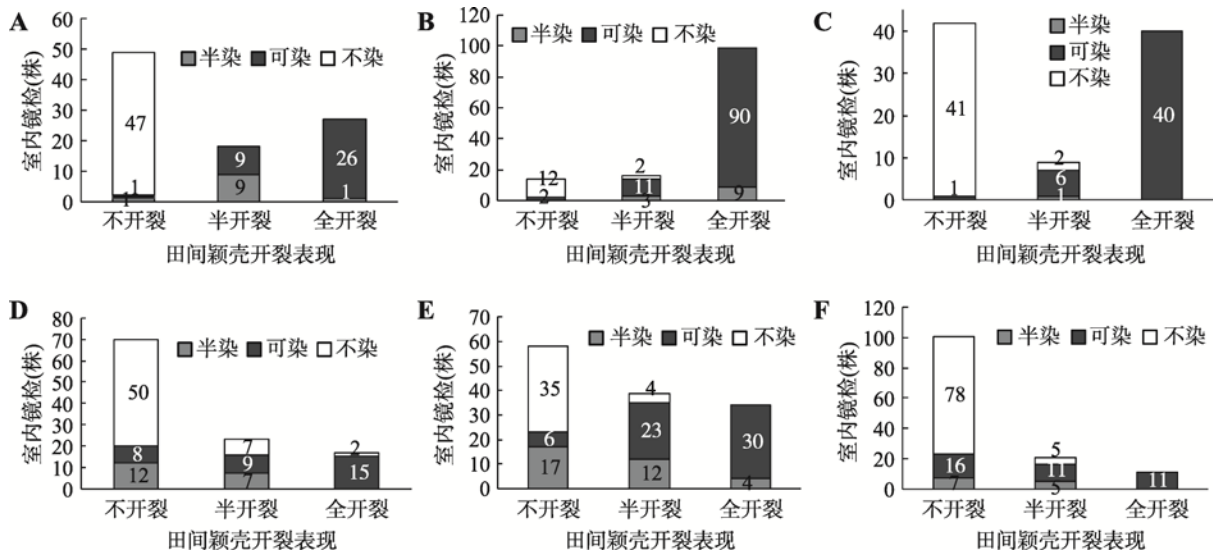


图 4 双交群体雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性

**Fig. 4 Dehiscence degree of tassel glumes and pollen staining of double-cross populations**

A~F: 分别为双交群体[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub>] (田间区号 157)、[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×A619) F<sub>1F</sub>] (田间区号 158)、[(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C478×自 330) F<sub>1F</sub>] (田间区号 159)、[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub>] (田间区号 160)、[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C48-2×A619) F<sub>1F</sub>] (田间区号 161)和[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C478×自 330) F<sub>1F</sub>] (田间区号 162)的雄穗颖壳开裂程度与花粉可染性的统计结果。柱状图中的数字代表植株数, 不同颜色代表不同的花粉染色表现。

复组合(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub> 给(C478×18 白) F<sub>1S</sub> 授粉, 双交组合(C478×18 白) F<sub>1S</sub>×(C48-2×18 白) F<sub>1F</sub> 却表现出育性分离; 同样自 330 不能恢复 C48-2, 478 也不能恢复 C48-2, 但以育性恢复组合(C478×自 330) F<sub>1F</sub> 给不育性保持组合(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub> 授粉, 双交组合[(C48-2×自 330) F<sub>1S</sub>×(C478×自 330) F<sub>1F</sub>] 后代也出现了育性分离。由此我们推测, 不育系本身也可能会带有某种育性恢复基因。Kohls 等<sup>[31]</sup>对玉米 CMS-C 育性部分恢复基因进行 QTL, 发现母本不育系中也存在恢复基因的 QTL 位点。由此, 本研究认为不育系的核背景很可能存在微效恢复基因, 这些微效基因单独作用并不能使不育系的育性恢复, 但与同样带有弱恢复基因的测验系杂交时, 由于恢复基因的累加作用, 可能会对原来单独不能恢复的不育系产生恢复作用。早期曾有报道指出, 不育系的育性恢复有时表现为由微效基因控制的数量性状遗传方式, 恢复基因对不育系的育性恢复呈现剂量效应, 对特定的不育系其恢复基因数量需要达到某一阈值 T1, 在该阈值之下植株表现为不育, 在另一阈值 T2 之上植株表现为完全恢复, 在 T1~T2 之间时表现为部分可育且恢复基因有剂量效应<sup>[35]</sup>。最近在

普通小麦 CMS 的研究中也发现微效恢复基因通过杂交聚合, 当恢复基因达到一定数量后可以使不育系的育性得以恢复<sup>[36]</sup>。

### 3.3 环境不仅对玉米 CMS-C 弱恢复系的恢复作用产生影响, 有时对强恢复系的恢复作用也会产生影响

本研究通过对不同年份不同地点配制的杂交组合进行种植观察, 发现强恢复系杂交 F<sub>2</sub> 代的育性分离比不会因不同年份不同点配制的杂交组合而不同, 但却发现同一个强恢复系杂交 F<sub>2</sub> 代, 在不同年份不同地点种植, 其可育株的育性级别构成却存在差异; 而对于弱恢复系的杂交 F<sub>2</sub>, 在不同年份不同地点种植, 其育性分离比会明显发生偏离。如(C478×自 330) F<sub>2</sub>, 2008 年 4 月在四川种植时, 可育株(F) 不育株(S)分离比符合 9:7, 2014 年 10 月在云南种植时, 不育株 83, 可育株只有 43, 可育株(F) 不育株(S)分离比明显偏离 9:7。此外, 2014 年 10 月在云南及 2015 年 4 月在温江分别种植(C48-2×A619) F<sub>2</sub>, 可育株与不育株的分离比均符合 15:1, 但田间调查显示云南可育株中Ⅲ+Ⅳ级可育株较多, 而Ⅴ级可



育较少, 四川的田间调查结果则显示可育株主要为 V 级完全可育。这些结果暗示玉米 CMS-C 的育性恢复表现受环境影响, 并且环境对弱恢复系的恢复作用有较大影响, 这与前人对玉米 CMS-C、水稻细胞质雄性不育的研究结果相一致<sup>[20, 37]</sup>, 并且 Nico 等<sup>[38]</sup>详细综述了环境对植物雄性不育的影响过程和机理。而本研究的 A619 是一个强恢复系, 虽然其 F<sub>2</sub> 的育性分离比例在四川和云南基本一致, 但其可育株的育性级别构成在四川和云南种植有明显的差别。翟虎渠<sup>[35]</sup>曾在其报道中提出, 不育系的育性恢复需要恢复基因达到某一阈值, 该阈值可能会因环境条件不同而上下浮动。这更加印证了不育系的育性恢复需要不育系与恢复系的相互作用, 无论是强恢复系, 还是弱恢复系, 其杂交后代的育性都有可能受到环境的影响。这也暗示在分析环境对育性恢复的影响时, 不仅要考虑强恢复系与弱恢复系差别, 有时也需要关注杂交种父母本的种质类型或对光温敏反应的敏感性。

综上所述, 玉米 CMS-C 育性恢复的复杂性在一定程度上反映了其败育方式的多样性。因此, 对玉米 CMS-C 育性恢复及败育机理的探究仍然是一个重要的研究方向。

## 参考文献(References):

- [1] Chen LT, Liu YG. Male sterility and fertility restoration in crops. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, 65(1): 579–606. [DOI]
- [2] Beckett JB. Classification of male-sterile cytoplasm in maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci*, 1971, 11(5): 724–727. [DOI]
- [3] Zheng YL. Study on the mechanism of the fertility about several types of cytoplasmic male-sterility in maize. *J Huazhong Agric College*, 1982, (1): 44–68.  
郑用琰. 若干玉米细胞质雄性不育类型(CMS)育性机理的研究. *华中农学院学报*, 1982, (1): 44–68. [DOI]
- [4] Scheifele GL, Nelson RR, Koons C. Male sterility cytoplasm conditioning susceptibility of resistant inbred lines of maize to yellow leaf blight caused by *Phyllosticta zeae*. *Plant Dis Rep*, 1969, 53: 656–659. [DOI]
- [5] Feng Y, Zheng Q, Song H, Wang Y, Wang H, Jiang LJ, Yan JB, Zheng YL, Yue B. Multiple loci not only *Rf3* involved in the restoration ability of pollen fertility, anther exertion and pollen shedding to S type cytoplasmic male sterile in maize. *Theor Appl Genet*, 2015, 128(11): 2341–2350. [DOI]
- [6] 侯玮, 陈举林, 王国胜, 闫保罗, 李平海. 细胞质雄性不育在玉米育种及生产中的应用概述. *安徽农学通报*, 2011, 17(1): 64–66. [DOI]
- [7] Sun QQ, Rong TZ. Study and use of cytoplasmic male sterility in maize. *J Sichuan Agric Univ*, 2003, 21(1): 49–53.  
孙庆泉, 荣廷昭. 玉米胞质雄性不育材料的研究和利用. *四川农业大学学报*, 2003, 21(1): 49–53. [DOI]
- [8] 李继耕. 细胞质雄性不育性的分子机理. *遗传*, 1992, 14(2): 37–40. [DOI]
- [9] Li DD, Wang B. Rice *atpA* gene cloning and relationship with cutoplasimic male sterility. *Hereditas (Beijing)*, 1990, 12(4): 1–4.  
李大东, 王斌. 水稻线粒体 *atpA* 基因的克隆及其与细胞质雄性不育的关系. *遗传*, 1990, 12(4): 1–4. [DOI]
- [10] Li XM, Zheng YL, Zhang FD, Zhu YG. RFLP analysis for mitochondria genome of CMS rice Honglian type. *Hereditas (Beijing)*, 2000, 22(4): 201–204.  
李小明, 郑用琰, 张方东, 朱英国. 红莲型细胞质雄性不育水稻线粒体 DNA 的 RFLP 分析. *遗传*, 2000, 22(4): 201–204. [DOI]
- [11] Dewey RE, Timothy DH, Levings III CS. Chimeric mitochondrial genes expressed in the C male-sterile cytoplasm of maize. *Curr Genet*, 1991, 20(6): 475–482. [DOI]
- [12] Luo DP, Xu H, Liu ZL, Guo JX, Li HY, Chen LT, Fang C, Zhang QY, Bai M, Yao N, Wu H, Wu H, Ji CH, Zheng HQ, Chen YL, Ye S, Li XY, Zhao XC, Li RQ, Liu YG. A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice. *Nat Genet*, 2013, 45(5): 573–577. [DOI]
- [13] Kazama T, Toriyama K. A pentatricopeptide repeat-containing gene that promotes the processing of aberrant *atp6* RNA of cytoplasmic male-sterile rice. *FEBS Lett*, 2003, 544(1–3): 99–102. [DOI]
- [14] Krishnasamy S, Makaroff CA. Organ-specific reduction in the abundance of a mitochondrial protein accompanies fertility restoration in cytoplasmic male-sterile radish. *Plant Mol Biol*, 1994, 26(3): 935–946. [DOI]
- [15] Liu Z, Dong FM, Wang X, Wang T, Su R, Hong DF, Yang GS. A pentatricopeptide repeat protein restores *nap* cytoplasmic male sterility in *Brassica napus*. *J Exp Bot*, 2017, 68(15): 4115–4123. [DOI]
- [16] Wei WL, Wang HZ, Liu GH. Advanced biological studies on the cytoplasmic male sterility and its fertility Restoration in plants. *Hereditas (Beijing)*, 2005, 27(4): 651–658.  
危文亮, 王汉中, 刘贵华. 植物细胞质雄性不育性与育性恢复的分子生物学研究进展. *遗传*, 2005, 27(4): 651–658. [DOI]
- [17] Janska H, Sarria R, Woloszynska M, Arrieta-Montiel M, Mackenzie SA. Stoichiometric shifts in the common bean mitochondrial genome leading to male sterility and spon-

- taneous reversion to fertility. *Plant Cell*, 1998, 10(7): 1163–1180. [DOI]
- [18] Mackenzie SA, Chase CD. Fertility restoration is associated with loss of a portion of the mitochondrial genome in cytoplasmic male-sterile common bean. *Plant Cell*, 1990, 2(9): 905–912. [DOI]
- [19] He S, Lyznik A, Mackenzie S. Pollen fertility restoration by nuclear gene *Fr* in Cms bean: nuclear-directed alteration of a mitochondrial population. *Genetics*, 1995, 139(2): 955–962. [DOI]
- [20] Chen WC, Luo FH, Ji LY. Some genetic aspects of the c-type cytoplasmic male-sterility in maize and its use in breeding. *Acta Agron Sin*, 1979, 5(4): 21–28.  
陈伟程, 罗福和, 季良越. 玉米 C 型胞质雄花不育的遗传及其在生产上的应用. 作物学报, 1979, 5(4): 21–28. [DOI]
- [21] Chen WC, Duan SF. The genetics of fertility C-cytoplasmic male sterility in corn. *Acta Agric Univ Henanensis*, 1986, 20(2): 125–140.  
陈伟程, 段韶芬. 玉米 C 型胞质雄性不育恢复性遗传研究. 河南农业大学学报, 1986, 20(2): 125–140. [DOI]
- [22] Kheyr-Pour A, Gracen VE, Everett HL. Genetics of fertility restoration in the C-Group of cytoplasmic male sterility in maize. *Genetics*, 1981, 98(2): 379–388. [DOI]
- [23] Sisco PH. Duplications complicate genetic mapping of *Rf4*, a restorer gene for cms-C cytoplasmic male sterility in corn. *Crop Sci*, 1991, 31(5): 1263–1266. [DOI]
- [24] Hu YM, Tang JH, Yang H, Xie HL, Lu XM, Niu J H, Chen WC. Identification and mapping of *Rf-I* an inhibitor of the *Rf5* restorer gene for Cms-C in maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet*, 2006, 113(2): 357–360. [DOI]
- [25] Liu ZH, Chen WC. Research on stability of male fertile restoration of corn hybrids with different sterile cytoplasms-II restorability relation to environments. *Acta Agricul Univ Henanensis*, 1992, 26(1): 1–8.  
刘宗华, 陈伟程. 玉米不育胞质杂交种雄花育性恢复稳定性的研究——恢复性与环境的关系. 河南农业大学学报, 1992, 26(1): 1–8. [DOI]
- [26] Weider C, Stamp P, Christov N, Hüsken A, Foueillassar X, Camp K, Munsch M. Stability of cytoplasmic male sterility in maize under different environmental conditions. *Crop Sci*, 2009, 49(1): 77–84. [DOI]
- [27] Bueckmann H, Thiele K, Schiemann J. Influence of soil moisture and air temperature on the stability of cytoplasmic male sterility (CMS) in maize (*Zea mays* L.). *Agric Sci*, 2016, 7(2): 70–81. [DOI]
- [28] Tracy WF, Everett HL, Gracen VE. Inheritance, environmental effects, and partial male fertility in C-type CMS in a maize inbred. *J Hered*, 1991, 82(4): 343–346. [DOI]
- [29] Chen W, Liu ZX, E LZ, Yang H, Dai JR. Classification of male sterile cytoplasm of CMS-P in maize (*Zea mays everta*). *Acta Agron Sin*, 2007, 33(2): 196–200.  
陈伟, 刘占先, 鄂立柱, 杨会, 戴景瑞. 玉米细胞质雄性不育材料 CMS-P 的胞质分类研究. 作物学报, 2007, 33(2): 196–200. [DOI]
- [30] Yang GS, Fu TD. Environment effects on the cytoplasmic male-sterility of rapeseed (*B. napus* and *B. campestris*). *Chin J Oil Crop Sci*, 1987, (3): 15–19.  
杨光圣, 傅廷栋. 环境条件对油菜细胞质雄性不育的影响. 中国油料作物学报, 1987, (3): 15–19. [DOI]
- [31] Kohls S, Stamp P, Knaak C, Messmer R. QTL involved in the partial restoration of male fertility of C-type cytoplasmic male sterility in maize. *Theor Appl Genet*, 2011, 123(2): 327–338. [DOI]
- [32] Duvick DN. Cytoplasmic pollen sterility in corn. *Adv Genet*, 1965, 13: 1–56. [DOI]
- [33] Zheng YL, Liu JL. Relativity between mitochondria DNA and fertility instability of CMS-S in maize. *J Huazhong Agric Univ*, 1992, 11(2): 120–126.  
郑用琰, 刘纪麟. 玉米 CMS-C 材料雄花育性不稳定性与 DNA 的关系. 华中农业大学学报, 1992, 11(2): 120–126. [DOI]
- [34] Chen WC, Duan SF. The cytological observation of anther development in C-cytoplasmic male-sterile corn. *Acta Agron Sin*, 1988, 14(3): 177–181.  
陈伟程, 段韶芬. 玉米 C 型胞质雄性不育系花药发育的细胞学观察. 作物学报, 1988, 14(3): 177–181. [DOI]
- [35] Zhai HQ. A hypothesis of threshold character and dosage effector the hereditary manners of male sterile and fertility restoring genes in rice. *Hereditas (Beijing)*, 1990, 12(5): 47–48.  
翟虎渠. 水稻雄性不育—恢复基因的阈性状和剂量效应假说. 遗传, 1990, 12(5): 47–48. [DOI]
- [36] Geyer M, Albrecht T, Hartl L, Mohler V. Exploring the genetics of fertility restoration controlled by *Rf1* in common wheat (*Triticum aestivum* L.) using high-density linkage maps. *Mol Genet Genomics*, 2018, 293(2): 451–462. [DOI]
- [37] Yu SW, Xie JK, Wan Y, Hu BL. Genetic study and environmental effects on fertility restoration of cytoplasmic male sterility of rice. *Acta Agric Jiangxi*, 2004, 16(4): 5–9.  
余守武, 谢建坤, 万勇, 胡标林. 水稻细胞质雄性不育性恢复遗传及其环境效应研究. 江西农业学报, 2004, 16(4): 5–9. [DOI]
- [38] Nico DS, Danny G. The impact of environmental stress on male reproductive development in plants: biological processes and molecular mechanisms. *Plant Cell Environ*, 2014, 37(1): 1–18. [DOI]