

· 特邀综述 ·

## 玉米细胞质雄性不育及育性恢复研究进展

郑名敏<sup>1</sup>, 黄强<sup>2</sup>, 张鹏<sup>3</sup>, 刘孝伟<sup>3</sup>, 赵卓凡<sup>3</sup>, 易洪杨<sup>3</sup>, 荣廷昭<sup>3</sup>, 曹墨菊<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>成都师范学院化学与生命科学学院, 特色园艺生物资源开发与利用四川省高校重点实验室, 成都 611130

<sup>2</sup>四川省原子能研究院, 成都 610101; <sup>3</sup>四川农业大学玉米研究所, 成都 611130

**摘要** 细胞质雄性不育(CMS)是一种广泛存在于高等植物中的母性遗传性状。CMS是研究核质互作的理想材料, 也是植物杂种优势利用的重要基础。玉米(*Zea mays*)是杂种优势利用最成功的作物之一, 利用CMS进行玉米杂交种生产已成为杂种优势利用的有力工具。因此长期以来玉米CMS均是植物学的研究热点。该文综述了玉米3种主要的CMS类型不育基因与育性恢复研究进展, 探讨了现阶段玉米CMS研究与不育化制种应用有待解决的问题, 以期为深入研究植物CMS的分子机制及玉米CMS系统在杂种优势利用中的应用提供参考。

**关键词** 玉米, 细胞质雄性不育, CMS基因, 育性恢复

郑名敏, 黄强, 张鹏, 刘孝伟, 赵卓凡, 易洪杨, 荣廷昭, 曹墨菊 (2024). 玉米细胞质雄性不育及育性恢复研究进展. 植物学报 59, 999–1006.

细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)是一种广泛存在于高等植物中的母性遗传性状, 主要表现为雄穗异常, 不能产生有功能的花粉, 而雌穗发育正常, 可授粉结实。Bateson和Gairdner (1921)在亚麻(*Linum usitatissimum*)中首次发现CMS植株。现已在200多种自然状态下的高等植物中观察到CMS现象(吴豪等, 2007; Hu et al., 2012)。线粒体基因组是CMS的细胞质育性因子载体(Hu et al., 2014), 迄今为止报道的植物CMS不育基因均存在于线粒体基因组中。CMS主要是由于线粒体基因组重组和外源DNA整合形成特定嵌合基因, 干扰了其正常功能及花粉发育。而与之相对应, 在细胞内存在一类由核基因编码的特定恢复基因(*restorer of fertility, Rf*), 它们能够抑制或者消除CMS不育基因的作用, 从而使植株育性得以恢复(Chase, 2007)。CMS/Rf系统广泛应用于作物杂交育种和杂种生产, 是杂种优势利用和杂种生产的重要生物学基础, 也是研究花粉发育、核质互作和协同进化的理想模型。

玉米(*Zea mays*)是全球总产量最高的农作物, 也是杂种优势普及推广最有成效的作物之一。同时,

玉米作为遗传学研究模式植物及最早利用CMS/Rf系统进行规模化杂交种生产的作物, 其CMS相关研究备受关注。1931年, Rhoades在秘鲁的原始材料中首次发现玉米CMS材料(Rhoades, 1931), 后来研究人员在生产和科研中发现和创制了上百种不同来源的玉米CMS材料。Beckett (1971)率先采用恢复专效性测验, 提出将不同来源的玉米CMS材料划分为T (Texas)、C (Charrua)和S (USDA)三种基本类型, 该结论在后来的研究中也得到认可(Gracen and Grogan, 1974)。郑用琨(1982)在此基础上进行改进和发展, 建立了一套适合我国玉米CMS材料的分类体系(也将其分为T、C、S三种主要类型)。此外, 研究人员还发现一些与以上不同的新型胞质不育类型, 如Y<sub>II-1</sub>型(秦泰辰等, 1994)、L<sub>2</sub>型(陈庆华, 1997)和Bao II (燕振国和曾孟潜, 1999)。玉米CMS相关研究集中于3种主要类型, 其中CMS-T以及CMS-C属于孢子体雄性不育, 败育彻底且不育性状较为稳定; CMS-S属于配子体雄性不育, 育性容易受到环境的影响(Weider et al., 2009)。本文对玉米CMS不育基因及育性恢复相关研究进行概述, 并探讨了现阶段玉米CMS研究与应用中

收稿日期: 2024-05-31; 接受日期: 2024-07-23

基金项目: 四川省自然科学基金(No.2024NSFSC1210)和成都师范学院高层次人才引进项目(No.YJRC2020-23)

\* 通讯作者。E-mail: caomj@sicau.edu.cn

有待解决的问题, 以期为深入研究植物CMS以及玉米CMS/*Rf*系统在杂种优势利用中的应用提供参考。

1 玉米CMS-T的败育与育性恢复

20世纪50年代, CMS-T不育系最先应用于玉米杂交种生产, 极大地提高了制种效率(Chen and Liu, 2014)。因此, 早期对其研究较多且最为深入。*T-urf13*是首个被鉴定的植物CMS基因(表1), 是植物CMS分子生物学研究的典范。*T-urf13*最初是利用T型不育和正常可育胞质的线粒体RNA (mitochondrial RNA, mt-RNA)分别与不育系线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)文库差减杂交发现(Dewey et al., 1986)。该嵌合基因编码一个具有跨膜结构域的13 kDa蛋白(Dewey et al., 1987), 其中115个氨基酸的编码区由*rrn26*的3'端、编码区以及一段未知来源序列重组形成, 上游区域为*atp6*的5'端序列(Dewey et al., 1986, 1987)。片段插入造成移码突变, 导致*T-urf13*翻译提前终止, 使T型不育系的育性得以恢复, 从而证实该基因是CMS-T不育基因(Wise et al., 1987)。*T-urf13*编码的线粒体内膜通道结构蛋白通过影响线粒体内膜的通透性, 使电子传递过程受损, 能量代谢紊乱, 致使花粉败育(Korth and Levings III, 1993)。

玉米CMS-T育性恢复主要受2个具有互补效应的显性恢复基因*Rf1*和*Rf2*控制(表2), 它们分别位于第3

和第9号染色体(Duvick et al., 1961; Snyder and Duvick, 1969; Laughnan and Gabay-Laughnan, 1983)。其中, *Rf2*是利用转座子标签法克隆的首个*Rf*基因(Cui et al., 1996), 其序列与哺乳动物的乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)相似, 育性恢复功能是基于RF2蛋白的ALDH活性(Liu et al., 2001)。与典型的*Rf*基因不同, *Rf2*并不影响URF13蛋白的积累(Dewey et al., 1987; Cui et al., 1996)。Cui等(1996)推测*Rf2*可能通过调控线粒体的能量代谢通路或者通过与URF13蛋白直接/间接互作来减轻不育基因的毒害作用从而使育性恢复。有趣的是, 多数玉米自交系均携带有*Rf2*基因, 并且是正常胞质中花药发育的必需基因(Liu et al., 2001)。另一个恢复基因*Rf1*通过对*T-urf13*转录本的加工使线粒体中URF13蛋白的积累减少(Wise et al., 1996)。此外, Dill等(1997)报道了2个CMS-T中具有部分育性恢复功能的基因*Rf8*和*Rf\**, 它们的作用机制与*Rf1*类似, 也通过降低*T-urf13*的表达量来恢复育性(Dill et al., 1997)。

2 玉米CMS-C的败育与育性恢复

玉米CMS-C败育发生在四分体至单核时期(Lee et al., 1979; 陈伟程和段韶芬, 1988), 花粉败育彻底。Dewey等(1991)采用限制性酶切技术, 发现CMS-C线粒体基因组中存在3个特有的嵌合基因*atp6-c*、

表1 玉米细胞质雄性不育(CMS)基因及其作用机制

Table 1 Cytoplasmic male sterility (CMS) genes and their mechanisms of action in maize

CMS类型	CMS基因	编码蛋白特征	作用机制	参考文献
CMS-T	<i>T-urf13</i>	13 kDa毒性膜蛋白	毒性蛋白	Dewey et al., 1987, 1988
CMS-C	<i>atp6-c</i>	类似ATP6的ATP合酶F <sub>0</sub> 亚基	能量缺陷	Yang et al., 2022
CMS-S	<i>orf355</i>	膜蛋白	线粒体逆行信号调控	Xiao et al., 2020

表2 玉米中鉴定的与玉米细胞质雄性不育(CMS)育性恢复相关的主效恢复基因

Table 2 Characterized the dominant restorer genes associated with cytoplasmic male sterility (CMS) fertility restoration in maize

CMS类型	恢复基因	染色体位置	编码蛋白特征	作用机制	参考文献
CMS-T	<i>Rf1</i>	3	未知	改变 <i>T-urf13</i> 转录本的积累	Laughnan and Gabay-Laughnan, 1983; Wise et al., 1996
	<i>Rf2</i>	9	ALDH	未知	Cui et al., 1996
CMS-C	<i>Rf4</i>	8	bHLH蛋白	未知	Jaqueth et al., 2020
	<i>ZmRf5/Rf12</i>	2	PPR蛋白	<i>atp6-c</i> 转录本的切割和降解	Zhang et al., 2023; Lin et al., 2024
CMS-S	<i>Rf3</i>	2	PPR蛋白	未知机制加速 <i>orf355</i> 转录本的降解	Qin et al., 2021

*atp9-c*和*cox2-c*。Allen等(2007)利用鸟枪法对玉米2种正常可育胞质(NA和NB)以及3种不育胞质(T、C和S)的线粒体全基因组序列进行测序分析,发现CMS-C线粒体基因组最大,但并未鉴定出与CMS-C相关的开放阅读框。直至近年来,Yang等(2022)通过遗传转化证实*atp6-c*是玉米CMS-C不育基因(表1),*atp6-c*由*atp9*的5'端39 bp、未知来源的441 bp及正常*atp6*基因3'端约800 bp三部分嵌合而成(Dewey et al., 1991; Meyer, 2009)。ATP6C蛋白与ATP8/9蛋白相互作用更强,从而降低F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATPase组装体的质量与活性,导致线粒体内膜积累过量的质子,诱发活性氧(reactive oxygen species, ROS)爆发,最终导致绒毡层细胞提前发生细胞程序性死亡、花粉败育(Yang et al., 2022)。

玉米CMS-C的育性恢复遗传表现较为复杂。Khey-Pour和Gracen (1980)通过多个自交系与不同CMS-C不育系的系列杂交、回交、自交测验,发现大多数具有恢复作用的自交系携带1个*Rf*基因,一些自交系可能同时携带2个*Rf*基因,推测CMS-C的育性恢复可能由单基因或者2个基因控制。后来,他们利用W182BN和CO107核背景下C胞质各亚组(C、Bb、Es、PR和RB)不育系与多个自交系的系列杂交、自交测验,证明恢复系均携带1个主效恢复基因(命名为*Rf4*),可恢复不同亚组的CMS-C不育系(Khey-Pour et al., 1981)。陈伟程等(1979)和汤继华等(2001c)通过CMS-C不育系与恢复系杂交后代的遗传分析,推测育性恢复受2个显性重叠基因的控制。国内外研究人员先后利用RFLP、AFLP和SSR分子标记均将主效恢复基因*Rf4*定位于第8号染色体短臂(Sisco, 1991; 汤继华等, 2001a, 2001b, 2001c)。Jaqueth等(2020)采用高密度SNP芯片结合图位克隆,并通过CRISPR/Cas9系统的基因组定点编辑技术证实GRMZM2-G021276是*Rf4* (表2),该基因属于碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录因子家族,其关键位点F187Y氨基酸从酪氨酸转变为苯丙氨酸,使基因具有恢复CMS-C育性的功能,但具体作用机理仍不清楚。需要说明的是,前人研究发现该基因同时也是1个核不育基因(*Ms23*),功能缺陷会引起花药发育过程中周缘细胞平周分裂异常,绒毡层分化受阻,并最终导致花粉败育(Nan et al., 2017)。汤继华等(2001c)利用SSR分子标记将另一个主效恢复基因*Rf5*定位在

第5号染色体长臂。后来,Hu等(2006)和赵素贞等(2007)在CMS-C不育系C77中发现*Rf5*显性抑制基因*Rf5-I*,利用SSR分子标记将该基因定位于第7号染色体,并证实其仅对*Rf5*具有抑制作用,对*Rf4*则不具有抑制作用。Zhang等(2023)在强恢复系ZH91中鉴定到1个主效恢复基因(命名为*Rf12*),通过精细定位和候选基因分析推测Zm00001d007531为目标基因。Lin等(2024)采用图位克隆,并通过功能回补和等位性检验确定Zm00001d007531为*ZmRf5* (表2),该基因编码1个靶向线粒体的P型三角状五肽重复(pentatricopeptide repeat, PPR)蛋白。*ZmRF5*不能直接结合*atp6c*转录本,而是通过协同MORF8与RS31A结合形成切割(或育性恢复)复合体对*atp6c*转录本5'区域部分切割,进而恢复玉米CMS-C的育性(Lin et al., 2024)。Qin等(1990)认为玉米CMS-C的育性恢复还涉及部分恢复基因*Rf6*。Vidaković等(1997a, 1997b)提出*Rf4*、*Rf5*和*Rf6*并不是玉米CMS-C唯一的恢复体系,可能还存在其它发挥育性恢复作用的遗传体系。Liu等(2016)通过连锁标记分析,发现自交系A619中存在1个与*Rf5*不等位的新恢复基因*Rf\*-A619*。Kohls等(2011)和Zheng等(2020)报道了一些与玉米CMS-C育性部分恢复相关的QTL位点,这可能也是玉米CMS-C育性恢复表现复杂的原因。

### 3 玉米CMS-S的败育与育性恢复

玉米CMS-S的败育时期较晚(Lee et al., 1980; Wen and Chase, 1999),与其它2种类型(CMS-S和CMS-C)相比,存在的育性不稳定现象较为突出(Weider et al., 2009)。早期研究发现,玉米CMS-S的育性转换与其特有的*orf355/orf77*线粒体嵌合基因1.6 kb转录本的转录水平密切相关(Wen and Chase, 1999; Zhang et al., 2004; Xiao et al., 2006; Gabay-Laughnan et al., 2009; Matera et al., 2011)。最近,Xiao等(2020)通过遗传转化证实*orf355*为玉米CMS-S不育基因(表1),且鉴定到1个花药特异表达的转录因子ZmDREB1.7,其能够结合到*orf355*基因的启动子区域并促进该基因的转录,推测ZmDREB1.7与*orf355*在CMS-S不育系小孢子中形成一个正反馈调控机制,使细胞积累毒性蛋白ORF355进而导致败育。除不育基因*orf355*起主效作用外,线粒体基因组结构、功能基因拷贝数差

异以及线粒体活力水平都会影响CMS-S的不育稳定性(Xiao et al., 2022)。

*Rf3*是玉米中鉴定的唯一1个CMS-S主效恢复基因,早在1978年就被定位在第2号染色体长臂(Laughnan and Gabay, 1978)。之后,国内外研究人员对*Rf3*的定位与克隆进行了几十年研究,结果均证实*Rf3*位于第2号染色体长臂末端(Kamps and Chase, 1997; Gabay-Laughnan et al., 2004; Zhang et al., 2006; Xu et al., 2009; Qin et al., 2020)。近年来, Qin等(2021)成功克隆并且通过CRISPR/Cas9突变证实*PPRK2*为*Rf3* (表2),该基因编码靶向线粒体的P型PPR蛋白,通过与*orf77*结合抑制其编辑和降解,并且以某种未知机制加速与*orf77*共表达的不育基因*orf355*降解,从而恢复CMS-S的育性。Gabay-Laughnan等(2009)在玉米自交系A619中鉴定到1个CMS-S恢复基因*Rf9*,其育性恢复能力较*Rf3*更弱。*Rf9*可以降低包含*orf355/orf77*的线性线粒体亚基因组数量,表达受自交系核背景以及温度的影响(Gabay-Laughnan et al., 2009)。Tie等(2006)检测到6个与玉米CMS-S育性恢复相关的QTLs。Feng等(2015)利用全基因组关联分析鉴定到19个基因位点与玉米CMS-S的育性恢复显著相关。Su等(2016)利用RNA-Seq在第2号染色体短臂定位到可能与玉米CMS-S育性不稳定相关的5个区域。

#### 4 玉米CMS的研究与利用展望

植物细胞质雄性不育基因和恢复基因的克隆与功能分析为阐明其败育及其育性恢复分子机制提供了重要切入点。截至目前,玉米3种主要CMS类型的不育基因均已明确,它们导致花粉败育的分子机制各有特点。最早发现CMS-T不育基因*T-urf13*编码的蛋白具有毒性(Dewey et al., 1988),基于其特点和作用方式提出了毒性蛋白假说。CMS-C是唯一缺失了正常线粒体基因(*atp6*)的CMS材料,不育基因*atp6-c*由*atp6*参与重组形成并替代其功能,通过影响F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATPase组装导致花粉败育(Yang et al., 2022),为植物CMS分子机制研究提供了新视角。CMS-S不育基因*orf355*通过与花药特异表达的核基因*ZmDREB1.7*在小孢子中形成的正反馈转录调控导致花粉败育(Xiao et al., 2020),为深入了解植物CMS中核质互作协调提供了

新思路。关于玉米CMS基因及其生物学功能仍有很多方面值得探索。迄今为止,其起源仍是未解之谜,其中包含的未知来源序列在CMS发生过程中的作用也不清楚。植物细胞中,以URF13为代表的毒性蛋白积累导致CMS发生的机制仍然未知。CMS-C不育基因*atp6-c*在花药以外的其它组织部位如何替代正常线粒体基因*atp6*行使功能?另外,关淑仙(2018)在玉米CMS-C材料中检测到以亚化学计量形式存在的线粒体基因*atp6*,在正常胞质材料中检测到以亚化学计量形式存在的嵌合基因*atp6-c*、*atp9-c*和*cox2-c*,并且在通过不同途径获得的玉米CMS-C材料中均能检测到3个嵌合基因同时存在,推测它们在C型胞质和正常胞质中可能发生了亚化学计量转换。除影响花粉发育外,URF13蛋白对大肠杆菌有毒,对许多真核细胞也具有毒害作用,在昆虫的生物防治中具有很大的应用潜力(Korth and Levings III, 1993)。ORF355蛋白可通过改变细胞内代谢平衡激活抗氧化防御系统,从而增强CMS-S玉米的耐盐性(Xiao et al., 2023)。

目前,已克隆的*Rf*基因大多为PPR基因家族成员,其编码的蛋白靶向线粒体,通过与不育基因直接或间接作用消除不育基因的影响。除*Rf1*外,玉米CMS的4个主效恢复基因均已被克隆。其中,*Rf2*和*Rf4*不属于PPR基因家族,不同的分子特征暗示了其育性恢复机理的特异性及玉米CMS育性恢复机制的多样性。*Rf4*是科学界公认的强恢复基因,也是迄今为止发现的唯一编码蛋白位于细胞核的*Rf*基因,研究发现该基因需要另一个核基因*PPR153* (*Zm00001e-b114660*)配合才能够正常发挥使玉米CMS-C育性恢复的作用(Jaqueth et al., 2024),表明其调控育性恢复的分子机制可能更加特殊。但需要说明的是,*Rf2*和*Rf4*均被证实对玉米雄花正常发育不可或缺(Liu et al., 2001; Nan et al., 2017),推测其在育性恢复中的作用很可能是在进化过程中重新获得,通过不同的途径调控花药发育和育性恢复,2个调控通路之间的互动与联系有待进一步解析。另外2个主效恢复基因*Rf3*和*ZmRf5*属于PPR基因家族,均编码814个氨基酸,并且序列结构高度相似。这2个基因位于第2号染色体长臂末端相邻位置,与*Rf4*调控育性恢复所需要的互补基因*PPR153*邻近,该区段存在1个具有高度相似性的PPR基因簇,可能是进化中基于不同的CMS类型分化出了相应的*Rf*基因,解析PPR基因簇的功能

有助于深入理解植物CMS育性恢复的分子机理。

玉米是杂种优势利用最成功的作物之一, 利用玉米CMS开展规模化制种, 不仅可降低种子的生产成本、提高杂交种纯度质量, 还能充分发挥杂种优势的增产潜能(Stamp et al., 2000)。20世纪70年代前CMS-T曾被广泛用于玉米杂交种生产, 但由于玉蜀黍平脐蠕孢菌(*Bipolaris maydis*) T小种专化侵染T胞质的不育系及其杂种, 被迫停止使用(Ullstrup, 1972; Levings III, 1993)。鉴于长期大面积推广单一胞质具有潜在的遗传脆弱性, 研究人员开始重视不育胞质遗传多样性材料的选育和分子机制研究。玉米CMS-C和CMS-S种质资源丰富, 在杂交制种生产中具有广阔的应用前景。然而, 在农业实际生产中还存在一些不足, 限制了其应用, 诸如生产中CMS-C不育系不易找到特定强恢复系以及遗传背景和环境因素造成CMS-S不育系的育性不稳定。利用现代分子生物学新技术、新方法深入解析玉米CMS败育与育性恢复的分子机制有助于推进玉米CMS不育化制种利用, 使CMS/Rf系统在杂种优势利用中更加高效。另外, 生产中综合利用多种胞质类型或亚组类型组配同型杂交种可预防胞质遗传基础狭窄带来的潜在风险。

## 作者贡献声明

郑名敏: 构思并撰写文章; 黄强, 张鹏, 刘孝伟, 赵卓凡, 易洪杨: 提出改进建议与论文修改; 荣廷昭, 曹墨菊: 指导撰写与论文修改。

## 参考文献

- 陈庆华 (1997). 玉米“辽2(L<sub>2</sub>)”型细胞质雄性不育性的选育与利用. 玉米科学 5(2), 1–4.
- 陈伟程, 段韶芬 (1988). 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 14, 177–181.
- 陈伟程, 罗福和, 季良越 (1979). 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 5(4), 21–28.
- 关淑仙 (2018). 玉米CMS-C不育系及保持系中亚化学计量基因的鉴定及分析. 硕士论文. 成都: 四川农业大学. pp. 28–57.
- 秦泰辰, 陈建国, 徐明良, 邓德祥, 卞云龙 (1994). 玉米雄性不育性研究VIII. 玉米Y<sub>II-1</sub>型不育胞质归群初报. 作物学报 20, 677–684.

- 汤继华, 胡彦民, 季洪强, 陈伟程, 季良越, 郑永凯 (2001a). 玉米C型CMS育性恢复基因R<sup>f</sup>的SSR标记. 河南农业大学学报 35, 1–3, 8.
- 汤继华, 季洪强, 黄中文, 季良越, 王承花 (2001b). 玉米C型胞质不育恢复基因R<sup>f</sup>的RFLP定位. 河南农业大学学报 35, 99–102.
- 汤继华, 刘宗华, 陈伟程, 胡彦民, 季洪强, 季良越 (2001c). 玉米C型胞质不育恢复主基因SSR标记. 中国农业科学 34, 592–596.
- 吴豪, 徐虹, 刘振兰, 刘耀光 (2007). 植物细胞质雄性不育及其育性恢复的分子基础. 植物学通报 24, 399–413.
- 燕振国, 曾孟潜 (1999). 玉米细胞质雄性不育新类型Bao I、Bao II的发现. 遗传 21(6), 37–39.
- 赵素贞, 谢惠玲, 吴风华, 牛俊海, 鲁晓民, 曲延英, 汤继华 (2007). 玉米C型胞质雄性不育恢复基因R<sup>f</sup>5的抑制基因的发现与鉴定. 玉米科学 15, 67–69.
- 郑用璁 (1982). 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 (1), 44–68.
- Allen JO, Fauron CM, Minx P, Roark L, Oddiraju S, Lin GN, Meyer L, Sun H, Kim K, Wang CY, Du FY, Xu D, Gibson M, Cifrese J, Clifton SW, Newton KJ (2007). Comparisons among two fertile and three male-sterile mitochondrial genomes of maize. *Genetics* 177, 1173–1192.
- Bateson W, Gairdner AE (1921). Male-sterility in flax, subject to two types of segregation. *J Genet* 11, 269–275.
- Beckett JB (1971). Classification of male-sterile cytoplasm in maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci* 11, 724–727.
- Chase CD (2007). Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial-nuclear interactions. *Trends Genet* 23, 81–90.
- Chen LT, Liu YG (2014). Male sterility and fertility restoration in crops. *Annu Rev Plant Biol* 65, 579–606.
- Cui XQ, Wise RP, Schnable PS (1996). The *rf2* nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. *Science* 272, 1334–1336.
- Dewey RE, Levings III CS, Timothy DH (1986). Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the Texas male-sterile cytoplasm. *Cell* 44, 439–449.
- Dewey RE, Siedow JN, Timothy DH, Levings III CS (1988). A 13-kilodalton maize mitochondrial protein in *E. coli* confers sensitivity to *Bipolaris maydis* toxin. *Science* 239, 293–295.
- Dewey RE, Timothy DH, Levings III CS (1987). A mito-

- chondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in the T cytoplasm of maize. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**, 5374–5378.
- Dewey RE, Timothy DH, Levings III CS** (1991). Chimeric mitochondrial genes expressed in the C male-sterile cytoplasm of maize. *Curr Genet* **20**, 475–482.
- Dill CL, Wise RP, Schnable PS** (1997). *Rf8* and *Rf\** mediate unique T-*urf13*-transcript accumulation, revealing a conserved motif associated with RNA processing and restoration of pollen fertility in T-cytoplasm maize. *Genetics* **147**, 1367–1379.
- Duvick DN, Snyder RJ, Anderson EG** (1961). The chromosomal location of *Rf<sub>1</sub>*, a restorer gene for cytoplasmic pollen sterile maize. *Genetics* **46**, 1245–1252.
- Feng Y, Zheng Q, Song H, Wang Y, Wang H, Jiang LJ, Yan JB, Zheng YL, Yue B** (2015). 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* **128**, 2341–2350.
- Gabay-Laughnan S, Chase CD, Ortega VM, Zhao LM** (2004). Molecular-genetic characterization of CMS-S restorer-of-fertility alleles identified in Mexican maize and teosinte. *Genetics* **166**, 959–970.
- Gabay-Laughnan S, Kuzmin EV, Monroe J, Roark L, Newton KJ** (2009). Characterization of a novel thermosensitive restorer of fertility for cytoplasmic male sterility in maize. *Genetics* **182**, 91–103.
- Gracen VE, Grogan CO** (1974). Diversity and suitability for hybrid production of different sources of cytoplasmic male sterility in maize. *Agron J* **66**, 654–657.
- Hu J, Huang WC, Huang Q, Qin XJ, Yu CC, Wang LL, Li SQ, Zhu RS, Zhu YG** (2014). Mitochondria and cytoplasmic male sterility in plants. *Mitochondrion* **19**, 282–288.
- Hu J, Wang K, Huang WC, Liu G, Gao Y, Wang JM, Huang Q, Ji YX, Qin XJ, Wan L, Zhu RS, Li SQ, Yang DC, Zhu YG** (2012). The rice pentatricopeptide repeat protein RF5 restores fertility in Hong-Lian cytoplasmic male-sterile lines via a complex with the glycine-rich protein GRP162. *Plant Cell* **24**, 109–122.
- Hu YM, Tang JH, Yang H, Xie HL, Lu XM, Niu JH, Chen WC** (2006). Identification and mapping of *Rf-I* an inhibitor of the *Rf5* restorer gene for CMS-C in maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet* **113**, 357–360.
- Jaqueth JS, Hou ZL, Zheng PZ, Ren RH, Nagel BA, Cutter G, Niu XM, Vollbrecht E, Greene TW, Kumpatla SP** (2020). Fertility restoration of maize CMS-C altered by a single amino acid substitution within the *Rf4* bHLH transcription factor. *Plant J* **101**, 101–111.
- Jaqueth JS, Li BL, Vollbrecht E** (2024). Pentatricopeptide repeat 153 (PPR153) restores maize C-type cytoplasmic male sterility in conjunction with RF4. *PLoS One* **19**, e03-03436.
- Kamps TL, Chase CD** (1997). RFLP mapping of the maize gametophytic restorer-of-fertility locus (*rf3*) and aberrant pollen transmission of the nonrestoring *rf3* allele. *Theor Appl Genet* **95**, 525–531.
- Kheyr-Pour A, Gracen VE** (1980). Genetics of CMS-C fertility restoration. *Maize Genet Coop News Lett* **54**, 57–59.
- Kheyr-Pour A, Gracen VE, Everett HL** (1981). Genetics of fertility restoration in the C-group of cytoplasmic male sterility in maize. *Genetics* **98**, 379–388.
- Kohls S, Stamp P, Knaak C, Messmer R** (2011). QTL involved in the partial restoration of male fertility of C-type cytoplasmic male sterility in maize. *Theor Appl Genet* **123**, 327–338.
- Korth KL, Levings III CS** (1993). Baculovirus expression of the maize mitochondrial protein URF13 confers insecticidal activity in cell cultures and larvae. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**, 3388–3392.
- Laughnan JR, Gabay SJ** (1978). Nuclear and cytoplasmic mutations to fertility in S male-sterile maize. In: Walden DB, ed. *Maize Breeding and Genetics*. New York: John Wiley & Sons Press. pp. 427–447.
- Laughnan JR, Gabay-Laughnan S** (1983). Cytoplasmic male sterility in maize. *Annu Rev Genet* **17**, 27–48.
- Lee SLJ, Earle ED, Gracen VE** (1980). The cytology of pollen abortion in S cytoplasmic male-sterile corn anthers. *Am J Bot* **67**, 237–245.
- Lee SLJ, Gracen VE, Earle ED** (1979). The cytology of pollen abortion in C-cytoplasmic male-sterile corn anthers. *Am J Bot* **66**, 656–667.
- Levings III CS** (1993). Thoughts on cytoplasmic male sterility in CMS-T maize. *Plant Cell* **5**, 1285–1290.
- Lin YN, Yang HL, Liu HM, Lu XY, Cao HF, Li B, Chang YY, Guo ZY, Ding D, Hu YM, Xue YD, Liu ZH, Tang JH** (2024). A P-type pentatricopeptide repeat protein ZmRF5 promotes 5' region partial cleavages of *atp6c* transcripts to restore the fertility of CMS-C maize by recruiting a splicing factor. *Plant Biotechnol J* **22**, 1269–1281.
- Liu F, Cui XQ, Horner HT, Weiner H, Schnable PS** (2001). Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. *Plant Cell* **13**, 1063–1078.
- Liu YM, Zhao ZF, Lu YL, Li C, Wang J, Dong BX, Liang B, Qiu T, Zeng WB, Cao MJ** (2016). A preliminary identifi-

- cation of *Rf\*-A619*, a novel restorer gene for CMS-C in maize (*Zea mays* L.). *PeerJ* **4**, e2719.
- Matera JT, Monroe J, Smelser W, Gabay-Laughnan S, Newton KJ** (2011). Unique changes in mitochondrial genomes associated with reversions of S-type cytoplasmic male sterility in maize mar. *PLoS One* **6**, e23405.
- Meyer LJ** (2009). Investigations Into the Cause of Pollen Abortion in Maize CMS-C. PhD dissertation. Columbia: University of Missouri. pp. 23–40.
- Nan GL, Zhai JX, Arikat S, Morrow D, Fernandes J, Mai L, Nguyen N, Meyers BC, Walbot V** (2017). MS23, a master basic helix-loop-helix factor, regulates the specification and development of the tapetum in maize. *Development* **144**, 163–172.
- Qin TC, Xu ML, Dun DX** (1990). Cytoplasmic male-sterility: identification of the number of the restorer genes. *Maize Genet Coop News Lett* **64**, 124.
- Qin XE, Tian SK, Zhang WL, Zheng Q, Wang H, Feng Y, Lin YN, Tang JH, Wang Y, Yan JB, Dai MQ, Zheng YL, Yue B** (2021). The main restorer *Rf3* of maize S type cytoplasmic male sterility encodes a PPR protein that functions in reduction of the transcripts of *orf355*. *Mol Plant* **14**, 1961–1964.
- Qin XE, Zhang WL, Dong X, Tian SK, Zhang PP, Zhao YX, Wang Y, Yan JB, Yue B** (2020). Identification of fertility-related genes for maize CMS-S via bulked segregant RNA-Seq. *PeerJ* **8**, e10015.
- Rhoades MM** (1931). Cytoplasmic inheritance of male sterility in *Zea mays*. *Science* **73**, 340–341.
- Sisco PH** (1991). Duplications complicate genetic mapping of *Rf4*, a restorer gene for CMS-C cytoplasmic male sterility in corn. *Crop Sci* **31**, 1263–1266.
- Snyder RJ, Duvick DN** (1969). Chromosomal location of *Rf<sub>2</sub>*, a restorer gene for cytoplasmic pollen sterile maize. *Crop Sci* **9**, 156–157.
- Stamp P, Chowchong S, Menzi M, Weingartner U, Kaeser O** (2000). Increase in the yield of cytoplasmic male sterile maize revisited. *Crop Sci* **40**, 1586–1587.
- Su AG, Song W, Xing JF, Zhao YX, Zhang RY, Li CH, Duan MX, Luo MJ, Shi Z, Zhao JR** (2016). Identification of genes potentially associated with the fertility instability of S-type cytoplasmic male sterility in maize via bulked segregant RNA-Seq. *PLoS One* **11**, e0163489.
- Tie SG, Xia JH, Qiu FZ, Zheng YL** (2006). Genome-wide analysis of maize cytoplasmic male sterility-S based on QTL mapping. *Plant Mol Biol Report* **24**, 71–80.
- Ullstrup AJ** (1972). The impacts of the southern corn leaf blight epidemics of 1970–1971. *Annu Rev Phytopathol* **10**, 37–50.
- Vidaković M, Vančetočić J, Vidaković M** (1997a). Complementary genes *Rf4*, *Rf5* and *Rf6* are not the unique genetic system for fertility restoration in CMS-C of maize (*Zea mays* L.). *Maize Genet Coop News Lett* **71**, 10.
- Vidaković M, Vančetočić J, Vidaković M** (1997b). The existence of a duplicated or parallel genetic system for fertility restoration in CMS-C of maize (*Zea mays* L.). *Maydica* **42**, 313–316.
- Weider C, Stamp P, Christov N, Hüsken A, Foueillassar X, Camp KH, Munsch M** (2009). Stability of cytoplasmic male sterility in maize under different environmental conditions. *Crop Sci* **49**, 77–84.
- Wen LY, Chase CD** (1999). Pleiotropic effects of a nuclear restorer-of-fertility locus on mitochondrial transcripts in male-fertile and S male-sterile maize. *Curr Genet* **35**, 521–526.
- Wise RP, Dill CL, Schnable PS** (1996). Mutator-induced mutations of the *rf1* nuclear fertility restorer of T-cytoplasm maize alter the accumulation of *T-urf13* mitochondrial transcripts. *Genetics* **143**, 1383–1394.
- Wise RP, Fliss AE, Pring DR, Gengenbach BG** (1987). *urf13-T* of T cytoplasm maize mitochondria encodes a 13 kDa polypeptide. *Plant Mol Biol* **9**, 121–126.
- Xiao HL, Zhang FD, Zheng YL** (2006). The 5' stem-loop and its role in mRNA stability in maize S cytoplasmic male sterility. *Plant J* **47**, 864–872.
- Xiao SL, Song W, Xing JF, Su AG, Zhao YX, Li CH, Shi Z, Li ZY, Wang S, Zhang RY, Pei YR, Chen HB, Zhao JR** (2023). *ORF355* confers enhanced salinity stress adaptability to S-type cytoplasmic male sterility maize by modulating the mitochondrial metabolic homeostasis. *J Integr Plant Biol* **65**, 656–673.
- Xiao SL, Xing JF, Nie TG, Su AG, Zhang RY, Zhao YX, Song W, Zhao JR** (2022). Comparative analysis of mitochondrial genomes of maize CMS-S subtypes provides new insights into male sterility stability. *BMC Plant Biol* **22**, 469.
- Xiao SL, Zang J, Pei YR, Liu J, Liu J, Song W, Shi Z, Su AG, Zhao JR, Chen HB** (2020). Activation of mitochondrial *orf355* gene expression by a nuclear-encoded DREB transcription factor causes cytoplasmic male sterility in maize. *Mol Plant* **13**, 1270–1283.
- Xu XB, Liu ZX, Zhang DF, Liu Y, Song WB, Li JS, Dai JR** (2009). Isolation and analysis of rice *Rf1*-orthologous PPR genes co-segregating with *Rf3* in maize. *Plant Mol Biol Report* **27**, 511–517.
- Yang HL, Xue YD, Li B, Lin YN, Li HC, Guo ZY, Li WH, Fu**

- ZY, Ding D, Tang JH (2022). The chimeric gene *atp6c* confers cytoplasmic male sterility in maize by impairing the assembly of the mitochondrial ATP synthase complex. *Mol Plant* **15**, 872–886.
- Zhang SQ, Zhang FD, Xiao HL, Zheng YL (2004). R region of S type of cytoplasmic male sterility in maize mitochondrial DNA is transcribed in both directions and may be associated with male sterility. *J Integr Plant Biol* **46**, 337–341.
- Zhang P, Zhao ZF, Zheng MM, Liu YM, Niu QK, Liu XW, Shi ZW, Yi HY, Yu T, Rong TZ, Cao MJ (2023). Fine mapping and candidate gene analysis of a novel fertility restorer gene for C-type cytoplasmic male sterility in maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet* **136**, 234.
- Zhang ZF, Wang Y, Zheng YL (2006). AFLP and PCR-based markers linked to *Rf3*, a fertility restorer gene for S cytoplasmic male sterility in maize. *Mol Genet Genomics* **276**, 162–169.
- Zheng MM, Yang T, Liu XW, Lü GH, Zhang P, Jiang B, Zhou SF, Lu YL, Lan H, Zhang SZ, Li C, Rong TZ, Cao MJ (2020). *qRf8-1*, a novel QTL for the fertility restoration of maize CMS-C identified by QTL-seq. *G3 (Bethesda)* **10**, 2457–2464.

## Research Progress on Cytoplasmic Male Sterility and Fertility Restoration in Maize

Mingmin Zheng<sup>1</sup>, Qiang Huang<sup>2</sup>, Peng Zhang<sup>3</sup>, Xiaowei Liu<sup>3</sup>, Zhuofan Zhao<sup>3</sup>  
Hongyang Yi<sup>3</sup>, Tingzhao Rong<sup>3</sup>, Moju Cao<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Sichuan Provincial Key Laboratory for Development and Utilization of Characteristic Horticultural Biological Resources, College of Chemistry and Life Sciences, Chengdu Normal University, Chengdu 611130, China; <sup>2</sup>Sichuan Institute of Atomic Energy, Chengdu 610101, China; <sup>3</sup>Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

**Abstract** Cytoplasmic male sterility (CMS) is a maternal genetic trait widely found in higher plants. CMS is not only a favorable material for studying the interaction between cytoplasmic and nuclear genomes, but also a crucial foundation for plant heterosis utilization. Maize is one of the most successful example for the utilization of heterosis in crops, and CMS has become a powerful tool for hybrid production to utilize heterosis in maize. Therefore, the molecular mechanism of CMS in maize has always been a research hotspot. In this paper, CMS related genes and fertility restorer genes discovered in the three major types of CMS in maize were summarized, and the problems that needed to be solved in CMS-related research and development prospects in the application of CMS in maize were discussed. This review provided theoretical reference for better understanding of the molecular mechanism of CMS in plant and the application of CMS system for hybrid seed production in the utilization of heterosis in maize.

**Key words** maize, cytoplasmic male sterility, CMS genes, fertility restoration

Zheng MM, Huang Q, Zhang P, Liu XW, Zhao ZF, Yi HY, Rong TZ, Cao MJ (2024). Research progress on cytoplasmic male sterility and fertility restoration in maize. *Chin Bull Bot* **59**, 999–1006.

\* Author for correspondence. E-mail: caomj@sicau.edu.cn

(责任编辑: 孙冬花)

### 通讯作者/团队简介

曹墨菊, 四川农业大学玉米研究所教授、博士生导师。四川省学术技术带头人, 四川省有突出贡献专家, 享受国务院政府特殊津贴。先后主持国家自然科学基金面上项目2项, 国家“十一五”科技支撑计划课题1项, 国家“十三五”重点研发计划课题1项, 四川省科技计划项目6项。主要从事玉米雄性不育及诱变育种相关研究。在 *The Crop Journal*、*Theoretical and Applied Genetics*、*Journal of Genetics and Genomics*、*Plant Cell Reports* 和作物学报等期刊发表论文92篇, 授权发明专利6项, 获国家技术发明奖二等奖1项, 四川省科技进步奖4项。