

彭国清, 刘明龙, 周海, 等. 水稻环境敏感雄性不育研究现状与挑战 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(6): 60-68.
PENG Guoqing, LIU Minglong, ZHOU Hai, et al. Research progress and challenge of environment-sensitive genic male sterility in rice[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(6): 60-68.

特约综述

水稻环境敏感雄性不育研究现状与挑战

彭国清, 刘明龙, 周海, 庄楚雄

(华南农业大学 生命科学院/岭南现代农业科学与技术广东省实验室/亚热带农业生物资源保护与
利用国家重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 以环境敏感雄性不育为核心的两系杂交水稻对于保障我国粮食安全具有重要作用。目前, 在水稻中发现了几十个环境敏感雄性不育基因, 已对其中一部分基因进行克隆, 并对其调控机制进行了详细的研究。本文综述了水稻环境敏感雄性不育的应用和发展, 以及 RNA 代谢、信号转导、转录调控、花粉壁合成和氨基酸代谢等过程调节水稻环境敏感雄性不育的分子机理, 最后对水稻环境敏感雄性不育研究存在的挑战进行分析, 并提出了相应的对策。

关键词: 杂交水稻; 环境敏感雄性不育; 光敏; 温敏; 湿敏

中图分类号: S511; S330

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2022)06-0060-09

Research progress and challenge of environment-sensitive genic male sterility in rice

PENG Guoqing, LIU Minglong, ZHOU Hai, ZHUANG Chuxiong

(College of Life Sciences, South China Agricultural University/Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture/State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Two-line hybrid rice based on environment-sensitive genic male sterility plays an important role in ensuring food security in our country. At present, dozens of environment-sensitive male sterility genes have been found in rice, and some of them have been cloned and their regulatory mechanisms have been studied in detail. In this paper, we reviewed the application and molecular mechanisms of RNA metabolism, signal transduction, transcriptional regulation, pollen wall synthesis and amino acid metabolism of environment-sensitive genic male sterility in rice. Finally, challenges and corresponding countermeasures of environment-sensitive genic male sterility research in rice are also analyzed and proposed.

Key words: Hybrid rice; Environment-sensitive genic male sterility; Photoperiod-sensitivity; Thermo-sensitivity; Humidity-sensitivity

收稿日期: 2022-07-11 网络首发时间: 2022-09-22 20:10:46

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20220921.1440.010.html>

作者简介: 彭国清, 博士, 主要从事水稻光温敏雄性不育基因克隆和分子机制研究, E-mail: pengguoqing20@163.com; 通信

作者: 周海, 研究员, 博士, 主要从事水稻光温敏雄性不育和开花调控研究, E-mail: haizhou@scau.edu.cn;

庄楚雄, 研究员, 博士, 主要从事水稻光合作用和育性发育研究, E-mail: zhuangcx@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (32101775); 中国博士后科学基金 (2021M691086)

1 水稻环境敏感雄性不育的研究背景

1.1 杂交水稻发展与应用

水稻是世界至少一半人口依赖的粮食, 随着人口的不断增长和可耕地面积的不断减少, 需要不断提高单位面积粮食产量以保障粮食安全^[1]。杂种优势是杂种 F₁ 代在多种性状 (包括产量、适应性、抗性和品质等) 上超过双亲的现象, 在动植物中普遍存在^[2-4]。杂交作物的产量往往比常规自交繁殖的产量高 10%~20%, 故杂交玉米、水稻、小麦和油菜等被广泛推广种植, 成为提高作物产量的重要手段^[5]。但是由于许多农作物是两性花, 能够自花授粉, 杂交制种时需要人工去雄, 导致杂交制种效率低和成本高, 其应用受到很大程度的限制; 所以找到合适的雄性不育系, 而且又能通过某种途径恢复其育性是关键。在 20 世纪 70 年代初, 中国育种家发现野败型细胞质不育水稻, 并很快育成了由不育系、保持系和恢复系组成的三系杂交水稻 (第 1 代杂交水稻), 首次实现了杂交水稻的大规模应用, 在中国、越南、印度尼西亚、菲律宾和美国等国家得到了广泛的推广, 为保障人类粮食安全做出了重要贡献^[6]。

随后, 在 20 世纪 70 年代, 中国科学家发现了水稻环境敏感雄性不育, 并首创了以环境敏感雄性不育系和恢复系为核心的两系杂交水稻 (第 2 代杂交水稻), 进一步推动了杂交水稻育种技术的发展^[6-8]。相对于三系法水稻, 两系法杂交水稻具有许多优势。首先, 不像三系法受到严格的恢保关系限制, 两系法不需要特殊的恢复基因, 几乎所有正常品种都可作为恢复系, 配组自由, 选到优良组合的几率大大高于三系法, 更加利于杂种优势的利用, 在提高杂交稻组合的产量、米质、抗性等方面存在更大潜在优势; 其次, 育种程序简化, 周期缩短和成本降低^[6, 9-10]。基于上述明显优势, 两系杂交稻得到了迅速的发展。目前, 多数的超级杂交稻组合都属于两系法杂交稻, 两系杂交稻种植面积占总杂交水稻面积的一半以上^[11]。

1.2 水稻环境敏感雄性不育的类型与基因克隆

植物的雄配子发育受到细胞质和细胞核遗传物质的精密调控, 而且在生殖阶段最容易受到外界条件如光照、温度和湿度等因素的影响。植物在生理存活条件下, 雄配子的发育易受到环境条件的影响而导致雄性不育称之为环境敏感雄性不育 (Environment-sensitive genic male sterility, EGMS)。EGMS 主要包括光敏雄性不育 (Photoperiod-sensitive genic male sterility, PGMS)、温敏雄性不育 (Thermo-sensitive genic male sterility, TGMS)、湿敏

雄性不育 (Humidity-sensitive genic male sterility, HGMS) 和氮敏感雄性不育 (Nitrogen-sensitive genic male sterility, NGMS)。一般来讲, 光敏雄性不育是指大于临界光照时间表现为雄性不育, 小于临界光照时间则表现为雄性可育, 反之称为反光敏雄性不育 (Reverse PGMS, rPGMS)。同理, 温敏雄性不育是指高于临界温度表现为雄性不育, 低于临界温度则表现为雄性可育, 反之则称为反温敏雄性不育 (Reverse TGMS, rTGMS)。湿敏雄性不育指在低湿条件下表现为雄性不育, 而在高湿条件下表现为雄性可育。氮敏感雄性不育在缺氮条件下表现为雄性不育, 而高氮条件下为雄性可育。环境敏感雄性不育的育性对环境条件特别敏感, 通过对其不育机理的研究, 有助于理解生殖阶段的植物如何感应环境因子变化^[12]。总之, 对植物环境敏感型不育的调控机理进行研究, 不仅有利于提高其在两系杂交育种中的利用水平, 也利于理解植物如何感应环境变化, 具有重要的理论和应用价值。

我国育种学家石明松于 1973 年首次发现的光敏雄性不育系 ‘农垦 58S’ (NK58S), 在日照长度大于 14 h 时表现为雄性不育, 而日照长度小于 13.7 h 则育性恢复。根据此特点, 在 1981 年首次提出了 “长日杂交制种, 短日自交繁种” 的思路^[7, 13]。随后, 邓华凤等^[14]于 1988 年发现了水稻温敏雄性不育系 ‘安农 S-1’ (AnS-1), 表现为高温雄性不育, 低温雄性可育。基于光/温敏基因能够调控雄性育性的转化特性, 逐渐形成了以光/温敏感雄性不育为主的环境敏感核雄性不育为基础的两系杂交水稻育种技术, 是继三系法杂交水稻成功以后又一个水稻杂种优势利用的有效途径, 开启了两系杂交水稻育种时代。

2 水稻环境敏感雄性不育的分子调控机理

目前, 在水稻中发现了几十个环境敏感雄性不育基因, 但是只克隆了 13 个 (表 1), 大部分未被克隆 (表 2)。对它们的分子调控机理进行研究发现, 它们涉及了转录调节、RNA 代谢、氨基酸代谢、信号转导和花粉壁合成等过程。

2.1 转录调节过程

在水稻中, 发现了 2 个 MYB 转录因子调节光敏雄性不育和 1 个 PHD 转录因子调节温敏雄性不育。突变体 *csa* (Carbon starved anther) 为反光敏雄性不育, 在短日照条件下雄性不育, 在长日照下雄性可育^[19]; 而 *CSA* 的同源基因 *CSA2* 突变后则表现为光敏雄性不育, 在长日照表现为半不育, 而短日

表 1 已经克隆的水稻环境敏感型雄性不育基因

Table 1 The cloned environment-sensitive genic male sterility genes in rice

基因名称 Gene name	基因号 Gene ID	编码产物 Transcript product	生物学过程 Biological process	类型 Type	文献 Reference
<i>ugp1</i>	Os09g0553200	UDP葡萄糖焦磷酸化酶	RNA代谢	温敏雄性不育	[15]
<i>tms5</i>	Os02g0214300	核糖核酸酶Z ^{Sl}	RNA代谢	温敏雄性不育	[16]
<i>tms10</i>	Os02g0283800	LRR-RLK	信号转导	温敏雄性不育	[17]
<i>tms9-1</i>	Os09g0449000	PHD转录因子	转录调节	温敏雄性不育	[18]
<i>csa</i>	Os01g0274800	MYB转录因子	转录调节	反光敏雄性不育	[19]
<i>csa2</i>	Os05g0490600	MYB转录因子	转录调节	反光敏雄性不育	[20]
<i>pms1</i>	AK242308	长链非编码RNA	RNA代谢	光敏雄性不育	[21]
<i>p/tms12-1(pms3)</i>	Os12g0545900	长链非编码RNA	RNA代谢	光敏雄性不育	[22-23]
<i>ostms18</i>	Os10g0524500	葡萄糖-甲醇-胆碱 (GMC) 氧化还原酶	花粉壁合成	温敏雄性不育	[24]
<i>hms1</i>	Os03g0220100	3-酮脂酰辅酶A合酶6	花粉壁合成	湿敏雄性不育	[11]
<i>hmsi</i>	Os01g0150000	3-酮脂酰辅酶A合酶6互作蛋白	花粉壁合成	湿敏雄性不育	[11]
<i>ososc12/ospts1</i>	Os08g0223900	双环三萜合酶	花粉壁合成	湿敏雄性不育	[25]
<i>oscer1/osgl1-4</i>	Os02g0621300	酰基辅酶A合成酶	花粉壁合成	湿敏雄性不育	[26]
<i>etfβ</i>	Os04g0182800	电子传输黄素蛋白β亚基	氨基酸代谢	氮敏雄性不育	[27]

表 2 水稻中未克隆的环境敏感型雄性不育基因

Table 2 The un-cloned environment-sensitive genic male sterility genes in rice

基因名称 Gene name	定位的染色体 Located chromosome	类型 Type	来源 Source	文献 Reference
<i>PMS2</i>	Chr. 3	光敏雄性不育	农垦58S	[13]
<i>PMS4</i>	Chr. 4	光敏雄性不育	绵9S	[28]
<i>RPMS1</i>	Chr. 10	反光敏雄性不育	Yi DS	[29]
<i>RPMS2</i>	Chr. 9	反光敏雄性不育	Yi DS	[30]
<i>RTMS1</i>	Chr. 10	反光敏雄性不育	J207S	[31]
<i>RTMS10</i>	Chr. 10	反光敏雄性不育	烟农S	[32]
<i>S32</i>	未知	反光敏雄性不育	华粳粳74	[33]
<i>TGMS</i>	Chr. 9	温敏雄性不育	SA2	[34]
<i>TMS1</i>	Chr. 8	温敏雄性不育	5460S	[35]
<i>TMS2</i>	Chr. 7	温敏雄性不育	Norin PL12	[36]
<i>TMS3(t)</i>	Chr. 6	温敏雄性不育	IR32364TGMS	[37]
<i>TMS4(t)</i>	Chr. 2	温敏雄性不育	TGMS-VN1	[38]
<i>TMS6</i>	Chr. 5、9	温敏雄性不育	Sokcho-MS	[39]
<i>TMS6(t)</i>	Chr. 10	反温敏雄性不育	G20S	[40]
<i>TMS7</i>	Chr. 9	温敏雄性不育	Tb2s	[41]
<i>TMS8</i>	Chr. 11	温敏雄性不育	F61	[42]
<i>TMS9-1</i>	Chr. 9	温敏雄性不育	衡农S-1	[18]

照表现为完全可育^[20]。*CSA* 编码 R2R3 MYB 转录因子, 调控单糖转运体基因 *OsMST8* 表达^[43]; *CSA2* 也同样编码 R2R3 MYB 转录因子, 但是并不直接调控 *OsMST8*, 可能调控其他糖类转运基因^[20]。在短日照条件下, *CSA* 突变后导致 *OsMST8* 转录下调, 不能将糖从剑叶运输到花药而导致雄性不育^[19]; 同样, 在长日照条件下, *csa2* 突变体不能将糖从剑

叶运输到花药而导致雄性半不育^[20]。这些结果表明, *CSA* 和 *CSA2* 既有通过调节糖转运基因响应光周期影响花粉发育的共同特点, 也存在不同的表达模式和靶基因的功能分化。它们调控的下游底物及相互关系仍需进一步研究。

水稻温敏不育系 ‘衡农 S-1’ 的不育基因 *tms9-1* 的候选基因编码 1 个 PHD-finger 转录因子,

该基因为拟南芥 *MSI* 的同源基因^[18]。*tms9-1* 的 1 个碱基 T 到 C 的置换导致氨基酸从 L 变成了 P, 命名为 OsMSI^{wenmin1}。OsMSI^{wenmin1} 受到温度的调控, 并且温度依赖与 TDR 转录因子互作调控 *EAT1* 的表达, 从而调控水稻温敏雄性不育^[44]。

2.2 RNA 代谢过程

在水稻中发现了一些非编码 RNA 调节光温敏雄性不育和 RNA 加工过程调节温敏雄性不育。NK58S 是第 1 个在水稻中发现的光敏雄性不育系, 其遗传机理较为复杂, NK58S 的花粉育性主要受光照调控, 而将不育基因转到籼稻品种 ‘培矮 64S’ (PA64S) 中, 其育性却主要受温度调控^[23]。实际上, NK58S 也受温度影响, 光温之间有互补效应, 更高的温度能够缩短育性转换成不育所需的光照时间, 而更低温度则延长育性转化成不育所需的光照时间^[45]。NK58S 的光温敏不育特性至少由 3 个基因 (*pms1*、*pms2* 和 *pms3*) 调控^[12, 46-47], 经过多代科学家 30 多年的努力, 张启发院士团队和庄楚雄教授团队同时独立克隆了 NK58S 的 *pms3* 和 PA64S 的 *p/tms12-1*, 发现 *p/tms12-1* 与 *pms3* 是同 1 个基因^[12, 23]。张启发院士团队利用 NK58S 进行精细定位发现 NK58S 的 *pms3* 座位产生了 C 到 G 的 1 个 SNP 变异, 位于 1 个长链非编码 RNA(Long noncoding RNA, lncRNA) 中, 并将这个 lncRNA 命名为 *LDMAR*(Long-day-specific male-fertility-associated RNA)^[22](图 1A)。较高的 *LDMAR* 表达量是维持长

日照条件下花粉正常发育必需的, 而 C 到 G 的 SNP 改变了 *LDMAR* 二级结构, 提高了 *LDMAR* 启动子的甲基化程度, 减少了 *LDMAR* 的表达量, 导致 NK58S 在长日照条件下花粉败育^[22]。我们认为 *p/tms12-1* 编码的 lncRNA 被加工成一系列的 21-nt 的 phasiRNA(Phased small interfering RNAs), 其中 phasiRNA osa-smR5864 的第 11 个碱基由 C 突变成 G 可能会弱化其功能或产生新的功能, 从而导致粳稻的光敏雄性不育和籼稻的温敏雄性不育^[23](图 1A)。

除了 *pms3* 基因外, 光敏雄性不育基因 *pms1* 也相继被克隆, 该基因发生了 1 个 G 到 A 的单碱基突变, 与 *pms3* 相似, 是 1 个编码 lncRNA *PMSIT* 的半显性基因。lncRNA *PMSIT* 能够被 22-nt 的 miR2118 靶向, 触发 21-nt phasiRNA 生物合成(图 1B)。small RNA 测序表明, 有 18 对 21-nt 的 phasiRNAs 来源于 *PMSIT* 转录本。长日照条件下, NK58S 花粉母细胞中 21-nt *PMSIT*-phasiRNAs 的表达量高于短日照条件下的, 也高于长日照和短日照条件下重组自交系近等基因系群体的。这可能是由于在 NK58S 中, *PMSIT* 从 G 到 A 的改变导致编码的 lncRNA 二级结构发生改变, 在长日照条件下能够被 miR2118 更加有效地切割, 产生更多的 21-nt phasiRNAs, 进而靶向下游的雄性不育基因^[21](图 1B)。虽然光温敏不育基因 *pms1* 和 *pms3*(*p/tms12-1*) 已经被克隆, 然而 *pms2* 尚未被克隆, 而且它们如何调控靶基因影响花粉母细胞和绒毡层发育, 以及它们之间是否存

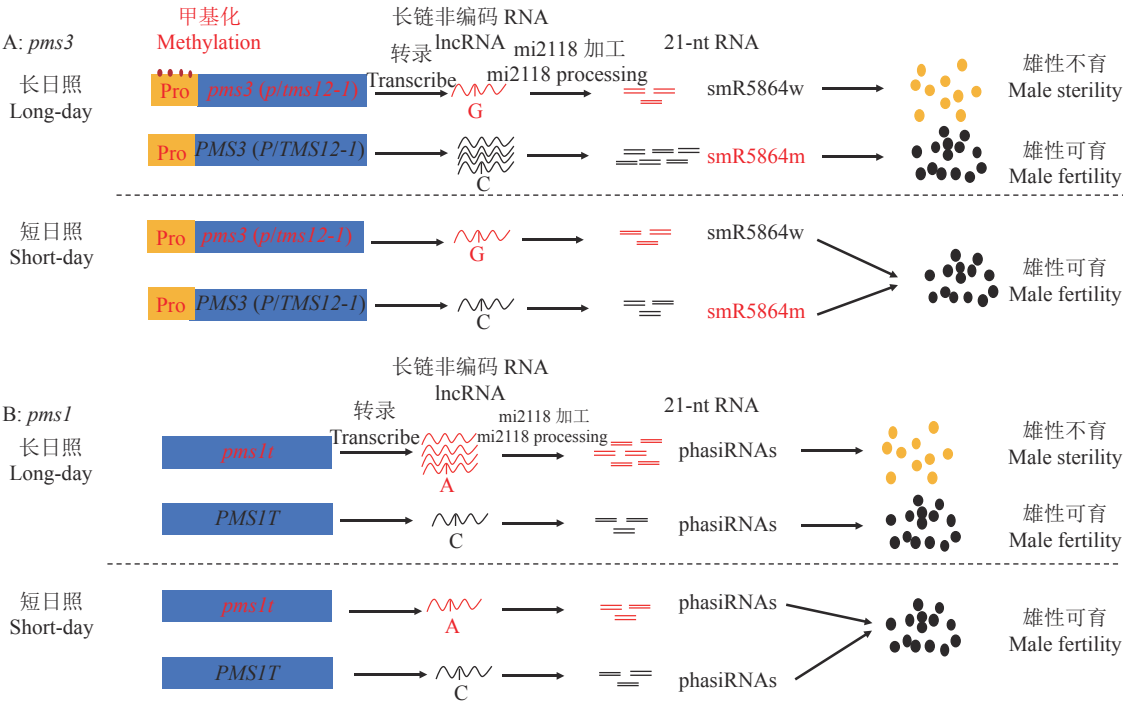


图 1 非编码 RNA 调控水稻光敏雄性不育示意图

Fig. 1 Schematic of non-coding RNA regulating environment-sensitive genic male sterility in rice

在相互调控尚未清楚。

庄楚雄教授团队和曹晓风院士团队合作利用 AnS-1 和 ‘株 1S’ 克隆了两系杂交水稻中运用最为广泛的温敏核雄性不育基因 *tms5*^[16]。AnS-1 是最早发现的籼型温敏不育系，在低温 (<24 °C) 下表现为雄性可育，高温 (>26 °C) 表现为雄性败育，其温敏特性由单个隐性基因 *tms5* 控制，该基因编码区第 71 位碱基由 C 突变成 A，导致翻译提前终止^[6](图 2)。TMS5 基因编码 1 个 RNase Z^{S1} 酶，对受高温诱导表达的泛素-核糖体 L40 家族 (*Ub_{L40}*)mRNA 具有直接而特异的切割活性，而且 RNase Z^{S1} 切割 *Ub_{L40}* mRNA 依赖于底物的三叶草结构^[16, 48]。*Ub_{L40}* mRNA 表达受温度诱导，高温条件下，AnS-1 由于 TMS5 功能缺失而不能及时切割降解 *Ub_{L40}* mRNA，导致 *Ub_{L40}* mRNA 过度积累，引发花粉母细胞液泡化，最终导致花粉败育 (图 2)。在野生型

水稻 ‘安农’ (AN) 中，受温度诱导的 *Ub_{L40}* mRNA 能够被 TMS5 及时降解而维持花粉正常发育。在低温条件下，AnS-1 和 AN 的 *Ub_{L40}* mRNA 表达量较低且相当，因此无论是否存在有功能的 TMS5，其花粉育性均正常^[16](图 2)。通过免疫共沉淀 (Co-IP)/质谱鉴定，我们发现 7 个已知的控制花粉发育的蛋白可能被泛素化^[49]，暗示 *Ub_{L40}* 可能影响花粉发育过程中的泛素平衡。同时翻译组学表明，花粉发育过程的绒毡层细胞程序性死亡和脂质代谢存在转录和翻译水平的差异，进而影响温敏不育系的花粉发育过程^[50]。这说明 TMS5 可能通过转录、翻译和翻译后多个水平调控水稻温敏雄性不育。此外，利用 CSRISPR/Cas9 技术将水稻或玉米的 TMS5(*ZmTMS5*) 敲除，都能获得相应的温敏雄性不育系，这说明 TMS5 在禾本科植物中可能具有保守的功能^[51-52]。

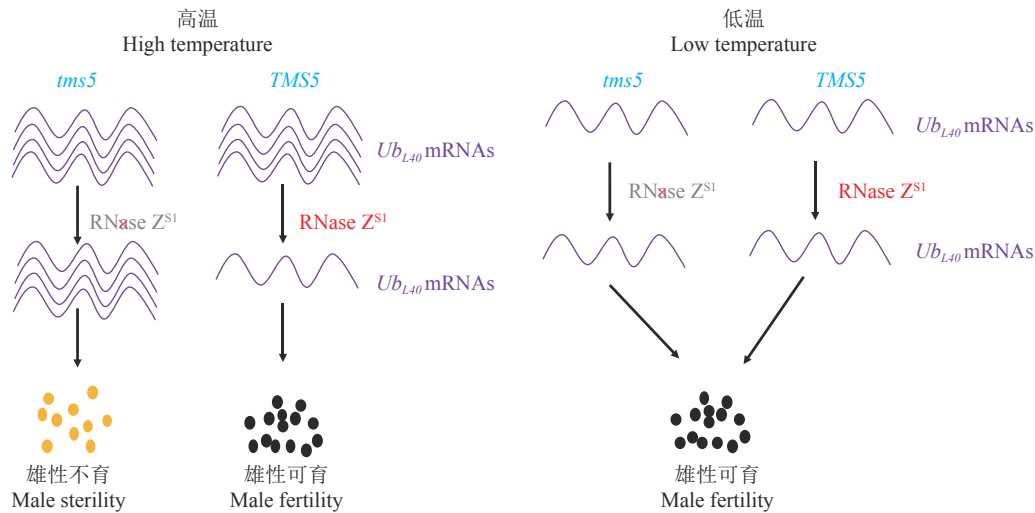


图 2 *tms5* 调控水稻温敏雄性不育

Fig. 2 *tms5* regulates thermo-sensitive genic male sterility in rice

在水稻中过表达尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 1 基因 (*UDP-glucose pyrophosphorylase 1*, *Ugp1*) 得到 1 个 *Ugp1* 共抑制突变体，表现为温敏雄性不育：在低温 (21 °C) 下表现为雄性可育，而高温 (28 °C) 下为雄性不育^[15]。在高温条件下，在减数分裂早期，该突变体花粉母细胞开始降解，而绒毡层和中层降解受到抑制。*Ugp1* 的过量表达由玉米 *Ubi1* 启动子驱动，该启动子包含了 *Ubi1* 的第 1 个外显子和第 1 个内含子。高温下，过表达 *Ugp1* 的转录本中上述内含子不能被准确切除，导致共抑制；低温下，部分转录本中的上述内含子可以被准确剪切，导致有少量的蛋白质被翻译，育性部分恢复^[15]。

2.3 信号转导过程

编码富含亮氨酸重复受体样激酶 (Leucine-rich

repeat receptor-like kinase, LRR-RLK) 基因 *TMS10* 在水稻突变后表现为温敏雄性不育，在高温 (25~32 °C) 下表现为雄性不育，在低温条件 (22~24 °C) 下为雄性可育^[17]。其同源基因 *TMS10L* 突变在高温和低温育性均正常，但是 *tms10tms10l* 双突变无论在高温还是低温下均为雄性不育，这说明两者存在功能冗余。而且，*TMS10L* 的表达量在低温下是高温的 3~5 倍，说明它在低温中是十分重要的，能够互补 *TMS10* 的功能，从而恢复 *tms10* 突变体在低温下的花粉育性^[17]。

2.4 花粉壁合成过程

植物花粉壁的合成受到一系列精细的调控，对于维持花粉活性、雌雄配子识别和花粉管萌发等过程具有重要意义。*OsTMS18* 编码葡萄糖-甲

醇-胆碱 (GMC) 氧化还原酶, 直接受 *OsMSI88* 调控, 合成孢粉素以形成花粉壁^[24]。*OsTMS18* 的 Gly 到 Ser 的点突变表现出温敏雄性不育表型。然而在水稻中敲除 *OsTMS18* 使其功能丧失则导致低温和高湿下都完全雄性不育, 但在拟南芥中敲除其同源基因 *OsTMS18* 则是温敏雄性不育表型, 这表明 *OsTMS18* 在水稻和拟南芥中的功能具有一定的保守性, 但是其雄性育性也受遗传背景的调控^[24]。

高等植物受精过程需要花粉粒吸附在柱头并产生水合作用, 进而花粉管萌发将精子送至胚囊中, 与卵子和中央细胞结合完成受精过程。目前在水稻中发现了许多湿敏雄性不育基因, 如 *OXIDOSQUALENE CYCLASES*(*OsOSC12/OsPTS1*)、*HUMIDITY-SENSITIVE GENIC MALE STERILITY 1* (*HMS1*)、*HMS1-INTERACTING PROTEIN*(*HMS1I*) 和 *OsCER1/OsGL1-4*^[11, 25-26, 53]。这些基因缺失导致湿敏雄性不育表型, 即高湿表现为雄性不育而低湿条件育性恢复。*OsOSC12* 编码氧化鲨烯环化酶, 能够将氧化鲨烯催化成禾谷绒毡醇, 主要在花粉发育

后期特异性表达, 该基因的突变导致特长链脂肪酸 (Very-long-chain fatty acids, VLCFAs) 合成受限, 花粉外壁缺陷, 在低湿时容易缺水而雄性不育, 高湿不易缺水而雄性可育^[25](图 3)。我们克隆了水稻湿敏雄性不育基因 *HMS1*, 其编码 β -酮脂酰辅酶 A 合成酶 (β -ketoacyl-CoA synthase), 在内质网中与 *HMS1I* 相互作用催化特长链脂肪酸的合成, 合成产物随后被 *OsCER1/OsGL1-4* 催化形成特长链烷烃^[11, 26]。这些特长链脂肪酸和烷烃的缺少都会影响花粉外被的形成; 在低湿条件下, 缺陷的花粉壁导致花粉保水能力降低, 以极快的速度皱缩, 失去活性, 进而影响花粉在柱头上的附着、水合和萌发, 导致湿敏不育系不能正常结实; 而高湿可以恢复湿敏不育系的大部分育性^[11](图 3)。此外, *HMS1*、*HMS1I* 和 *OsCER1/OsGL1-4* 在拟南芥中的同源基因突变后也导致拟南芥湿敏不育, 这说明湿敏不育在单子叶和双子叶植物中具有保守性。湿度敏感基因通过特长链脂肪酸的合成影响花粉壁的形成, 进而影响花粉的保水能力, 从而导致湿度敏感雄性不育。

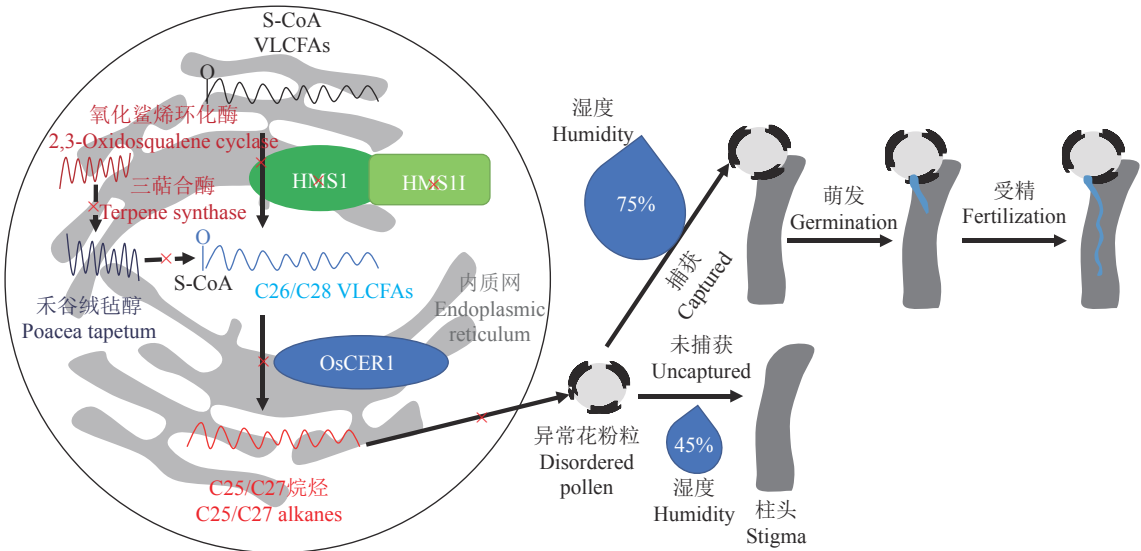


图 3 水稻湿敏雄性不育调控机理

Fig. 3 Mechanism of humidity-sensitive genic male sterility in rice

2.5 氨基酸代谢过程

最近在水稻中发现了 1 种新型氮素依赖的环境敏感雄性不育。*ETFβ* 编码 1 个线粒体定位的电子转运黄素蛋白 β 亚基, 参与支链氨基酸的代谢。*ETFβ* 结合电子并将电子转运给下游的辅酶 Q 氧化还原酶 *ETFQO*, 推动氧化磷酸化, 参与机体供能。*etfβ* 突变体中, 减数分裂表现出明显的氮素依赖, 低氮下减数分裂异常, 而高氮下可以恢复育性^[27]。

3 水稻环境敏感雄性不育在生产应用中存在的挑战与展望

3.1 环境敏感雄性不育的种质资源较为单一

目前虽然发现和克隆了许多环境敏感雄性不育基因, 但是大部分依然未被克隆, 在生产上应用的环境敏感雄性不育基因还比较少。在中国水稻两系杂交育种中, 目前 95% 以上不育系利用的是温敏不育基因 *tms5*, 不利于发挥两系杂交水稻育种的潜

力。为了解决这个问题,首先,要尽可能克隆更多的环境敏感雄性不育基因,研究清楚其调控机理,以便更好地应用于育种。其次,已知许多环境敏感雄性不育基因在不同物种中保守,可以将环境敏感雄性不育基因应用于其他作物当中。例如,在水稻中应用最为广泛的温敏雄性不育基因 *TMS5*,可以利用近年发展的 CRISPR/Cas9 基因编辑技术在玉米中敲除 *TMS5* 同源基因,导致玉米也具有温敏不育表型^[51],同时使育种时间大大缩短,提高了育种效率^[52]。利用基因编辑技术编辑不同物种间保守的环境敏感雄性不育基因不仅可快速获得环境敏感雄性不育系,而且还扩大了物种间环境敏感雄性不育基因种质资源,大大提高其他农作物的杂交育种潜力。

3.2 光敏雄性不育的遗传特性不稳定

两系杂交水稻最开始是利用来自 NK58S 的光温敏不育基因,但是其光温敏不育特性不稳定,繁殖多代后育性逐渐升高导致最后不能应用于杂交育种,大大限制了其利用^[54]。因此后来两系杂交水稻逐渐利用遗传特性单一且稳定的温敏不育基因 *tms5*^[52]。从育种安全性来说,在杂交育种中使用光敏不育系是最为安全的,因为在自然条件下光周期比温度、湿度等其他环境因素更稳定。但是目前发现的光敏不育系的育性不仅仅只受光周期控制,还受到温度的影响^[21]。此外,光敏不育基因在不同的遗传背景下可能会出现温敏不育表型。例如,主要受光周期调控的光敏不育系 NK58S,将其光敏基因导入籼稻品种 PA64S 后,其不育性状却主要受温度的调控^[23]。同样,光敏基因 *csa* 在粳稻 ‘9522’ 背景中表现为反光敏不育,但是在粳稻 ‘空育 131’ 背景中同时表现为反光敏和温敏特性^[19, 55]。这种在不同遗传背景表现出不同的光温敏特性的现象说明,环境敏感雄性不育特性除了受环境敏感雄性不育基因调控外,还受到其他基因的修饰作用。今后,如果能发现纯粹的光敏不育基因,可以提高两系杂交制种的安全性。

3.3 温敏不育系的不育起点温度较高影响制种安全

不育起点温度 (Critical sterility-inducing temperature) 指温敏不育系从可育转变为完全败育的临界温度,是杂交制种安全的关键。相同的温敏基因在不同的品种背景中存在不同的不育起点温度,具有较高的不育起点温度会大大影响温敏不育系的制种安全,限制两系杂交育种方法的应用范围^[52]。例如,水稻温敏不育系的不育起点温度偏高时,在夏季杂交制种时偶遇低温天气,温度低于不育系的

不育起点温度时则会自交结实,导致制种不纯或者失败。据报道由于环境温度的波动导致两系法育种失败时有发生,多次直接经济损失超亿元,间接损失更是无法估计^[56]。所以获得稳定遗传、不育起点温度较低的温敏不育系提高制种安全性,成为发展两系杂交水稻的重要任务^[57]。水稻温敏不育系理想的不育起点温度为 21~24 °C,不育起点温度过低也不利于自身繁种^[56, 58]。然而许多水稻温敏不育系 (特别是粳稻背景) 具有较高的不育起点温度,大大影响制种安全甚至不能应用于生产^[52]。温敏不育的不育起点温度受到多个微效基因的调控,所以微效不育基因的杂合性可能是引起不育系不育起点温度漂变的主要原因^[59]。光温敏核不育系核心种子生产的过程也是微效不育基因纯合的过程,一旦微效不育基因全部纯合,不育起点温度将不再漂变^[60-61]。但是目前鲜见关于不育起点温度基因克隆和分子机理研究的报道,其中的调控机理尚不清楚,所以未来需要在这方面进行深入研究,解决不育起点温度高和不稳定问题。

参考文献:

[1] 袁隆平. 发展超级杂交水稻保障国家粮食安全[J]. 杂交水稻, 2015, 30(3): 1-2.

[2] 刘杰, 黄学辉. 作物杂种优势研究现状与展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(10): 1396-1404.

[3] 商连光, 高振宇, 钱前. 作物杂种优势遗传基础的研究进展[J]. 植物学报, 2017, 52(1): 10-18.

[4] 韩亚丽, 林春晶, 赵丽梅, 等. 作物杂种优势预测研究进展[J]. 东北农业科学, 2020, 45(3): 30-34.

[5] LONGIN C F H, MÜHLEISEN J, MAURER H P, et al. Hybrid breeding in autogamous cereals[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(6): 1087-1096.

[6] 袁隆平. 杂交水稻发展的战略[J]. 杂交水稻, 2018, 33(3): 1-2.

[7] 石明松. 晚粳自然两用系选育及应用初报[J]. 湖北农业科学, 1981, 7: 1-3.

[8] 牟同敏. 中国两系法杂交水稻研究进展和展望[J]. 科学通报, 2016, 61(35): 3761-3769.

[9] 张志刚, 颜育民, 王桂元, 等. 水稻光温敏核不育系双 8S 的选育与应用[J]. 杂交水稻, 2013, 28(3): 6-9.

[10] 刘金波, 徐大勇, 潘启民, 等. 水稻光温敏核质互作型不育系的选育[J]. 中国稻米, 2011, 17(1): 13-16.

[11] CHEN H, ZHANG Z, NI E, et al. HMS1 interacts with HMS11 to regulate very-long-chain fatty acid biosynthesis and the humidity-sensitive genic male sterility in rice (*Oryza sativa*)[J]. *New Phytologist*, 2020, 225(5): 2077-2093.

[12] DING J, LU Q, OUYANG Y, et al. A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*

- America, 2012, 109(7): 2654-2659.
- [13] 石明松. 对光照长度敏感的隐性雄性不育水稻的发现与初步研究[J]. 中国农业科学, 1995, 2: 44-48.
 - [14] 邓华凤, 舒福北, 袁定阳. 安农 S-1 的研究及其利用概况[J]. 杂交水稻, 1999, 14(3): 1-3.
 - [15] CHEN R, ZHAO X, SHAO Z, et al. Rice *UDP-glucose pyrophosphorylase1* is essential for pollen callose deposition and its cosuppression results in a new type of thermosensitive genic male sterility[J]. *Plant Cell*, 2007, 19(3): 847-861.
 - [16] ZHOU H, ZHOU M, YANG Y, et al. RNase Z^{SI} processes *Ubl40* mRNAs and controls thermosensitive genic male sterility in rice[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 4884. doi: 10.1038/ncomms5884.
 - [17] YU J, HAN J, KIM Y J, et al. Two rice receptor-like kinases maintain male fertility under changing temperatures[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(46): 12327-12332.
 - [18] QI Y B, LIU Q L, ZHANG L, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of the novel thermo-sensitive genic male sterility *tms9-1* gene in rice[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127(5): 1173-1182.
 - [19] ZHANG H, XU C, HE Y, et al. Mutation in *CSA* creates a new photoperiod-sensitive genic male sterile line applicable for hybrid rice seed production[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(1): 76-81.
 - [20] WANG D, LI J, SUN L, et al. Two rice MYB transcription factors maintain male fertility in response to photoperiod by modulating sugar partitioning[J]. *New Phytologist*, 2021, 231(4): 1612-1629.
 - [21] FAN Y, YANG J, MATHIONI S M, et al. *PMSIT*, producing phased small-interfering RNAs, regulates photoperiod-sensitive male sterility in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(52): 15144-15149.
 - [22] DING J, SHEN J, MAO H, et al. RNA-directed DNA methylation is involved in regulating photoperiod-sensitive male sterility in rice[J]. *Molecular Plant*, 2012, 5(6): 1210-1216.
 - [23] ZHOU H, LIU Q, LI J, et al. Photoperiod- and thermosensitive genic male sterility in rice are caused by a point mutation in a novel noncoding RNA that produces a small RNA[J]. *Cell Research*, 2012, 22(4): 649-660.
 - [24] ZHANG Y F, LI Y L, ZHONG X, et al. Mutation of GMC oxidoreductase leads to thermosensitive genic male sterility in rice and Arabidopsis[J/OL]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022. [2022-07-11]. doi: 10.1111/pbi.13886.
 - [25] XUE Z, XU X, ZHOU Y, et al. Deficiency of a triterpene pathway results in humidity-sensitive genic male sterility in rice[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 604. doi: 10.1038/s41467-018-03048-8.
 - [26] NI E, DENG L, CHEN H, et al. *OsCER1* regulates humidity-sensitive genic male sterility through very-long-chain (VLC) alkane metabolism of tryptophan in rice[J]. *Functional Plant Biology*, 2021, 48(5): 461-468.
 - [27] YANG H, LI Y, CAO Y, et al. Nitrogen nutrition contributes to plant fertility by affecting meiosis initiation[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 485. doi: 10.1038/s41467-022-28173-3.
 - [28] 王志, 吴凡, 唐益文, 等. 水稻新资源粳型两用核不育系绵 9S 的选育[J]. *西南农业学报*, 1999, 12(4): 11-14.
 - [29] 黎世龄, 熊国新, 高一枝. 水稻短光敏雄性核不育性的发现与利用[J]. *杂交水稻*, 2006, 21(1): 10-13.
 - [30] PENG H, ZHANG Z, WU B, et al. Molecular mapping of two reverse photoperiod-sensitive genic male sterility genes (*rpms1* and *rpms2*) in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 118(1): 77-83.
 - [31] JIA J, ZHANG D, LI C, et al. Molecular mapping of the reverse thermo-sensitive genic male-sterile gene (*rtms1*) in rice[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103(4): 607-612.
 - [32] NI J, WANG D, NI D, et al. Characterization and fine mapping of *RTMS10*, a semi-dominant reverse thermosensitive genic male sterile locus in rice[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2022, 21(2): 316-325.
 - [33] FANG C, LI L, HE R, et al. Identification of S23 causing both interspecific hybrid male sterility and environment-conditioned male sterility in rice[J]. *Rice*, 2019, 12: 10. doi: 10.1186/s12284-019-0271-4.
 - [34] REDDY O, SIDDIQ E, SARMA N, et al. Genetic analysis of temperature-sensitive male sterility in rice[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100(5): 794-801.
 - [35] 孙宗修, 熊振民, 闵绍楷, 等. 温度敏感型雄性不育水稻的鉴定[J]. *中国水稻科学*, 1989, 3(2): 49-55.
 - [36] YAMAGUCHI Y, HIRASAWA H, MINAMI M, et al. Linkage analysis of thermosensitive genic male sterility gene, *tms-2* in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Japanese Journal of Breeding*, 1997, 47(4): 371-373.
 - [37] SUBUDHI P, BORKAKATI R, VIRMANI S, et al. Molecular mapping of a thermosensitive genetic male sterility gene in rice using bulked segregant analysis[J]. *Genome*, 1997, 40(2): 188-194.
 - [38] DONG N, SUBUDHI P, LUONG P, et al. Molecular mapping of a rice gene conditioning thermosensitive genic male sterility using AFLP, RFLP and SSR techniques[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100(5): 727-734.
 - [39] LEE D S, CHEN L J, SUH H S. Genetic characterization and fine mapping of a novel thermo-sensitive genic male-sterile gene *tms6* in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 111(7): 1271-1277.
 - [40] LIU X, LI X, ZHANG X, et al. Genetic analysis and mapping of a thermosensitive genic male sterility gene, *tms6(t)*, in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Genome*, 2010, 53(2): 119-124.
 - [41] 邹丹妮. 水稻野栽远源杂交来源的温敏核雄性不育基因 *tms7* 的精细定位[J]. 海口: 海南大学, 2011.

- [42] HUSSAIN A J, ALI J, SIDDIQ E A, et al. Mapping of *tms8* gene for temperature-sensitive genic male sterility (TGMS) in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Plant Breeding*, 2012, 131(1): 42-47.
- [43] ZHANG H, LIANG W, YANG X, et al. *Carbon starved anther* encodes a MYB domain protein that regulates sugar partitioning required for rice pollen development[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(3): 672-689.
- [44] WU L, JING X, ZHANG B, et al. A natural allele of *OsMS1* responds to temperature changes and confers thermosensitive genic male sterility[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 2055. doi: 10.1038/s41467-022-29648-z.
- [45] FAN Y, ZHANG Q. Genetic and molecular characterization of photoperiod and thermo-sensitive male sterility in rice[J]. *Plant Reproduction*, 2018, 31(1): 3-14.
- [46] ZHANG Q, SHEN B, DAI X, et al. Using bulked extremes and recessive class to map genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(18): 8675-8679.
- [47] KUNZMANN A, BRENNICKE A, MARCHFELDER A. 5' end maturation and RNA editing have to precede tRNA 3' processing in plant mitochondria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(1): 108-113.
- [48] PENG G, HE Y, WANG M, et al. The structural characteristics and the substrate recognition properties of RNase Z^{sl}[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 158: 83-90.
- [49] ZHU L, CHENG H, PENG G, et al. Ubiquitinome profiling reveals the landscape of ubiquitination regulation in rice young panicles[J]. *Genomics Proteomics & Bioinformatics*, 2020, 18(3): 305-320.
- [50] LIU W, SUN J, LI J, et al. Reproductive tissue-specific transcriptome of a rice thermo-sensitive genic male sterile line[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2022, 49(7): 624-635.
- [51] LI J, ZHANG H, SI X, et al. Generation of thermosensitive male-sterile maize by targeted knockout of the *ZmTMS5* gene[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2017, 44(9): 465-468.
- [52] ZHOU H, HE M, LI J, et al. Development of commercial thermo-sensitive genic male sterile rice accelerates hybrid rice breeding using the CRISPR/Cas9-mediated *TMS5* editing system[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 37395. doi: 10.1038/srep37395.
- [53] NI E, ZHOU L, LI J, et al. *OsCER1* plays a pivotal role in very-long-chain alkane biosynthesis and affects plastid development and programmed cell death of tapetum in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1217. doi: 10.3389/fpls.2018.01217.
- [54] 黄蓉芬. 水稻光温敏核不育系利用中存在的问题与对策[J]. *江西农业*, 2018(10): 35.
- [55] LI Q L, ZHANG D B, CHEN M J, et al. Development of *japonica* photo-sensitive genic male sterile rice lines by editing *Carbon Starved Anther* using CRISPR/Cas9[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2016, 43(6): 415-419.
- [56] LEI D, TANG W, XIE Z, et al. Solutions to insecurity problems in seed production of two-line hybrid rice[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2013, 15(7): 1160-1166.
- [57] 雷东阳, 唐文帮, 解志坚, 等. 两系法杂交水稻制种不安全问题解决途径[J]. *作物学报*, 2013, 39(9): 1569-1575.
- [58] 柏斌, 吴俊, 庄文, 等. 育性敏感期低温对水稻光温敏不育系生理指标的影响[J]. *华北农学报*, 2015, 30(3): 98-104.
- [59] 蔡星星, 张盛, 曾亚军, 等. 水稻两系不育系广占 63-4S 育性转换温度的提纯[J]. *湖北农业科学*, 2015, 54(21): 5216-5217.
- [60] 陈立云, 肖应辉. 水稻光温敏核不育机理设想及光温敏核不育系选育策略[J]. *中国水稻科学*, 2010, 24(2): 103-107.
- [61] 何强, 庞震宇, 孙平勇, 等. 低温处理水稻光温敏核不育系筛选核心单株的效果研究[J]. *杂交水稻*, 2016, 31(1): 18-20.



庄楚雄, 研究员, 博士生导师, 广东省“千百十工程”培养对象, 国家自然科学基金创新研究群体骨干成员。主要致力于水稻育性发育和光合效率调控等方面的学术研究。在水稻温敏不育领域取得重要进展, 克隆 2 个水稻两系法育种中广泛应用的温敏不育系‘培矮 64S’和‘安农 S-1’的光温敏不育基因, 阐明了光温敏不育的机理, 并建立了新型温敏不育系培育方法, 该成果获得大北农创新奖。曾荣获广东省科学技术奖一等奖 2 项、广东省科学技术奖三等奖 2 项和广东省教学成果特等奖 1 项。在《Cell Research》《Nature Communications》《Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America》和《New Phytologist》等刊物发表论文多篇。主持国家自然科学基金、国家 863 计划、国家 973 计划子课题、国家转基因重大专项子课题等多项国家级课题。

【责任编辑 李庆玲】