

棉花质核互作雄性不育与育性恢复的研究及利用现状

韩宗福 王景会 申贵芳 赵逢涛 王宗文 李汝忠*

(山东省农业科学院 棉花研究中心, 济南 250100)

摘要 利用质核互作雄性不育系实现强优势组合三系配套是解决目前棉花杂交制种瓶颈,促进棉花杂种优势利用的有效途径之一。本文综述了棉花质核互作雄性不育与育性恢复的研究现状,介绍了棉花质核互作雄性不育系和恢复系的类型;在细胞学和分子生物学水平上探讨了质核互作雄性不育产生的机理,阐述了育性恢复的遗传方式、恢复基因的分子标记和遗传定位、恢复基因的图位克隆及三系杂交棉的研究进展;对三系杂交棉今后的研究方向进行了展望。

关键词 棉花; 质核互作雄性不育; 育性恢复; 杂种优势

中图分类号 S 562 文章编号 1007-4333(2011)03-0036-06 文献标志码 A

Research and application of cytoplasmic-nuclear male sterility and fertility restoration in cotton

HAN Zong-fu, WANG Jing-hui, SHEN Gui-fang, ZHAO Feng-tao, WANG Zong-wen, LI Ru-zhong*

(Cotton Research Centre, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China)

Abstract Cytoplasmic-nuclear male sterility (CMS) plays an important role in crop heterosis exploitation. Utilization of CMS and fertility restorer system is an effective way to break through the bottleneck of hybrid seed production and heterosis utilization. This paper presents a review focusing on CMS and fertility restoration and their utilization, expounding the types of CMS lines and fertility restorer lines, the sterility mechanisms which were summarized from cytology, physiological and biochemical indexes and molecular basis, to fertility genetics, development of molecular markers linked with fertility restoring genes, fine mapping of fertility restoring genes and cloning of fertility-related genes. The future work on CMS and its utilization in cotton are also discussed.

Key words cotton; CMS; fertility restoration; heterosis

棉花具有较强的杂种优势^[1]。在适宜地区发展杂交棉,对于提高棉花产量、改进品质、增加效益,实现棉花生产可持续发展具有重要意义。21世纪初,鲁棉研15号、中棉所29号等表现突出的抗虫杂交棉品种的育成,在生产上发挥了巨大作用,极大地推动了我国杂交棉的发展。目前长江流域棉区已基本普及杂交棉,黄河流域棉区杂交棉种植面积达30%左右^[2]。然而,随着棉区经济的发展,劳动力成本逐年上升,靠手工制种的杂交棉发展模式已经无法满足现阶段棉花产业发展的需求,杂交棉的发展迫

切需要在制种技术上有新的突破。利用棉花质核互作雄性不育(Cytoplasmic-nuclear Male Sterility, CMS)系杂交制种,是实现这一目标的有效途径之一。最近,侯思宇等^[3]从遗传学研究、分子标记定位及基因克隆等层面对棉花胞质不育系和恢复系的研究现状进行了综述,但未包括棉花三系品种选育的研究内容。笔者除了补充本研究领域最新的科研成果之外,从棉花质核互作雄性不育系及其恢复系的类型、细胞学及生理生化基础、分子调控机理和国内三系育种现状等方面进行了综述,分析了棉花质核

收稿日期: 2010-12-18

基金项目: 国家转基因生物重大专项(2008ZX08005-001); 山东省农业良种工程(2009LZ00503)

第一作者: 韩宗福,助理研究员,博士,主要从事棉花遗传育种及杂种优势研究, E-mail: zongfuhuan@gmail.com

通讯作者: 李汝忠,研究员,主要从事棉花遗传育种及杂种优势研究, E-mail: sclrlrz@saas.ac.cn

互作雄性不育研究和利用的现状及其存在的问题,以期在三系杂交棉的深入研究和利用提供有益借鉴。

1 质核互作雄性不育系类型

棉花质核互作雄性不育最早是通过远缘杂交的方法实现的。1961年, Richmond等^[4]利用亚洲棉变种×瑟伯氏棉的双二倍体与陆地棉进行杂交,发现后代会有不同程度的雄性不育现象出现。1962年, Meyer等^[5]也发现异常棉×瑟伯氏棉的双二倍体与陆地棉杂交后代花粉的育性明显降低,并推测在异常棉细胞质中存在一个显性单基因,该基因在陆地棉细胞质中活性降低导致雄性不育。1964年, Meyer等^[6]报道,含有异常棉细胞质的植株只有少数花药发育,且大部分花药表现为雄性不育。随后的研究认为亚洲棉和异常棉细胞质与细胞核基因互作导致了可育花药数目的降低^[7-8]。但该CMS不育性不彻底,很难在生产上推广利用。随后, Meyer通过陆地棉与哈克尼西棉种间杂交,然后分别用岱字棉16和Delcot277回交,育成了具有哈克尼西棉细胞质的质核互作雄性不育系DES-HAMS277和DES-HAMS16(D2-2)及其相应的恢复系,该不育系不育彻底,一般陆地棉和海岛棉均可作为其保持系,从而在世界上首次实现了棉花的三系配套^[9]。大量关于哈克尼西棉细胞质效应的研究证实,哈克尼西棉胞质杂种F₁代衣分、衣指、铃重降低,农艺性状较差,皮棉产量显著下降^[10-14],这在一定程度上限制了其在农业生产上的应用。1992年, Stewart利用与哈克尼西棉胞质不育系转育类似方法育成了具三裂棉胞质的不育系(D8ms)及其恢复系,同时还育成了具有亚洲棉、异常棉等胞质基础的雄性不育系^[15]。

我国棉花质核互作雄性不育系研究起步较晚。1987年, 杨亚东^[16]利用哈克尼西棉不育三系, 转育出海岛型44A及陆地型308A的不育系及相应恢复系3667, 完成海陆三系配套。韦贞国等^[17]利用引进的美国胞质不育三系材料, 转育了3个不育系和8个恢复系, 对配制的8个杂交组合进一步研究发现, 杂交种在产量上具有一定的优势。1992年, 周世象等利用核雄性不育系“洞A”与瑟伯氏野生棉杂交, 并连续用陆地棉回交, 选育出“湘远A”棉花胞质雄性不育系, 其不育度和不育株率均达100%, 并实现三系配套。贾占昌等^[18-19]从石短5号×军海棉组合的后代中发现雄性不育株, 已育成具有陆地棉细胞质的雄性不育系104-7A, 并实现三系配套。1996

年, 袁钧等^[20]从(陆地棉×瑟伯氏棉)×(亚洲棉×陆地棉)种间杂交后代选育出晋A雄性不育系, 不育彻底, 一般陆地棉均可作为其保持系, 实现了三系配套。此外, 华金平等^[21]和范万发等^[22]分别利用远缘杂交和海陆杂交筛选到稳定的胞质雄性不育系, 亦均实现了三系配套。

2 胞质不育的形成机理

对不同发育时期棉花不育花药进行细胞形态学观察可以为揭示雄性不育机理提供最为直观的证据^[23]。国内外许多学者对CMS在细胞学水平进行了大量研究, 并取得了显著成果。赵海燕等^[24]总结了前人关于棉花CMS细胞学的研究结果, 认为小孢子败育时期存在3种类型: 造孢细胞增殖期^[25-27]、减数分裂期^[27-29]、贯穿造孢细胞增殖期至减数分裂期^[30]。大量的细胞学研究认为, 小孢子发育过程中造孢组织异常^[25]、细胞质和线粒体异常^[26]、细胞核异常^[27]、细胞形状异常^[27]、染色体异常^[27]、绒毡层过早退化或推迟解体^[29-30]等都可能是CMS花粉败育的细胞学基础。

棉花CMS是母性遗传性状, 受细胞质基因调控。肖松华等^[31]认为, 细胞质基因组如线粒体基因组、叶绿体基因组与不育花粉的形成密切相关。深入分析不育系与保持系间表达差异的细胞质基因, 能更好地理解棉花CMS产生的分子机理。王学德^[32]以哈克尼西棉胞质不育系和保持系的花药及黄化苗为材料, 分别对线粒体蛋白质和DNA进行了SDS-PAGE、RAPD和RFLP分析, 发现在蛋白质水平不育系花药线粒体内缺少一种约31ku的多肽, 在DNA水平缺少一个分子量为1.9kb的与细胞色素氧化酶基因(*cox II*)具有同源序列的片段, 推测*cox II*基因的变异引起线粒体功能的失调, 从而导致雄性不育的产生。黄晋玲^[33]用合成的线粒体基因组探针(*atpA*、*atp6*、*atp9*、*cox I*、*cox II*和*cob*)对晋A胞质雄性不育系和保持系线粒体DNA进行RFLP分析, 发现晋A不育系与保持系相比, 其*atp6*和*cox II*基因分别缺少5.7和4.2kb的强杂交带, 推测条带的缺失与线粒体DNA分子内或分子间的重排有关。后续的文库测序结果证实, 晋A不育系与其保持系在*orfB*、*cox I*和*nad4L*基因全序列上无差异^[34]。最近, Wang等^[35]利用RFLP技术对胞质雄性不育系CMS-D2和CMS-D8的线粒体基因组进行分析发现, CMS-D2中有一条4.5

kb的特异条带,而CMS中有一条5.5 kb的特异条带。叶绿体基因组方面的研究相对较少,Chen等^[36]研究证实,棉花CMS与叶绿体RubisCO大亚基的变异有关。Galau等^[37]也发现,不育系与保持系之间在叶绿体DNA的限制性酶切片段长度上存在显著差异。

3 胞质不育的育性恢复

3.1 恢复系类型

利用远缘杂交和回交技术筛选同质恢复系是获得优良恢复系的常用手段。Sheetz等^[38]以恢复系DES-HAF277为母本,与海岛棉品种PimaS-4杂交,聚合恢复基因 Rf 和育性增强基因 E ,育成带有育性增强基因的恢复系。利用此技术,目前已经获得恢复基因分别来自哈克尼西棉^[9]、三裂棉^[15]、异常棉和瑟伯氏棉^[21]的恢复系。2002年,王学德等^[39]将谷胱甘肽S-转移酶(gst)基因导入恢复系DES-HAF277中,育成一个对CMS具有强恢复力的恢复系“浙大强恢”,与原恢复系相比,恢复度提到了25.8%。范万发等^[40]以与不育系具有相同遗传背景的可育种质为材料,利用遗传过滤技术筛选到可完全恢复Wnafstu胞质不育系育性的恢复系。

3.2 恢复基因及其遗传方式

1975年,Meyer^[9]首次报道哈克尼西棉CMS的育性恢复受2对独立遗传的基因控制,其中1个是显性基因(F),另1个是隐性基因(s),其三系的基因型分别为:不育系 $S(ffSS)$ 、保持系 $N(ffSS)$ 和恢复系 $S(FFss)$ 或 $N(FFss)$ 。Kohel等^[41]和Weaver等^[10]的研究则认为哈克尼西棉CMS育性恢复仅受1对基因 Rf 控制。1996年,王学德等^[42]以哈克尼西棉胞质不育系DES-HAMS277及其恢复系为对照,对我国自主培育或引进后回交转育的7个胞质不育系进行育性恢复的遗传研究证实,上述不育系的育性恢复均受2对独立遗传的显性基因(Rf_1 和 Rf_2)控制,其中 Rf_1 为完全显性, Rf_2 为部分显性, Rf_1 对育性恢复的遗传效应大于 Rf_2 。依据育性基因的等位性测验将供试的7个不育系分为2类:育性恢复基因位点与DES-HAMS277的2个育性恢复基因 Rf_1 和 Rf_2 等位且性质相同(包括湘远4-A、中12A和显无A);在 rf_1 位点上有1个复等位基因 rf_1^m ,杂合 $rf_1rf_1^m$ 等位基因的不育效应大于纯合态 rf_1rf_1 或 $rf_1^mrf_1^m$,即 $rf_1rf_1^m$ 对 Rf_2

起隐性上位作用。Zhang等^[43]研究发现,三裂棉不育系既能够被三裂棉恢复系D8R(恢复基因 Rf_2)所恢复,又能被哈克尼西棉恢复系D2R(恢复基因 Rf_1)恢复,但哈克尼西棉胞质不育系的育性不能被D8R恢复。遗传连锁分析表明,恢复基因 Rf_1 和 Rf_2 是非等位的,两者紧密连锁,其平均遗传距离为0.93 cM, Rf_1 作用于恢复孢子不育,而 Rf_2 作用于恢复配子不育。李朋波等^[44]以 BC_1 和 F_2 群体为试材对晋A恢复系进行遗传分析,证实晋A恢复系受1对显性基因控制。

3.3 恢复基因的分子标记及遗传定位研究

利用分子标记技术筛选与恢复基因紧密连锁的标记,不仅能为新型优良恢复系的辅助选育提供技术手段,更为下一步恢复基因的图位克隆提供理论依据。目前棉花上主要集中于RAPD、STS、SSR和AFLP等分子标记技术的研究报道。郭旺珍等^[45]筛选到一个与恢复基因紧密连锁的RAPD标记OPV-15₃₀₀,重组率为 $(13.0 \pm 2.568)\%$ 。随后Lan等^[46]在研究不育系DELCO277和恢复系HAF277构建的近等基因系时,发现1个RAPD标记UBC6592与 Rf 连锁,该标记被克隆测序后定位到RFLP高密度图谱上。Liu等^[47]以胞质不育系与恢复系构建的 F_2 分离群体为试材,综合运用BSA和GRA等方法,发现2个RAPD标记NAU/RAPD/ Rf_1 3₁₄₈₀和NAU/RAPD/ Rf_1 5₇₁₀,3个SSR标记NAU/SSR/ Rf_1 1₁₇₀、NAU/SSR/ Rf_1 2₁₃₅和NAU/SSR/ Rf_1 4₂₁₅与育性恢复基因 Rf_1 紧密连锁,并进一步利用非整倍体将 Rf_1 基因定位在第4染色体长臂上。Feng等^[48]以 BC_1 群体为基础材料,采用BSA法共鉴定到4个与 Rf_1 连锁的RAPD标记,其中3个标记UBC147₁₄₀₀、UBC607₅₀₀、UBC679₇₀₀与 Rf_1 共分离,另1个标记UBC169₈₀₀与之前报道的UBC169₇₀₀共分离,并将UBC147₁₄₀₀、UBC607₅₀₀与前人报道的UBC169₇₀₀、UBC679₁₅₀₀转化为STS标记。Yin等^[49]筛选了2250对SSR引物,找到5个新的与 Rf_1 紧密连锁的标记,构建了包含13个与 Rf_1 紧密连锁分子标记的遗传图谱。杨路明^[50]利用2803对EST-SSR引物对不育系104-7A和恢复系0-613-2R及22株小群体进行筛选,共得到6个与 Rf_1 基因紧密连锁的分子标记,构建了包含18个标记(2个RAPD、3个STS和13个SSR)的遗传图谱,总遗传距离为0.65 cM。最

近,本课题组利用 SSR 和 STS 标记技术分析(547A × 2152R)F₂ 分离群体,共获得 4 个 SSR 标记和 1 个 STS 标记与恢复基因连锁,且与前人的结果相对应(结果待发表)。

目前利用分子标记技术对棉花 CMS 育性恢复的研究主要集中在 *Rf*₁ 上,对与 *Rf*₂ 连锁的分子标记报道较少^[51]。Zhang 等^[52]采用 BSA 的方法分析三裂棉 D8 恢复系,找到 2 个与恢复基因 *Rf*₂ 连锁的 RAPD 标记 UBC111₃₀₀₀ 和 UBC188₅₀₀,遗传连锁分析表明,UBC188₅₀₀ 与 *Rf*₂ 紧密连锁,平均遗传距离为 2.9 cM。Wang 等^[53]采用多种分子标记手段研究(D8 × SG747) × SG747 回交群体,筛选到 3 个新的 RAPD 标记 UBC352₉₀₀、UBC683₅₀₀ 和 UBC722₇₅₀,2 个 AFLP 标记 E2M3-88 和 E3M3-125,1 个 SSR 标记 CIR179₂₅₀ 与 *Rf*₂ 连锁,并将 UBC722₇₅₀ 转化为 CAPS 标记;此外,利用 PPR 特异的 AFLP 分析上述回交群体,鉴定到 1 个与 *Rf*₂ 紧密连锁的 PPR-AFLP 标记,通过构建包含 9 个与 *Rf*₂ 紧密连锁分子标记的遗传图谱,认为 *Rf*₁ 和 *Rf*₂ 均位于 D 染色体组 LGD08 连锁群上。

3.4 恢复基因的克隆

目前,对棉花 CMS 育性恢复基因的克隆研究已经取得一定进展。2006 年,Yin 等^[49]构建了恢复系的 BAC 文库,并筛选到 50 个阳性单克隆,结合遗传图谱定位结果,将基因定位在 2 个 BAC 克隆重叠区域的 100 kb 之间的物理图谱上。Zhang 等^[54]利用差显技术分析 D8 保持系及其相应恢复系在花药组织中的表达差异,鉴定到约 100 条表达差异条带,随后将 38 个 cDNA 片段(包括 12 个花药特异表达的 cDNA 片段)进行克隆测序和反向 Northern 分析,结果表明,其中 4 个基因在恢复系中上调表达,22 个基因在恢复系中下调表达,并认为下调表达的淀粉合成酶基因和磷酸核糖磷胺苯甲酸转移酶(PAT)基因可能与 CMS-D8 中的 *Rf*₂ 基因有关。吴巧雯等^[55]以(P30A × Y18R)F₂ 分离群体的不育和可育株为试材,利用抑制性差减杂交技术(SSH)研究现蕾 3~5 d 幼蕾中的差异表达基因,克隆到 1 个来源于恢复系的新基因 *GH18Rorf392* 全长序列,该基因编码 392 个氨基酸的蛋白质,3'端含有 26S rRNA 序列,推测该基因可能对研究棉花育性相关功能有帮助。周焘等^[56]也构建了恢复系 18R 的 BAC 文库,该文库插入 DNA 片段为 50~200

kb,覆盖 6.3 倍基因组。杨路明^[50]利用 6 个与 *Rf*₁ 紧密连锁的 EST-SSR 标记对 0-613-2R 恢复系 BAC 文库进行 PCR 筛选,结合比较基因组学分析,对目标 BAC 序列进行了基因预测,共获得 24 个 ORF,其中 4 个编码 PPR 蛋白并含有线粒体定位信号,随后通过 4 个 ORF 的序列比对及对恢复系和不育系的测序比较,推断 ORF3 为基因 *Rf*₁ 的候选 ORF。

4 我国棉花三系育种现状

我国在棉花三系杂交种选育方面已取得较大进展。2002 年,王学德等在上世界上首次利用转基因技术成功育成了一个具有强恢复力的恢复系“浙大强恢”,并初步筛选出一个强优势组合“浙杂 166”,该组合比对照泗棉 3 号增产 10.6%^[39]。2005 年,郭三堆等选育出三系杂交抗虫棉新品种“银棉 2 号”,比常规抗虫棉对照增产 26.4%,并建成转抗虫基因三系杂交棉常规育种与分子育种相结合的技术新体系^[57]。随后选育出高产、多抗型转基因三系抗虫杂交棉新品种银棉 8 号,皮棉产量较对照鲁棉研 15 号增产 7.8%^[58]。此外,国内许多其他科研院所也先后开展了三系杂交棉选育研究,取得了一定成果。邯郸市农业科学院先后育成邯杂 98-1 和邯杂 301,在国家区试试验中,邯杂 98-1 皮棉和霜前皮棉产量分别较对照增产 24.2%和 26.2%,邯杂 301 较对照中棉所 45 和鲁棉研 28 增产幅度分别达到极显著和显著水平^[59-60]。近期通过审定的三系杂交棉品种还有浙杂 2 号、豫棉杂 1 号、新杂棉 2 号和冀 FRH3018 等。

5 三系杂交棉存在的问题与展望

我国在 CMS 研究方面已取得重大进展,尤其是在三系杂交种选育与应用方面走在了世界的前列,但仍存在一些问题。主要表现在以下几方面:1)三系杂交棉花粉育性不够稳定。倪密等^[61]研究了 2 个三系杂交棉组合对温度胁迫的反应,试验结果表明,一般三系杂交棉的花粉育性对温度胁迫的反应比保持系敏感,多表现为花粉散粉少和花粉活力较低。2)恢复基因来源狭窄,恢复系恢复能力不足。目前国内恢复系恢复基因主要来自哈克尼西棉,该恢复系恢复能力不足,杂种 F₁ 花粉活力较低,从而引起棉花结铃率低、不孕籽率高和产量低^[31]。3)缺乏高效简便的传粉媒介。目前三系杂交棉制种

虽然省略了人工去雄,但仍需人工授粉,国内外学者以各种蜂类作为传粉媒介进行辅助授粉的探索,尚未取得理想结果。4)综合农艺性状有待于进一步改进。今后研究的重点:在基础理论方面,要继续筛选新的与育性恢复基因连锁的分子标记,加密连锁图谱,为恢复基因的图位克隆奠定基础;同时通过高通量鉴定技术,筛选参与棉花雄性不育及育性恢复表达调控的基因,通过转基因技术进行鉴定,为棉花 CMS 的进一步利用提供理论基础。在品种选育与利用方面,首先要拓宽恢复基因的来源,通过远缘杂交及回交等手段实现多种恢复基因和育性加强基因的聚合,培育出对不育系具有强恢复力且稳定的新型恢复系,培育强优势组合;其次研究及优化以蜜蜂等昆虫为媒介的高效传粉体系,简化制种流程,增加产量,降低制种成本。总之,棉花 CMS 研究与应用已展现出良好的前景,随着棉花基因组测序计划的启动,棉花质核互作雄性不育及其恢复的调控机理必将进一步明朗,进而促进棉花三系杂种优势的利用研究迈上一个新的台阶。

参 考 文 献

- [1] 王国印,李蒙恩. 陆地棉主要经济性状杂种优势表现及其规律研究[J]. 河北农业科学,1993,3:3-6
- [2] 秦志勇. 发展杂交棉三系不育系的必要性和可能性[J]. 中国种业,2010,8:45-46
- [3] 侯思宇,张锐,张晓,等. 棉花细胞质雄性不育与育性恢复研究进展[J]. 中国农业科技导报,2010,12(1):1-7
- [4] Richmond T R, Kohel R J. Analysis of a completely male-sterile character in American upland cotton[J]. *Crop Sci*,1961,1:397-401
- [5] Meyer V G, Buffet M. Cytoplasmic effects on external ovule production in cotton[J]. *J Hered*,1962,53(5):251-253
- [6] Meyer V G, Meyer J R. Cytoplasmic effects on the differentiation of anthers and ovules of cotton[J]. *Am J Bot*,1964,51(7):693-696
- [7] Meyer V G, Meyer J R. Cytoplasmically controlled male sterility in cotton[J]. *Crop Sci*,1965,5:444-448
- [8] Rhyne C L. Cytoplasmic inheritance of reduced androecium in cotton[J]. *J Hered*,1965,56(2):67-70
- [9] Meyer V G, Meyer J R. Male sterility from *Gossypium harknessii*[J]. *J Hered*,1975,66(1):23-27
- [10] Weaver J B, Weaver Jr J B. Inheritance of pollen fertility restoration in cytoplasmic male sterile upland cotton[J]. *Crop Sci*,1977,17:497-499
- [11] Meyer V G. A study of reciprocal hybrids between upland cotton and experimental lines with cytoplasms from seven other species[J]. *Crop Sci*,1993,3:439-444
- [12] 韦贞国,李宗友,易先达,等. 哈克尼西棉雄性不育胞质的遗传效应[J]. 棉花学报,1995,7(2):76-81
- [13] 邢以华,靖深蓉. 从美国引进的三系及杂种一代试种情况[J]. 中国棉花,1983(5):21-22
- [14] 景忆莲,刘耀斌,李胄,等. 哈克尼西棉细胞质对陆地棉主要经济性状的影响[J]. 中国农学通报,2004,20(4):117-141
- [15] Stewart J M. A new cytoplasmic male sterile and restorer for cotton[C]. *Proc Beltwide Cotton Conf*,1992:610
- [16] 中国农业科学院棉花研究所. 中国棉花遗传育种学[M]. 济南:山东科学技术出版社,2003:304
- [17] 韦贞国,华金平. 棉花雄性不育恢复系的选育及“三系”杂种优势初步研究[J]. 湖北农业科学,1989,11:8-12
- [18] 贾占昌. 棉花雄性不育系 104-7A 的选育及三系配套[J]. 中国棉花,1990,17(6):11
- [19] 贾占昌,马维军. 棉花雄性不育系 104-7A 的利用[J]. 中国棉花,1996,21(1):33
- [20] 袁均,张铎,刘巷禄,等. 棉花质核不育材料晋 A 的发现与观察[J]. 华北农学报,1996,11(4):29-32
- [21] 华金平,张成,易先达,等. 棉花远缘核质杂种的培育与育种应用[J]. 湖北农业科学,2003(4):25-28
- [22] 范万发,邢宏宜,贺道华,等. Wnafstu 棉花雄性不育系遗传类型研究[J]. 棉花学报,2008,20(2):137-140
- [23] 王晓玲,张昭伟,华水金,等. 棉花细胞质雄性不育与线粒体及液泡异常的关系[J]. 科技通报,2007,23(2):187-190
- [24] 赵海燕,黄晋玲. 棉花细胞质雄性不育研究进展[J]. 现代农业科技,2010(7):57-59
- [25] Murthi A N, Weaver Jr J B. Histological studies in five male sterile lines of upland cotton[J]. *Crop Sci*,1974,14:658-663
- [26] 黄晋玲,杨鹏,李炳林,等. 棉花晋 A 细胞质雄性不育系小孢子发生的显微和超微结构观察[J]. 棉花学报,2001,13(5):259-263
- [27] 王学德,张天真,潘家驹. 细胞质雄性不育棉花小孢子发生的细胞学观察和线粒体 DNA 的 RAPD 分析[J]. 中国农业科学,1998,31(2):70-75
- [28] 姚长兵,胡绍安,王春英,等. 棉花细胞质雄性不育小孢子母细胞败育的细胞学研究[J]. 棉花学报,1994,6(增刊):25-27
- [29] 张天真. 陆地棉 1355A 和 104-7A 不育系的细胞学研究[J]. 棉花学报,1995,7(2):73-75
- [30] 童旭宏,秦利,孔广超,等. 新型陆地棉细胞质雄性不育系花器形态学和细胞学观察[J]. 棉花学报,2009,21(2):83-88
- [31] 肖松华,刘剑光,吴巧娟,等. 棉花细胞质雄性不育与育性恢复的研究与利用[J]. 江西农业学报,2008,20(9):8-15
- [32] 王学德. 细胞质雄性不育棉花线粒体蛋白质和 DNA 的分析[J]. 作物学报,2000,26(1):35-39
- [33] 黄晋玲. 棉花晋 A 细胞质雄性不育系的遗传研究[D]. 太谷:山西农业大学,2003
- [34] 黄晋玲,胡建斌,张锐,等. 棉花晋 A 细胞质雄性不育系及其保持系线粒体基因组文库的构建[J]. 中国农业科学,2008,41(6):1603-1610
- [35] Wang F, Feng C, O'Connell M A, et al. RFLP analysis of

- mitochondrial DNA in two cytoplasmic male sterility systems (CMS-D2 and CMS-D8) of cotton[J]. *Euphytica*, 2010, 172: 93-99
- [36] Chen K, Meyer V G. Mutation in chloroplast DNA coding for the large subunit of fraction I protein correlated with male sterility on cotton [J]. *J Hered*, 1979, 70: 431-433
- [37] Galau G A, Wilikins T A. Alloplasmic male sterility in AD allotetraploid *Gossypium hirsutum* upon replacement of its residents A cytoplasm with that of D species *G. harknessii*[J]. *Theor Appl Genet*, 1989, 78: 23-30
- [38] Sheetz R H, Weaver J B. Inheritance of a fertility enhancer factor from Pima cotton when transferred into Upland cotton with *Gossypium harknessii* brandegee cytoplasm[J]. *Crop Sci*, 1980, 20: 272-275
- [39] 王学德, 李悦有. 细胞质雄性不育棉花的转基因恢复系的选育[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(2): 137-141
- [40] 范万发, 贺昌太, 左田夫. 棉花细胞质雄性不育恢复系选育技术探索[J]. *棉花学报*, 2008, 20(4): 315-317
- [41] Kohel R J, Quisenberry J E, Dilbeck R E. Linkage analysis of the male fertility restorer gene, *Rf*, in cotton [J]. *Crop Sci*, 1984, 24: 992-993
- [42] 王学德, 张天真, 潘家驹. 棉花细胞质雄性不育育性恢复的遗传基础 I. 恢复基因及其遗传效应[J]. *中国农业科学*, 1996, 29(5): 32-40
- [43] Zhang J F, Stewart J M. Inheritance and genetic relationships of the D8 and D2-2 restorer genes for cotton cytoplasmic male sterility[J]. *Crop Sci*, 2001, 41: 289-294
- [44] 李朋波, 曹美莲, 杨六六, 等. 棉花晋 A' 细胞质雄性不育恢复基因定位[J]. *西北植物学报*, 2007, 27(10): 1937-1942
- [45] 郭旺珍, 张天真, 潘家驹, 等. 棉花胞质雄性不育育性恢复基因的 RAPD-PCR 标记筛选[J]. *科学通报*, 1997, 42(24): 2645-2647
- [46] Lan T, Cook C G, Paterson A H. Identification of a RAPD marker linked to a male fertility restoration gene in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *J Agric Genomics*, 1999, 4: 299
- [47] Liu L, Guo W, Zhu X, et al. Inheritance and fine mapping of fertility restoration for cytoplasmic male sterility in *Gossypium hirsutum* L. [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 461-469
- [48] Feng C D, Stewart J M, Zhang J F. STS markers linked to the *Rf₁* fertility restorer gene of cotton[J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 110(2): 237-243
- [49] Yin J, Guo W, Yang L, et al. Physical mapping of the *Rf₁* fertility-restoring gene to a 100 kb region in cotton[J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(7): 1318-1325
- [50] 杨路明. 棉花细胞质雄性不育恢复基因的图位克隆及 *PPR* 基因家族的分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2009
- [51] 崔明辉, 吴建勇, 戚廷香, 等. 植物细胞质雄性不育相关基因及其分子标记研究[J]. *分子植物育种*, 2010, 8(5): 1033-1042
- [52] Zhang J, Stewart J M. Identification of molecular markers linked to the fertility restorer genes for CMS-D8 in cotton[J]. *Crop Sci*, 2004, 44: 1209-1217
- [53] Wang F, Stewart J M, Zhang J. Molecular markers linked to the *Rf₂* fertility restorer gene in cotton[J]. *Genome*, 2007, 50: 813-824
- [54] Zhang J, Turley R B, Stewart J M. Identification of molecular markers linked to the fertility restorer genes for CMS-D8 in cotton[J]. *Plant Cell Rep*, 2008, 27: 553-561
- [55] 吴巧雯, 宋洋, 张锐, 等. 棉花恢复系中含有 26S rRNA 序列的 *GH18Ror-f392* 基因克隆[J]. *棉花学报*, 2008, 20(5): 323-329
- [56] 周焘, 郭红媛, 张锐, 等. 陆地棉雄性不育恢复系 18R 的 BAC 文库构建[J]. *棉花学报*, 2009, 21(3): 252-254
- [57] 郭三堆, 张锐, 王远. 三系棉遗传基础研究及育种进展[J]. *农业科技通讯*, 2007, 12: 11-12
- [58] 郭国平. 转基因三系抗虫棉新品种银棉 8 号[J]. *中国种业*, 2008, 11: 66
- [59] 任爱民, 马维军. 转基因三系杂交棉邯杂 98-1 丰产性和稳产性分析[J]. *河北农业科学*, 2007, 11(4): 8-9
- [60] 马维军, 任爱民. 转基因三系杂交棉邯杂 301 丰产性分析[J]. *河北农业科学*, 2010, 14(9): 94-95
- [61] 倪密, 王学德, 张昭伟, 等. 三系杂交棉花粉育性对高温和低温胁迫的反应[J]. *作物学报*, 2009, 35(11): 2085-2090

(棉花专栏研究论文 6, 责任编辑: 袁文业)