

## 红麻线粒体基因 *NAD3* 和 *COB* 的 RNA 编辑与表达分析

刁勇<sup>1</sup> 廖小芳<sup>1</sup> 郑杰<sup>1</sup> 孔祥军<sup>1</sup> 陈鹏<sup>1</sup> 赵艳红<sup>2</sup> 周瑞阳<sup>1\*</sup>

(1. 广西大学农学院/广西高校植物遗传育种重点实验室, 南宁 530005;

2. 广西壮族自治区农业科学院经济作物研究所, 南宁 530007)

**摘要** 以红麻细胞质线粒体近等基因系 UG93A(不育系)、UG93B(保持系)及 UG93A×福红 992(恢复系)的 F<sub>1</sub> 代为材料,研究花药线粒体基因 *NAD3* 和 *COB* 的转录与表达。结果发现,在 3 种供试材料中,基因 *NAD3* 的 CDS 区在 DNA 水平和 RNA 编辑水平上均无差异;不育系与保持系的 *COB* 基因 DNA 编码序列无差异,但在 RNA 水平上发生了编辑,8 个位点的编辑均发生于密码子的第一或第二位碱基,且导致氨基酸种类变化,主要为亲水性氨基酸转变为疏水性氨基酸;*COB* 基因在 UG93A 中的 RNA 编辑频率低于 UG93B;*NAD3* 和 *COB* 基因在 3 种材料中的转录本大小基本相同,但在表达水平上表现为不育系显著低于保持系和 F<sub>1</sub> 代。由此推测 *NAD3* 和 *COB* 基因在红麻花药发育过程中有着重要的作用。

**关键词** 红麻;RNA 编辑;*NAD3*;*COB*;表达分析

中图分类号 S 563.5; S 311

文章编号 1007-4333(2016)11-0010-07

文献标志码 A

## RNA editing and expression analysis of *NAD3* and *COB* in mitochondria of kenaf

DIAO Yong<sup>1</sup>, LIAO Xiao-fang<sup>1</sup>, ZHENG Jie<sup>1</sup>, KONG Xiang-jun<sup>1</sup>, CHEN Peng<sup>1</sup>,  
ZHAO Yan-hong<sup>2</sup>, ZHOU Rui-yang<sup>1\*</sup>

(1. College of Agriculture/Key Laboratory of Plant Genetic Breeding, Guangxi University, Nanning 530005, China;

2. Cash Crop Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

**Abstract** Transcription and expression of *NAD3* and *COB* were analyzed using F<sub>1</sub> plant of three near isogenic mitochondria lines including UG93A(male sterile line),UG93B(maintainer line) and UG93A×FuHong992(restorer line) kenaf as study materials. The results showed that;The coding sequence and RNA editing of *NAD3* displayed no differences among these three lines;The coding sequence of *COB* is completely consistent, and there were 8 editing sites of RNA editing, which occurred at the first or the second position of codons with alteration of amino acid type and was mostly converting hydrophilic amino acid into hydrophobic amino acid;The editing frequencies of *COB* were lower in sterile cytoplasm than in fertile cytoplasm; There was no size difference of *NAD3* and *COB* mRNA in the three lines, but the expression level of *NAD3* and *COB* was reduced significantly in UG93A compared to UG93B and F<sub>1</sub>, indicating that *NAD3* and *COB* might play an important role during the anther development of kenaf.

**Keywords** kenaf; RNA editing; *NAD3*; *COB*; expression analysis

红麻 (*Hibiscus cannabinus* L.) 是锦葵科 (*Malvaceae*) 木槿属 (*Hibiscus*) 一年生韧皮纤维作物,以收获茎秆和韧皮纤维为生产目的<sup>[1]</sup>。周瑞阳等<sup>[2-4]</sup>长期致力于红麻细胞质雄性不育(Cytoplasmic

male sterility, CMS) 系的选育与利用研究;课题组还发掘出了一批 CMS 相关的基因<sup>[3-6]</sup>,并初步研究了这些基因的 RNA 编辑(RNA editing)特性。赵艳红<sup>[5]</sup>对红麻细胞质雄性不育系 P3A、保持系 P3B

收稿日期: 2016-01-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171600)

第一作者: 刁勇, 硕士研究生, E-mail: yamatoody@163.com

通讯作者: 周瑞阳, 教授, 博士, 主要从事棉麻作物遗传育种与栽培生理研究, E-mail: ruiyangzhou@aliyun.com

以及 UG93A×福红 992 的 F<sub>1</sub> 代中 *ATP9*、*ATP6* 基因的编辑进行了分析,发现 *ATP9*、*ATP6* 基因经编辑后产生了新的终止密码子;廖小芳等<sup>[6]</sup>发现红麻细胞质雄性不育系 UG93A 中 *ATP8* 基因有 5 个位点发生了 RNA 编辑,而保持系 UG93B 中存在 6 个 RNA 编辑位点。表明 RNA 编辑与 CMS 的发生有关。

RNA 编辑是一种发生在转录后核苷酸加工修饰现象,由于核苷酸的插入、缺失或碱基修饰,使得转录后表达的氨基酸编码序列不同于基因组序列,在病毒、原生动、昆虫、哺乳动物和高等植物的基因表达过程中有着重要的作用<sup>[7]</sup>。RNA 编辑普遍存在于线粒体基因组和叶绿体基因组转录的调控中<sup>[8]</sup>,其中在线粒体基因组中 RNA 编辑发生最为频繁<sup>[9]</sup>。RNA 编辑是植物线粒体基因表达所必需的步骤,也是在 RNA 水平调控线粒体基因表达的重要方式。近年来研究表明,CMS 与高等植物线粒体基因的 RNA 编辑有紧密联系<sup>[10-11]</sup>。线粒体基因发生 RNA 编辑后,可能会改变初始模板编码,导致了基因结构或表达调控模式发生改变<sup>[12]</sup>。不充分或偏离的 RNA 编辑可能会影响线粒体功能,从而导致细胞质雄性不育<sup>[13]</sup>。Srinivasan 等<sup>[14]</sup>将未经过 RNA 编辑的红花 *NAD3* 基因转移到烟草,再生植株全部表现为不育;Hernould 等<sup>[15]</sup>将小麦经过 RNA 编辑的 *ATP9* 基因导入烟草原生质体,再生植株全部可育,而将未编辑的 *ATP9* 基因导入烟草原生质体,植株表现不育,直接证明线粒体 RNA 编辑与 CMS 相关。在玉米 S 型 CMS 中,*ORF77* 基因经 RNA 编辑后被截平<sup>[16]</sup>;在高粱不育系中,*ATP6* 基因的 RNA 编辑频率较保持系明显降低<sup>[17]</sup>;在 Chinsurah boroII CMS 水稻中,*ATP6* 基因不完全编辑,恢复基因引入后变为完全编辑<sup>[18]</sup>。

*NAD3* 基因编码的是线粒体呼吸链复合体 I 亚基<sup>[19]</sup>,*COB* 是线粒体呼吸链复合体 III 亚基细胞色素 b 的编码基因<sup>[20]</sup>,二者都是线粒体的呼吸电子传递链中非常重要的复合体。吴智明等<sup>[21]</sup>发现辣椒不育系和保持系中 *COB* 基因各有 1 处 U-C 和 G-U 的特异编辑位点。陈鹏等<sup>[20]</sup>通过对红麻不育系 P3A 和保持系 P3B 线粒体 DNA Southern blot 分析发现,*COB* 基因在不育系和保持系中存在较大的差异。但是,迄今为止,前人所用的 CMS 系与保持系不是线粒体基因组水平的近等基因系,导致线粒体 DNA 水平上存在遗传背景干扰,不利于 CMS

相关基因的发掘与表达分析,目前有关线粒体基因组近等基因系研究植物 CMS 分子机理的报道较少。

本研究所用材料细胞质雄性不育系 UG93A 与其保持系 UG93B 源于同一品种,细胞质来源相同<sup>[6]</sup>,属于细胞质线粒体基因组水平的近等基因系,能有效减少与雄性不育非相关信息的干扰。通过对 UG93A 与 UG93B 的 *NAD3*、*COB* 基因的转录和表达水平进行研究,旨在探索其与红麻 CMS 的相关性,为进一步揭示红麻 UG93 的 CMS 机理奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究材料

供试材料为红麻细胞质雄性不育系 UG93A、保持系 UG93B 及 UG93A×福红 992 的 F<sub>1</sub> 代<sup>[6]</sup>,所有研究材料均种植在广西大学农学院实验农场。

### 1.2 红麻 DNA 的提取及花药 RNA 的提取

采用 CTAB 法提取红麻花药 DNA,具体操作步骤参照朱彦涛<sup>[22]</sup>。采用多糖多酚植物 RNA 提取试剂盒(华越洋),提取双核期红麻花药 RNA,按照说明书进行操作。

### 1.3 反转录及基因扩增

使用 TransScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis Super Mix (Trans Gen Biotech),按照说明书步骤合成 cDNA。根据红麻已知 *NAD3* 基因和 *COB* 基因 DNA 序列设计引物,用于扩增 *NAD3* 和 *COB* 基因 CDS 区(Coding sequence),所用引物见表 1。

### 1.4 基因测序及编辑频率计算

采用 MaxiGel Extraction Kit(康为世纪)回收目的片段,用 DNA Ligation Kit Ver. 2. 1(TaKaRa, 大连)将目的片段与 pMD19-T(TaKaRa, 大连)连接,进行 6 批次克隆转化。选取 6 个克隆的菌液送至华大基因测序。

采用 Chromas 软件读取序列图上的峰值,编辑频率为该位点的 T 与 T+C 的峰值比,编辑频率 =  $hT/(hC+hT) \times 100\%$ <sup>[7]</sup>。最终结果分别是 6 次克隆测序重复的平均值。

### 1.5 Northern Blot 分析

采用 DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit II(Roche)对 *NAD3* 基因和 *COB* 基因进行标记,然后进行 Northern Blot 分析,

分别将 30  $\mu\text{g}$  RNA 上样于 1.2% 的甲醛变性胶上,电泳分离,然后经转膜、烤膜,固定,对 RNA 进行探

针杂交、洗膜后进行抗体反应、显影、定影,分析杂交结果。

表 1 引物序列

Table 1 List of primers used in various experiments

引物名称 Primer name	引物序列 Sequence
<i>NAD3F</i>	5' TGGACTGTGGTGATGTCAGAATTTG 3'
<i>NAD3R</i>	5' AGATTACTCCCGATCCGAAGCAC 3'
<i>COBF</i>	5' ATGACTATAAGGAACCAACGATTCTCTC 3'
<i>COBR</i>	5' TCAGGCGTGCTCAGTCTCAGTGT 3'
<i>NAD3-qF</i>	5' TCCTTGGGCAGTACCTCCCA 3'
<i>NAD3-qR</i>	5' CCGATCCGAAGCACCCCTTT 3'
<i>COB-qF</i>	5' CTTTGGGGTGGTTTCTCCGT 3'
<i>COB-qR</i>	5' GCGCCAGATGAAGAAGACT 3'
<i>GAPDH-qF</i>	5' AAGATGCCCTATGTTCGTCGTC 3'
<i>GAPDH-qR</i>	5' TATTGAAGGAAGCGGCTCTACCAC 3'

## 1.6 RT-PCR 分析

分别取 500 ng 红麻双核期花药 RNA 进行反转录。使用美国 Bio-Rad 公司 CFX96 对 *NAD3*、*COB* 基因进行 Real-time RT-PCR 分析。内参基因为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(*GAPDH*)基因,合成引物 *GAPDH*-qF/R,目的基因引物为 *NAD3*-qF/R、*COB*-qF/R(表 1)。利用 TransStart Tip Green qPCR SuperMix(TransGen Biotech)。10  $\mu\text{L}$  反应体系:5  $\mu\text{L}$  2  $\times$  TransStart Tip Green qPCR SuperMix,0.7  $\mu\text{L}$  cDNA,0.6  $\mu\text{L}$  primer mix(包含 10  $\mu\text{mol/L}$  of each forward and reverse primer),加 ddH<sub>2</sub>O 至 10  $\mu\text{L}$ 。PCR 程序为:94  $^{\circ}\text{C}$ 、30 s,1 个循环;94  $^{\circ}\text{C}$ 、5 s,60  $^{\circ}\text{C}$ 、30 s,42 个循环。PCR 循环结束后从 65  $^{\circ}\text{C}$  开始,以 0.5  $^{\circ}\text{C}$  为梯度升温至 95  $^{\circ}\text{C}$ ,每个温度保持 6 s,软件自动生成溶解曲线。*NAD3*、*COB* 基因的相对表达量通过 Bio-Rad CFX Manager 软件进行计算。

## 2 结果与分析

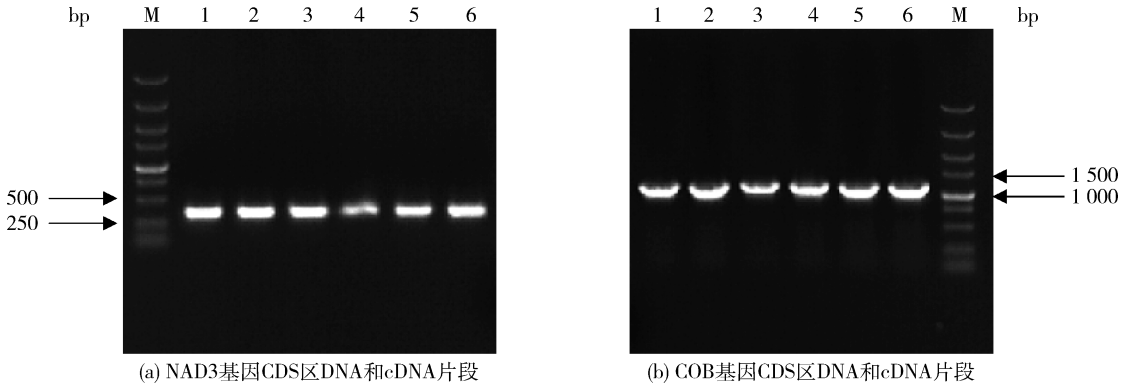
### 2.1 基因的扩增与序列分析

*NAD3* 基因 CDS 区 DNA 和 cDNA 片段大小一致,长度约为 380 bp(图 1(a)),含编码序列 357 bp,编码 118 个氨基酸,DNA 序列和 cDNA 序列在 3 种材料中完全一致,无 RNA 编辑发生。*COB* 基因 CDS 区 DNA 和 cDNA 片段大小一致,长度约为 1 200 bp(图 1(b)),含有编码序列 1 179 bp,

编码 392 个氨基酸,DNA 序列在 3 种材料中完全一致。利用 DNAMAN 软件对克隆测序和 PCR 产物直接测序结果进行分析。结果表明,不同材料中 *COB* 基因转录本 CDS 区的 RNA 编辑位点位置和数目相同,进一步分析发现各个位点的 RNA 编辑频率有所差别(表 1),呈现出不育系低于保持系的趋势,*COB* 基因在 3 种材料中呈现不完全编辑的特征。红麻细胞质雄性不育系、保持系和 F<sub>1</sub> 代转录本 CDS 区都出现 8 个编辑位点,均为 C-U 的变化(图 2)。RNA 编辑发生在密码子第一位碱基的有 7 个,第二位碱基的有 1 个,而第三位碱基并未发生 RNA 编辑。8 个位点的编辑都引起了氨基酸种类的变化(图 2),主要为亲水性氨基酸(Pro 等)转变为疏水性氨基酸(Leu 等),提高了氨基酸的疏水性。

### 2.2 Northern Blot 分析

利用 Northern Blot 分析红麻 *NAD3* 和 *COB* mRNA 在不同胞质中的转录表达情况。结果表明,在近等基因系 UG93A、UG93B 和 F<sub>1</sub> 代中均检测到 *NAD3* mRNA 的 1 个转录本且杂交带型一致,转录本大小基本相同(图 3(a));同时,在这 3 种材料中都检测到 *COB* mRNA 的 5 个转录本且杂交带型一致,转录本大小基本相同(图 3(b)),说明 *NAD3* 和 *COB* 在转录水平与红麻 CMS 的关系不大,而且从转录水平上反映出 *NAD3* 和 *COB* 的 mRNA 各自在 UG93A、UG93B 和 F<sub>1</sub> 代中的转录加工方式基本相同。



M, DL 5 000; 1, UG93A DNA; 2, UG93B DNA; 3, F<sub>1</sub> DNA; 4, UG93A cDNA; 5, UG93B cDNA; 6, F<sub>1</sub> cDNA

图 1 *NAD3* 和 *COB* 的扩增

Fig. 1 Amplification of *NAD3* and *COB*

表 1 *COB* 基因编码区编辑位点的编辑频率

Table 1 Editing frequency of editing sites of *COB* gene coding sequence %

材料 Material	编辑位点 Editing site							8
	1	2	3	4	5	6	7	
UG93A	93.8	88.9	93.8	91.4	92.5	88.1	86.1	87.9
UG93B	95.2	94.2	95.0	94.2	92.4	90.5	88.0	88.5
F <sub>1</sub> (UG93A × 福红 992)	92.9	89.6	92.1	90.2	91.9	87.6	85.5	87.7

```

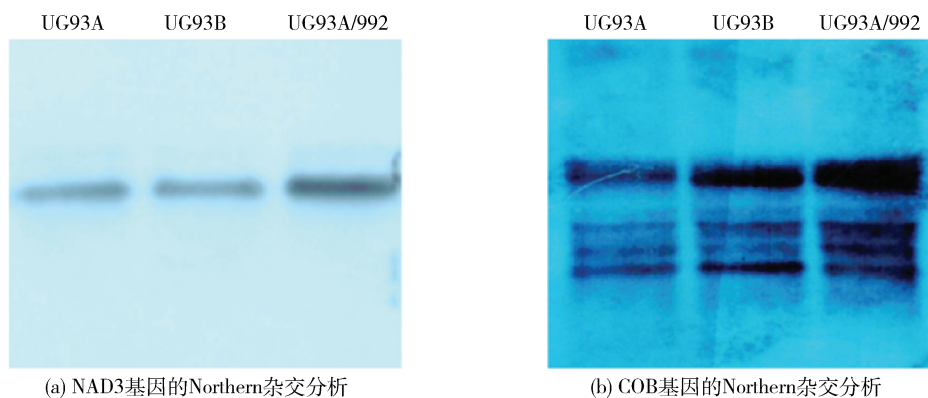
ATGACTATAAGGAACCAACGATTCTCTTCTGAAACAACCTATATCCTCCACACTTAATCAGCATTGATAGATTATCC 80
AACCCCGAGCAATCTTAGTTATTGGTGGGGTTCGGTTCGTTAGCTGGTCTTTGTTTAGTCATTCAGATAGTGACTGGCG 160
TTTTTTAGCTATGCATTACACACCTCATGTGGATCTAGCTTCAACAGCGTAGAACACGTTATGAGAGATGTTGAAGGG 240
GGCTGGTTGCTACGTTATATGCATGCTAATGGGGCAAGTATGTTTCTCATTGTGGTTTACCTTCATATTTTTCGTGGTCT 320
1 (L-F)
ATATCATCGGAGTTATAGCAGTCCTAGGGAATTTGTTGGGTCTCGGAGTTGTAATCTTCTATTAATGATTGTGACAG 400
2 (H-Y) 3 (R-W)
CTTTTATAGGATACGTACTACCGTGGGGTCAGATGAGCTTTTGGGGAGCTACAGTAATTACAAGCTTAGCTAGCGCCATA 480
CCTGTAGTAGGGGATACCATAGTACTTGGCTTTGGGGTGGTTTCTCCGTGGACAATGCCACCTTAAATCGTTTTTTTAC 560
TCTTCATCATTTACTCCCTTTATTTTATAGTAGGCGCCAGTCTTCTTCATCTGGCCGCATTGCATCAATATGGATCAAATA 640
4 (H-Y)
ATCCATTGGGTGTACATTCAGAGATGGATAAAATTTCTTTTACCCTTATTTTATGTAAAGGATCTAGTAGGTTGGGTA 720
GCTTTGCTATCTTTTTTCTATTTGGATTTTTTATGCTCCCAATGTTTTGGGGCATCCCGACAATTATATACCTGCTAA 800
TCCGATGCCACCCCGCTCATATTGTGCCGGAATGGTATTTCTACCGATCCATGCCATTCTCGTAGTATACCTGACA 880
5 (P-S) 6 (H-Y)
AATCGGGAGGTGTAGCCGCAATAGCACCGTTTTTATATGTCTGTTGGCTTTACCTTTTTTTAAAAGTATGTATGTGCGT 960
7 (P-L)
AGTTCAAGTTTTCGCCGATTTACCAAGGAATATTTGGTTGCTTTTGGCGGATTGCTTATTACTAGGTTGGATCGGATG 1040
TCAACCTGTGGAGGCACCATTGTTACTATTGGACAAATTTCTCCTTTAGTTTTCTTCTGTTCTTTGCCATAACGCCCA 1120
8 (P-S)
TTCTGGGACGGGTTGGAAGAGGAATTCCTAATCTTACACTGAGACTGAGCAGCCCTGA 1179
    
```

起始和终止密码子用方框标出,各编辑位点由下划线标出

Initiation codon and termination codon are boxed, editing sites are underlined

图 2 *COB* 基因 RNA 编辑位点和 DNA 序列

Fig. 2 RNA editing sites and DNA sequence of *COB* gene



UG93A 为不育系;UG93B 为保持系;992 为恢复系;UG93A/992 为 UG93A×福红 992  
UG93A male sterile line;UG93B maintainer line;992 restorer line;UG93A/992 UG93A×HongFu992

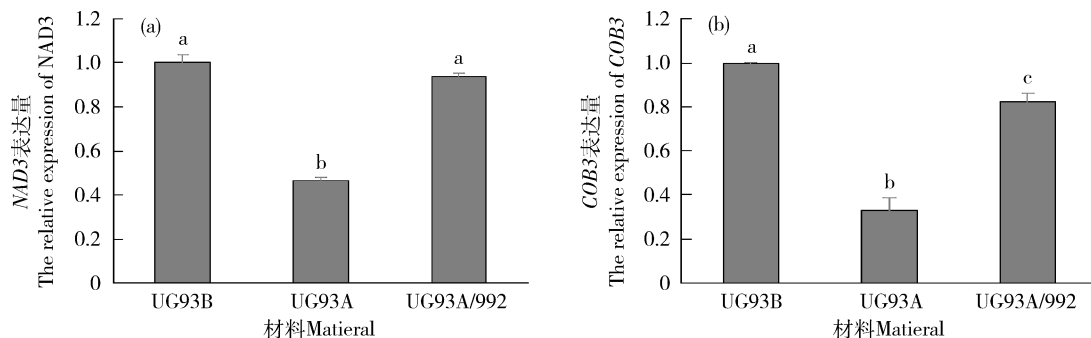
图 3 *NAD3* 和 *COB* 的 Northern 杂交分析

Fig. 3 Northern blot analysis of *NAD3* and *COB*

### 2.3 Real-time RT-PCR 分析

通过 Real-time RT-PCR 分析 *NAD3* 和 *COB* 在不育系 UG93A、保持系 UG93B 和  $F_1$  代花药双核期的相对表达量,结果表明,在不育系 UG93A 中 *NAD3* 的表达量是保持系 UG93B 的 0.464 倍,显著低于保持系,而在  $F_1$  代中 *NAD3* 的表达量是保

持系的 0.936 倍(图 4(a))。在不育系 UG93A 中 *COB* 的表达量是保持系的 0.331 倍,显著低于保持系,而在  $F_1$  中 *COB* 的表达水平是保持系的 0.823 倍(图 4(b)),进一步表明  $F_1$  代中由于恢复基因的引入影响了线粒体基因 *NAD3* 和 *COB* 的表达。



不同字母表示在 0.05 水平上存在显著差异

Different letters are significantly different at  $P < 0.05$

图 4 qRT-PCR 分析 *NAD3* (a) 和 *COB* (b) 的相对表达

Fig. 4 Expression analysis of *NAD3* (a) and *COB* (b) by qRT-PCR

### 3 讨论

线粒体基因组较易发生 RNA 编辑,不正确的 RNA 编辑会妨碍线粒体功能的正常发挥,可能造成雄性不育<sup>[23]</sup>,在植物线粒体基因组中,RNA 编辑主要发生在密码子的第一及第二位碱基上,大多数为 C-U 的碱基转换<sup>[24]</sup>,常导致编码的氨基酸种类发生变化,主要是将亲水性氨基酸转变成疏水性氨基酸,提高了转录本的稳定性和编码蛋白的疏水性<sup>[25-26]</sup>,

使蛋白质能更好地折叠并发挥其生物学功能<sup>[8]</sup>。本研究通过对 *COB* 基因转录本编码区 DNA 和 cDNA 序列分析,发现存在 8 个 C-U 转变的 RNA 编辑位点,均位于密码子第一或第二碱基,导致编码序列改变,产生多个疏水氨基酸。吴智明等<sup>[21]</sup>发现辣椒 *COB* 基因在不育系中 RNA 编辑频率低于保持系,引入恢复基因后 RNA 编辑频率升高。赵艳红<sup>[5]</sup>发现红麻 *ATP6* 基因从不育系、保持系到恢复系,编辑位点数量及频率都出现明显递增趋势,说明

恢复基因的引入使 *ATP6* 基因完全、充分编辑, 推测线粒体基因编辑不充分或偏离妨碍了线粒体的正常功能, 导致植物 CMS 发生。在红麻不育系中 *COB* 基因 RNA 编辑频率低于保持系, 但 RNA 编辑频率并未随恢复基因的引入发生明显变化, 不育系和  $F_1$  代编辑频率相近, 由此表明引入的恢复基因并未影响 *COB* 基因在红麻细胞中 RNA 编辑。在胡萝卜<sup>[27]</sup>、花椰菜<sup>[28]</sup> 中发现 *NAD3* 基因的 RNA 编辑与 CMS 相关, 但在红麻中, *NAD3* 基因未发生 RNA 编辑, 表明 CMS 机理存在多样性。红麻 UG93A 与辣椒<sup>[21]</sup>、红花<sup>[14]</sup>、胡萝卜<sup>[27]</sup> 相同基因的 RNA 编辑特点相比, 表现出明显差异, 推测红麻 UG93 CMS 的遗传机理上可能不同。

对红麻线粒体基因 *NAD3* 和 *COB* 转录表达进行分析, 结果表明, 在 3 种材料中 *NAD3* 和 *COB* mRNA 转录本大小相同, RNA 编码序列一致, 推测 *NAD3* 和 *COB* 基因不是导致红麻 CMS 的直接因子。不育系 UG93A 中 *NAD3* 和 *COB* 基因的表达量显著低于保持系 UG93B 和  $F_1$  代, 趋势与红麻 *ATP8*<sup>[3]</sup> 和 *ATP9*<sup>[4]</sup> 表达的变化趋势一致, 这些基因与线粒体的呼吸电子传递相关, 表明这些与电子传递相关的基因可能在转录后水平对红麻的 CMS 起调控作用, 由此, 推测 *NAD3* 和 *COB* 基因在红麻花粉发育过程中有着重要的作用。深入研究 *NAD3* 和 *COB* 等呼吸链相关基因的调控网络, 将有助于人们了解 CMS 的发生机理。

## 参 考 文 献

[1] 汪斌, 祁伟, 兰涛, 陈惠端, 徐建堂, 粟建光, 李爱青, 祁建民. 应用 ISSR 分子标记绘制红麻种质资源 DNA 指纹图谱[J]. 作物学报, 2011, 37(6): 1116-1123  
Wang B, Qi W, Lan T, Chen H D, Xu J T, Su J G, Li A Q, Qi J M. Establishment of DNA fingerprints of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) germplasm resources with ISSR molecular markers[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(6): 1116-1123 (in Chinese)

[2] 周瑞阳, 张新, 张加强, 甘正华, 韦汉西. 红麻细胞质雄性不育系的选育及杂种优势利用取得突破[J]. 中国农业科学, 2008, 41(1): 314  
Zhou R Y, Zhang X, Zhang J Q, Gan Z H, Wei H X. A breakthrough in kenaf cytoplasmic male sterile lines breeding and heterosis utilization [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(1): 314 (in Chinese)

[3] Liao X F, Zhao Y H, Chen P, Zhou B J, Diao Y, Yu M L, Huang Z P, Zhou R Y. A comparative analysis of the *ATP8*

gene between a cytoplasmic male sterile line and its maintainer and further development of a molecular marker specific to male sterile cytoplasm in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2015, 34(1): 29-36

[4] Zhao Y H, Chen P, Liao X F, Zhou B J, Liao J, Huang Z P, Kong X J, Zhou R Y. A comparative study of the *ATP9* gene between a cytoplasmic male sterile line and its maintainer line and further development of a molecular marker specific for male sterile cytoplasm in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) [J]. *Molecular Breeding*, 2013, 32(4): 969-976

[5] 赵艳红. 红麻细胞质雄性不育相关线粒体基因克隆、功能分析与不育细胞质分子标签发掘[D]. 南宁: 广西大学, 2013  
Zhao Y H. Cloning and function analysis of mitochondrial genes related to CMS and further development of two molecular markers distinctively to male sterile cytoplasm in kenaf [D]. Nanning: Guangxi University, 2013 (in Chinese)

[6] 廖小芳. 红麻 UG93A 和 UG93B 线粒体基因组差异分析及 CMS 相关基因的发掘[D]. 南宁: 广西大学, 2015  
Liao X F. The differential analysis of mitochondrial genomes and identification of genes related to CMS in UG93A and UG93B of kenaf [D]. Nanning: Guangxi University, 2015 (in Chinese)

[7] Wang J, Cao M J, Pan G T, Lu Y T, Rong T Z. RNA editing of mitochondrial functional genes *ATP6* and *cox2* in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Mitochondrion*, 2009, 9(5): 364-369

[8] Gray M W, HanicJoyce P J, Covello P S. Transcription, processing and editing in plant mitochondria [J]. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*, 2003, 43(1): 145-175

[9] Stephane B, Elliott L E, Hanson M R. Genetic architecture of mitochondrial editing in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Genetics*, 2008, 178(3): 1693-1708

[10] Wei L, Zhi X Y, Ding Y. Mitochondrial RNA editing of FO-ATPase subunit 9 gene (*ATP9*) transcripts of Yunnan purple rice cytoplasmic male sterile line and its maintainer line [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2008, 30(5): 657-662

[11] Howad W, Tang H V, Pring D R, Kempken F. Nuclear genes from Tx CMS maintainer lines are unable to maintain *ATP6* RNA editing in any anther cell-type in the sorghum bicolor A3 cytoplasm [J]. *Current Genetics*, 1999, 36(1/2): 62-68

[12] 易平, 汪莉, 孙清萍, 朱英国. 红莲型细胞质雄性不育水稻线粒体 *ATP6* 基因转录本的编辑位点研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 2004, 29(5): 729-733  
Yi P, Wang L, Sun Q P, Zhu Y G. Study on the editing sites in the transcript of *ATP6* gene of HL-rice mitochondria [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2004, 29(5): 729-733 (in Chinese)

[13] 韩艳芬, 张龙雨, 胡俊敏, 张改生, 李亚鑫, 盛英, 位芳, 牛娜, 马守才. 黏类小麦细胞质雄性不育线粒体 *ATP6* 基因转录本编辑位点[J]. 作物学报, 2011, 36(12): 2179-2184  
Han Y F, Zhang L Y, Hu J M, Zhang G S, Li Y X, Sheng Y, Wei F, Niu N, Ma S C. Editing sites in transcript of

- mitochondrial *ATP6* gene of male sterile Line with *Aegilops kotschyi* cytoplasm in wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 36(12):2179-2184 (in Chinese)
- [14] Srinivasan A, Yamini K N, Reddy S S, Kumar V D. Tapetum specific expression of unedited *nad3* gene from safflower and targeting the protein into mitochondria induces male sterility in transgenic tobacco plants [J]. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 2015, 120(1):387-398
- [15] Hernould M, Suharsono S, Litvak S, Araya A, Mouras A A. Male-sterility induction in transgenic tobacco plants with an unedited *ATP9* mitochondrial gene from wheat [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993, 90(6):2370-2374
- [16] Gallagher L J, Betz S K, Chase C D. Mitochondrial RNA editing truncates a chimeric open reading frame associated with S male-sterility in maize [J]. *Current Genetics*, 2002, 42(3):179-184
- [17] Howad W, Kempken F. Cell type-specific loss of *ATP6* RNA editing in cytoplasmic male sterile *Sorghum bicolor* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, 94(20):11090-11095
- [18] Iwabuchi M, Kyozuka J, Shimamoto K. Processing followed by complete editing of an altered mitochondrial *ATP6* RNA restores fertility of cytoplasmic male sterile rice [J]. *Embo Journal*, 1993, 12(4):1437-1446
- [19] Rankin C T, Cutright M T, Makaroff C A. Characterization of the radish mitochondrial *NAD3/rps12* locus: Analysis of recombination repeats and RNA editing [J]. *Current Genetics*, 1996, 29(6):564-571
- [20] 陈鹏, 周瑞阳, 赵杨, 蒋利和. 红麻不育系和保持系中 *COB* 基因的克隆与分析 [J]. *生物技术通报*, 2011(2):93-97
- Chen P, Zhou R Y, Zhao Y, Jiang L H. Cloning and sequence analysis of *COB* gene in CMS and its maintainer liner of *Hibiscus cannabinus* [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2011(2):93-97 (in Chinese)
- [21] 吴智明, 程蛟文, 唐鑫, 崔俊杰, 胡开林. 辣椒线粒体基因转录本编辑位点研究 [J]. *核农学报*, 2012, 26(1) 43-53
- Wu Z M, Cheng J W, Tang X, Cui J J, Hu K L. Editing sites in transcript of mitochondrial gene in hot pepper [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2012, 26(1):49-53 (in Chinese)
- [22] 朱彦涛, 徐虹, 胡选萍, 冯塔, 郭嵩光, 李殿荣. 油菜细胞质雄性不育系根和叶 mtDNA 的提取 [J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(1):181-186
- Zhu Y T, Xu H, Hu X P, Feng T, Guo A G, Li D R. Extracting mtDNA from roots and leaves of cytoplasmic male sterility systems in rapeseed (*Brassica napus*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2010, 18(1):181-186 (in Chinese)
- [23] Wang Z H, Zou Y J, Li X Y, Zhang Q Y, Chen L T, Wu H, Su D H, Chen Y L, Guo J X, Luo D, Long Y M, Zhang Y, Liu Y G. Cytoplasmic male sterility of rice with boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(3):676-687
- [24] Jobson R W, Qiu Y L. Did RNA editing in plant organellar genomes originate under natural selection or through genetic drift [J]. *Biology Direct*, 2008, 3(1):43
- [25] Kubo T, Nishizawa S, Sugawara A, Itchoda N, Estiati A, Mikami T. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial genome of sugar beet (*Beta vulgaris* L) reveals a novel gene for tRNACys(GCA) [J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(3):2571-2576
- [26] 汪静, 曹墨菊, 朱英国, 潘光堂, 荣廷昭. 玉米不育系及其保持系线粒体 *ATP6* 基因转录本编辑位点研究 [J]. *遗传*, 2007, 29(6):731-737
- Wang J, Cao M J, Zhu Y G, Pan G T, Yong T S. The editing sites in the transcripts of mitochondrial *ATP6* gene of maize sterile lines and maintainer line [J]. *Hereditas*, 2007, 29(6):731-737 (in Chinese)
- [27] Rurek M, Szklarczyk M, Adamczyk N, Michalik B, Augustyniak H. Differences in editing of mitochondrial *NAD3* transcripts from CMS and fertile carrots [J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2001, 48(3):711-717
- [28] Wang C G, Chen X Q, Li H, Song W Q. RNA editing analysis of mitochondrial *NAD3/RPS12* genes in cytoplasmic male sterility and male-fertile cauliflower (*Brassica oleracea var botrytis*) by cDNA-SSCP [J]. *Botanical Studies*, 2007, 48(1):13-23

责任编辑: 吕晓梅