

植物细胞核雄性不育的分子机制

史典义¹, 赵晓菊¹, 周正富², 涂金星^{2,*}

¹大庆师范学院生命科学系, 黑龙江大庆 163712; ²华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070

Molecular Mechanism of Plant Genic Male Sterility

SHI Dian-Yi¹, ZHAO Xiao-Ju¹, ZHOU Zheng-Fu², TU Jin-Xing^{2,*}

¹Department of Life Sciences, Daqing Normal College, Daqing, Heilongjiang 163712, China; ²National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

提要:植物细胞核雄性不育是育性基因时空调控表达异常的结果。目前已克隆到一些绒毡层特异表达的基因, 如 *EMS1*/*EXS*、*UDT1* 及 *RTS* 等。鉴定了一些减数分裂相关的基因, 如 *AtRAD51*、*AtMND1* 及 *PAIR1*、*PAIR2* 等。此外, *MMD1*、*MS1* 及 *TDR* 等还与细胞程序性死亡有关。

关键词:细胞核雄性不育; 绒毡层; 减数分裂; 细胞程序性死亡

植物雄性不育广泛存在于开花植物中, 是利用杂种优势提高作物产量和品质的基础。在拟南芥、烟草和油菜等很多植物中都有雄性不育突变体的报道, 这些突变体表现在花药形态、小孢子发生、花粉发育和花粉功能等的缺失(Kaul 1988; Sanders 等 1999)。遗传学研究表明, 无论是雄性还是雌性发育的生殖过程大多数是由核不育基因控制的(Okamoto 等 1993)。由于细胞核雄性不育具有败育彻底、不育性稳定、无不良胞质效应、可以实现“三系”配套等优点, 因而在杂种优势利用中有重要的应用价值。据报道, 大概有 3 500 个基因在拟南芥花药组织中特异表达(Sanders 等 1999)。Ma 等(2005)报道, 有 1 282 个基因在拟南芥雄蕊中富集表达。但是有关雄配子特异表达以及导致花药和花粉发育缺陷的基因数目还不清楚(Wilson 等 2001)。

由于细胞核雄性不育涉及时空调控表达的复杂性以及不育基因的多样性等, 以前对育性分子机制的研究相对较少(叶毓芝和曹家树 2000; 甘立军等 2004)。近年来, 随着细胞核雄性不育基因克隆数目的增多, 细胞核雄性不育基因的研究已逐渐深入。目前已经克隆到一些绒毡层特异表达的基因, 例如过量产生小孢子母细胞的拟南芥 *EMS1* 基因(Zhao 等 2002)、水稻绒毡层发育所必需的 *UDT1* 基因(Jung 等 2005)和花药特异表达的 *RTS* 基因(Luo 等 2006)等。此外, 还鉴定了一些减数分裂相关的基因, 例如拟南芥同源染色体重

组所必需的 *AtRAD51* 基因(Li 等 2004), 水稻同源染色体配对和胞质分裂所必需的 *PAIR1* 基因(Nonomura 等 2004)及拟南芥同源染色体联会和 DNA 双链断裂(DNA double-strand break, DSB)修复中行使重要功能的 *AtMND1* 基因(Kerzendorfer 等 2006)。最近的研究则证实, 细胞核雄性不育的发生与细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)有关(Wu 和 Cheung 2000; Yang 等 2003b; Li 等 2006)。本文就近年来有关植物细胞核雄性不育分子机制的研究进展作简要介绍。

1 绒毡层与细胞核雄性不育

在开花植物中, 雄蕊原基分化出孢原细胞后, 孢原细胞经过一次平周分裂形成内外两层细胞。外层的初生壁细胞经过平周分裂和垂周分裂产生 3~5 层细胞, 由外而内分别分化成药室内壁、中层和绒毡层, 它们与最外面的表皮一起共同构成了花药壁。内层的初生造孢细胞经过有丝分裂形成次生造孢细胞, 然后再分化形成小孢子母细胞, 最终产生花粉粒。成熟花粉的形成依赖于花药中配子体和孢子体两类细胞的分化与相互作用(Yang 等 2003a; Ma 2005; Li 等 2006)。其中孢子体细胞绒毡层的代谢非常旺盛, 是花药壁最内的一层, 为小孢子的发育提供营养物质并调控小孢子的释放(Zhao 等 2002; Jung 等 2005)。在

收稿 2007-04-18 修定 2007-05-17
* 通讯作者(E-mail: tujx@mail.hzau.edu.cn; Tel: 027-87281819)。

烟草和白菜等作物中,选择性的破坏绒毡层细胞可以破坏花粉粒的形成,从而证明绒毡层的重要性(Cho等2001;Lee等2003)。任何影响绒毡层发育的突变都有可能导导致花粉的败育和雄性不育(Wilson等2001;Sorensen等2003;Jung等2005;Luo等2006)。

1.1 拟南芥 EMS1/EXS 基因 Zhao等(2002)在拟南芥 *excess microsporocytes1 (ems1)* 突变体中分离到一个产生过量小孢子母细胞的基因,该基因编码一个富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)的受体蛋白激酶。*ems1* 基因能产生过量的小孢子母细胞,缺少绒毡层细胞,但是异常的维持中层细胞。说明该基因的表达与小孢子母细胞和绒毡层细胞的表达有关,表明 EMS1 基因参与决定生殖细胞及其邻近体细胞分化发育的信号调控。形态学研究表明,来自内部的第2层壁细胞分化成多余的小孢子母细胞。Zhao等(2002)推测,来自小孢子母细胞的信号被 EMS1 受体所接受,而 EMS1 受体引发了绒毡层细胞的分化,由绒毡层细胞发育为多余的小孢子母细胞。拟南芥 *extra sporogenous cells (exs)* 突变体与 *ems1* 表型相似, EXS 基因与 EMS1 一样都编码一个 LRR 受体蛋白激酶(Canales等2002)。

Yang等(2003a)在拟南芥增强子陷阱和基因陷阱插入突变系中,筛选到一类似雄性不育的突变体 *tpd1* 和 *tpd2*。这2个等位突变体在花的形态及数量上表现正常。细胞学观察表明, *tpd1* 突变体与 *ems1/exs* 表型相似,可以产生过量的小孢子母细胞而缺少绒毡层细胞。基因克隆显示, *TPD1* 编码一个176个氨基酸的小的分泌性蛋白。进一步研究发现, *TPD1* 可能与 EMS1/EXS 协同作用共同控制细胞的命运(Yang等2005)。小孢子母细胞中 *TPD1* 的表达上升而 EMS1/EXS 的表达下降,从而促进小孢子母细胞的发育;而 *TPD1*、EMS1/EXS 的表达在绒毡层中则正好相反,结果促进了绒毡层的发育(Ma 2005)。

拟南芥 *somatic embryogenesis receptor kinases1* 和 *kinases2* 的双隐性(*serk1serk2*)突变体由于缺乏花粉发育而导致雄性不育(Shiu和Bleecker2001;Albrecht等2005;Colcombet等2005)。在幼嫩的花蕾中, *serk1serk2* 双突变体的表型与 *tpd1*、*ems1/*

exs 相似。*serk1serk2* 双突变体的花药发育正常,但是小孢子囊产生了更多的造孢细胞,这些造孢细胞不能进入减数分裂。*tpd1*、*ems1/exs* 和 *serk1serk2* 双突变体具有相似的表型表明, SERK1 和 SERK2 可能与 *ems1/exs*、*TPD1* 的基因产物在花药发育期间协同行使功能(Colcombet等2005)。SERK1 和 SERK2 都属于 LRR 激酶亚家族 II, 而 EMS1/EXS 蛋白属于 LRR 激酶亚家族 X。研究认为, LRR 激酶以特异的方式相互作用(Diévert等2003;Shpak等2003)。所以, 2种不同的 LRR 激酶可能在花药形成的发育过程中相互结合、相互作用,从而构成有功能的受体。绒毡层和次生造孢细胞相互比邻,次生造孢细胞通过分泌 TPD1 来抑制临近细胞发育成小孢子母细胞。SERK1 和 SERK2 可能与 EMS1/EXS 处在同一信号路径,与 EMS1/EXS 组成有功能的复合体一起感知分泌性蛋白 TPD1 的信号。而在 *serk1serk2* 或 *ems1/exs* 突变体中,由于不能组成有功能的复合体以感知 TPD1 的信号,因而绒毡层前体细胞未被抑制而发育为多余的小孢子母细胞。但是 SERK1 和 SERK2 也可能处于独立分支的信号路径(Albrecht等2005)。

1.2 水稻 UDT1 基因 Jung等(2005)在水稻 T-DNA 插入突变体中筛选并鉴定了一个在次生壁细胞分化至成熟绒毡层细胞期间所必需的核不育基因 *Undeveloped Tapetum1 (UDT1)*。该基因编码一个227个氨基酸的蛋白,分子量为24.9 kDa,等电点6.5。BLAST 分析显示,与 UDT1 最相似的蛋白是油菜 bHLH 转录因子 CAD54298 和拟南芥 bHLH 蛋白 AMS,每一个都与水稻蛋白有32%的相似性。已知 AMS 在绒毡层细胞形成和减数分裂后小孢子发育的转录调控中起重要作用, *ams* 突变导致不正常的绒毡层膨胀并维持中层细胞(Sorensen等2003)。*UDT1* 转录本在花药早期发育阶段含量丰富。在 *udt1* 突变体中绒毡层的功能在早期发育阶段受到严重的破坏。在减数分裂期间, *udt1* 突变体花药的绒毡层随着空泡扩大而表现早熟退化。表明 *UDT1* 在维持绒毡层发育早期阶段减数分裂的起始方面行使重要功能。

检测3个早期绒毡层标记基因 *Cp1* (Lee等2004)、*Osc4* 和 *Osc6* (Tsuchiya等1994)的转录水

平的结果证实 *UDT1* 调控它们的表达。所以 *UDT1* 不仅在绒毡层发育的早期表达, 之后又在维持绒毡层的发育中行使功能。由于 *UDT1* 基因产物是一个具有 bHLH 模体的转录因子, 所以 *UDT1* 可能在早期阶段通过控制一套对绒毡层、性母细胞的分化以及中层的退化等基因来控制育性的发育 (Jung 等 2005)。

1.3 水稻 *RTS* 基因 Lee 等(1996)从水稻品种 ‘IR54’ 基因组文库中分离到一绒毡层专一性表达的基因 *rice anther-specific gene (RTS)*。序列分析表明, *RTS* 启动子区含有与番茄花粉专一性表达基因 *LAT56*、*LAT59* 启动子 (Twell 等 1991) 相似的保守序列。他们将 *RTS* 启动子与 *GUS* 基因编码区的嵌合基因转化烟草, 但并没有在转基因烟草植株中检测到 *GUS* 的表达。陆桂华等(2000b)根据 Lee 等(1996)的研究结果从籼稻 ‘IR36’ 中克隆到 *RTS* 启动子, 将该启动子与报告基因 *GUS* 编码区相连后经根癌农杆菌介导转化粳稻品种 ‘ZH11’, 得到转基因水稻植株。*GUS* 活性检测表明, *RTS* 启动子驱动 *GUS* 基因在花药中专一性表达, 确证了该启动子可驱动其下游基因在花药绒毡层也包括花粉中专一表达的特性。陆桂华等(2000b)克隆到的 *RTS* 基因启动子 *RTS2pro* 与 Lee 等(1996)报道的 *RTS* 启动子序列有所不同: 前者的保守模体为 G A G T T T G T T A, 后者为 G A A T T T G T T A, 两者相差 1 个碱基, 可能是品种间存在的差异。Luo 等(2006)通过转基因和反义 RNA 特异下调水稻 *RTS* 的表达, 则导致花粉的败育。进一步证实 *RTS* 基因启动子在植物花药中表达的专一性。

陆桂华等(2000a)用 *RTS* 启动子与 *RNase (barnase)* 的嵌合基因经根癌农杆菌介导转化粳稻 ‘ZH11’, 成功获得转基因雄性不育水稻株。这一工作为我们提供了更多的可供选择的、能导致水稻雄性不育的 *RNase* 嵌合基因, 也为其它植物通过基因工程获得稳定的雄性不育系开辟了一条新的途径。

2 减数分裂与细胞核雄性不育

减数分裂是有性生殖产生单倍体配子的过程。减数分裂过程中, 生殖细胞经过 2 次连续的染色体分离而 DNA 只复制 1 次, 由最初的一个二

倍体细胞产生四个单倍体细胞 (Ma 2005)。在这一时期, 植物对各种干扰非常敏感, 尤其是减数分裂前期 I (Hamant 等 2006)。减数分裂的意义在于, 可有效地维持基因组的稳定性和创造遗传多样性。要实现这两个目的, 最重要的就是同源染色体的配对和重组。

2.1 拟南芥 *AtRAD51* 和 *AtMND1* 基因 减数分裂前期 I 是一个非常复杂的过程, 涉及同源染色体的配对、联会及重组等。在芽殖酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中, 减数分裂的重组主要是由 *SPO11* 基因通过表达类似拓扑异构酶的活性来激活 DSB 的形成而起始的 (Bergerat 等 1997; 唐丽等 2006)。而酵母 *RAD51* 基因在有丝分裂的染色体重组和 DNA 断裂修复中发挥作用。*RAD51* 缺陷的细胞将停滞在有丝分裂期, 显示出染色体片段化的现象, 并经历一个 PCD 过程 (Haber 2000)。

AtRAD51 基因是 Li 等(2004)在拟南芥中克隆到的一个酵母 *RAD51* 同源基因, 命名为 *AtRAD51*。在脊椎动物中, *rad51* 突变是致死的 (Thacker 1999), 而拟南芥 *atrad51-1* 突变体植株在正常条件下能够全部存活, 并能正常发育, 没有检测到有丝分裂的异常。但是, 突变体植株完全雄性和雌性不育。细胞学和遗传学分析表明, 在突变体的减数分裂前期 I, 染色体联会失败并出现大量的片段化。染色体片段化可以为 *atspo11-1* 所抑制, 证明 *AtRAD51* 在 *AtSPO11-1* 的下游行使功能。所以, *AtRAD51* 可能在修复由 *AtSPO11-1* 所产生的 DSB 方面行使重要功能。异常的 *AtRAD51* 无法修复由 *AtSPO11-1* 所产生的 DSB, 最终导致不育。Li 等(2004)鉴定的另一个拟南芥 *RAD51* 同源基因 *AtRAD51C*, 与 *AtRAD51* 具有相似的功能。在早期减数分裂阶段, *atrad51c-1* 中的同源染色体不能联会, 并且出现严重的片段化。此外, 分析 *atrad51c-1atspo11-1* 双突变体结果显示, 片段化现象几乎被 *atspo11-1* 突变完全抑制。片段化现象表明, *atrad51c-1* 在由 *AtSPO11-1* 产生的 DSB 的修复过程中存在着缺陷 (Nonomura 等 2006)。

Kerzendorfer 等(2006)在拟南芥中克隆到的酵母 *MND1* (Rabitsch 等 2001) 同源基因 *AtMND1* 与 *AtRAD51*、*AtRAD51C* 具有相似的功能。在 *atmnd1* 突变体植株中, 联会复合体的轴向原体能

够正常形成, 姐妹染色单体凝聚和重组的起始也不受影响, 但是染色体不能联会。在减数分裂过程中, 观察到大量通过染色体桥相互连接而缠绕在一起以及严重的染色体片段化。这些缺陷是在SPO11-1存在的条件下发生的。基因结构分析表明, *AtMND1* 基因含有10个外显子, 其mRNA含有994个碱基, 包括5'和3'的UTR序列。开放阅读框(ORF)长度为693个碱基。该基因与人、老鼠、裂殖酵母和酿酒酵母的同源基因分别有43%、42%、38%和26%的同源性。

2.2 水稻PAIR1和PAIR2基因 Nonomura等(2004)鉴定并描述了一个水稻减数分裂基因 *PAIR1*, 它是雄性母细胞和雌性母细胞中同源染色体配对和胞质分裂所必需的。*pair1* 突变是由T-DNA插入产生的, 显示出减数分裂特异的缺陷, 导致雄性和雌性配子的完全不育。细胞学研究表明, *PAIR1* 基因主要在前减数分裂或早期减数分裂阶段表达。在 *pair1* 性母细胞的前期I期间, 所有的染色体相互缠绕形成一个紧密的小球, 与核仁相粘着, 并且同源染色体配对失败。在后期I和末期I, 染色体不分离, 形成退化的纺锤体, 产生了多个不均一的小孢子。蛋白质序列分析显示, *PAIR1* 编码一个492个氨基酸的蛋白, 中间含有卷曲螺旋模体, 两端含有两个基本区域和一个C端的核蛋白定位信号。N端富含大量的S/T-P-X-X或S/T-S/T-X-X模体, 这些模体存在于很多DNA结合蛋白中(Suzuki 1989)。Nonomura等(2004)推测 *PAIR1* 通过形成一个卷曲螺旋二聚体, 在减数分裂I期间通过结合模体直接作用于染色体参与同源染色体的列队, 而 *pair1* 突变则导致同源染色体配对的失败。

PAIR2 基因也是水稻减数分裂期间同源染色体配对所必需的。*pair2* 与 *pair1* 一样在减数分裂早期阶段完全缺失同源染色体的配对, 但不同的是 *pair2* 突变并不出现染色体的缠结(Nonomura等2006)。

除以上基因外, 近年来还鉴定了许多其它减数分裂相关的基因, 例如在玉米中鉴定了减数分裂花束形成和同源染色体联会必需的 *PAMI* 基因(Golubovskaya等2002), 以及协调同源染色体重组、配对和联会所必需的 *PHS1* 基因(Pawlowski

等2004), 在拟南芥中鉴定了联会复合体形态发生所必需的 *ASY1* 基因(Armstrong等2002)等。

3 程序性细胞死亡与细胞核雄性不育

PCD是多细胞有机体为控制机体发育、抵御环境压力及病菌侵袭(即控制生长和生存)、由基因调控的主动性细胞死亡过程。在植物中, PCD发生在某些发育时期, 例如木质部发生、胚胎发生、通气组织形成及某些生殖过程等(Pennell和Lamb 1997; Hatsugai等2006)。从结构水平来讲, 绒毡层的PCD特征表现为顺序的细胞结构的消除。绒毡层的分化及之后的退化与花药减数分裂后的发育成熟相协调一致, 不正确的细胞死亡将导致生殖失败, 甚至是雄性不育(Wu和Cheung 2000; Li等2006)。减数分裂过程中的异常PCD同样会导致雄性不育(Yang等2003b)。

3.1 拟南芥MMD1基因 Yang等(2003b)在拟南芥中鉴定并分离出的一个雄性母细胞死亡基因 *male meiocyte death1 (mmd1)*。研究表明, 突变体的花粉母细胞在终变期之前一直表现正常, 在终变期之后胞质分裂之前显示出程序性死亡的信号。程序性死亡主要表现在染色体行为的缺陷、细胞质收缩和染色体片段化, 紧接着细胞死亡。

MMD1 编码一个含有 plant homeo domain (PHD)同源异型结构域的核蛋白并在花粉母细胞减数分离期优先表达。后研究表明, *MMD1* 可能与减数分离期间基因的表达调控有关, *mmd1* 突变体引发了花粉母细胞的PCD。BLAST搜索显示, *MMD1* 与一些包含PHD结构域的蛋白存在一定的相似性, 例如与拟南芥 *MS1* 的全长序列相似性为26% (Yang等2003b)。

3.2 拟南芥MS1基因 已知拟南芥 *MS1* 基因编码一个雄配子正常发育所必需的、带有PHD指状结构域的转录调控因子。表型分析显示, 纯合 *ms1* 突变体不能产生有活性的花粉。花粉的退化发生小孢子从四分体中释放后不久, 此时绒毡层也异常中空化(Wilson等2001)。Vizcay-Barrena和Wilson(2006)根据拟南芥 *ms1* 隐性突变体研究的结果认为, 绒毡层的退化不是一个非控制事件, 而是一个PCD的过程。拟南芥 *ms1* 突变体在减数分裂期和早期发育阶段表现正常, 但是在小孢子释放后, 小孢子细胞质和绒毡层变成不规则粒状并

中空化, 最终导致未成熟花粉的败育。突变体胼胝质壁中的花粉粒外壁能正常发生, 但之后的发育即受到严重的影响。一旦胼胝质降解, 便会引起孢粉沉积的异常, 产生不规则的钉状结构, 而不是野生型的棒状结构。

基于 TUNEL (末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记) 染色和超微结构分析, Vizcay-Barrena 和 Wilson (2006) 推测 *MS1* 基因可能有 2 种作用: (1) *MS1* 可能通过修饰花粉壁发育相关的(调控壁物质分泌的)绒毡层基因的转录而起作用, 然后形成花粉壁物质。这些过程可能启动正常的绒毡层 PCD, 从而促进绒毡层壁物质向花粉粒上的沉积; (2) *MS1* 基因可能是通过直接调控绒毡层 PCD 和衰退来控制绒毡层的发育。*MS1* 基因在其表达期间, 可能通过抑制 PCD 的表达来调控绒毡层的增殖。

3.3 水稻 *TDR* 基因 绒毡层细胞的分化及其随后的退化是与花药减数分裂后的发育程序高度一致的, 绒毡层提前或延迟退化将导致雄性不育。Li 等 (2006) 鉴定一个水稻绒毡层延迟退化的单隐性核不育基因 *Tapetum Degeneration Retardation (TDR)*。在 *tdr* 花药中, 绒毡层的 PCD 过程延迟而维持中层细胞, 最终导致完全的雄性不育。

TDR 编码一个带有 bHLH 结构域的 552 个氨基酸的转录因子, bHLH 位于第 280 与 341 个氨基酸之间; 在第 290 至 296 个氨基酸之间存在一个核定位信号序列 (RKRRKK)。TDR 与拟南芥 AMS 具有 32% 的相似性。RT-PCR 分析早期花药表达基因 *OsCPI* (编码一个半胱氨酸蛋白酶) 和 *Osc6* (编码一个蛋白酶抑制因子) 显示, 在野生型中随着花药发育到中空化和成熟花粉粒阶段, 它们的转录都明显降低。在 *tdr* 花药中 *OsCPI* 的转录本降低了, 且没有检测到 *Osc6* 的表达, 表明它们可能在 *TDR* 基因下游表达。染色质免疫沉淀反应和凝胶迁移电泳分析进一步证实, TDR 直接调控 *OsCPI* 和 *Osc6*, 可能是通过上调他们的表达来调控绒毡层的退化 (Li 等 2006)。

结合透射电子显微镜观察的结果, Li 等 (2006) 认为, 在 *tdr* 突变体绒毡层中由于缺乏 PCD 过程而不能提供小孢子正常发育所需要的重要物质和信号, 从而导致小孢子的崩溃和雄性不育。

4 结语

细胞核雄性不育是花药中孢子体组织和配子体组织时空调控表达异常的结果。在孢子体组织中绒毡层是花药壁内最为重要的一层细胞, 为小孢子的发育提供营养物质并调控小孢子的释放。绒毡层发育的异常表现在绒毡层命运的决定、提前或延迟退化, 而小孢子母细胞减数分裂的异常表现在染色体的断裂和同源染色体配对的失败。由于败育基因的多样性和时空调控表达的复杂性, 目前的研究还不能全面揭示植物细胞核雄性不育的分子机制。今后的研究还需要结合遗传转化、分子检测和序列分析等方法, 以及基因芯片、酵母三杂交系统和反义 RNA 等新的研究工具, 对细胞核雄性不育进行全面系统的研究, 以阐明其分子机制及信号通路。这些可先在拟南芥和水稻一类模式植物中进行系统研究之后, 而后推广到其它作物。

参考文献

- 甘立军, 夏凯, 周燮 (2004). 茉莉酸对拟南芥花粉育性的调控. 植物生理学通讯, 40 (3): 269~274
- 陆桂华, 孙海涛, 张景六, 洪孟民 (2000a). 由 *RTS-barnase* 嵌合基因的表达导致的雄性不育水稻植株. 植物生理学报, 26 (2): 171~176
- 陆桂华, 张景六, 洪孟民 (2000b). *RTS* 启动子与 *GUS* 的嵌合基因在转基因水稻花药中的专一性表达. 植物生理学报, 26 (2): 164~170
- 唐丽, 李美茹, 李洪清 (2006). 植物 DNA 双链断裂修复的保守性和特异性. 植物生理学通讯, 42 (6): 1224~1230
- 叶帆芝, 曹家树 (2000). 植物雄性不育的分子机理. 植物生理学通讯, 36 (2): 176~181
- Albrecht C, Russinova E, Hecht V, Baaijens E, de Vries S (2005). The *Arabidopsis thaliana* SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASES1 and 2 control male sporogenesis. *Plant Cell*, 17: 3337~3349
- Armstrong SJ, Caryl AP, Jones GH, Franklin FCH (2002). *Asy1*, a protein required for meiotic chromosome synapsis, localizes to axis-associated chromatin in *Arabidopsis* and *Brassica*. *J Cell Sci*, 115: 3645~3655
- Bergerat A, de Massy B, Gadelle D, Varoutas PC, Nicolas A, Forterre P (1997). An atypical topoisomerase II from archaea with implications for meiotic recombination. *Nature*, 386: 414~417
- Canales C, Bhatt AM, Scott R, Dickinson H (2002). *EXS*, a putative LRR receptor kinase, regulates male germline cell number and tapetal identity and promotes seed development in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 12: 1718~1727
- Cho HJ, Kim S, Kim M, Kim BD (2001). Production of transgenic

- male sterile tobacco plants with the cDNA encoding a ribosome inactivating protein in *Dianthus sinensis* L. *Mol Cells*, 11: 326~333
- Colcombet J, Boisson-Dernier A, Ros-Palau R, Vera CE, Schroeder JI (2005). *Arabidopsis* SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASES1 and 2 are essential for tapetum development and microspore maturation. *Plant Cell*, 17: 3350~3361
- Diévert A, Dalal M, Tax FE, Lacey AD, Huttly A, Li J, Clark SE (2003). *CLAVATA1* dominant-negative alleles reveal functional overlap between multiple receptor kinases that regulate meristem and organ development. *Plant Cell*, 15: 1198~1211
- Golubovskaya IN, Harper LC, Pawlowski WP, Schichnes D, Cande WZ (2002). The *pam1* gene is required for meiotic bouquet formation and efficient homologous synapsis in maize (*Zea mays* L.). *Genetics*, 162: 1979~1993
- Haber JE (2000). Partners and pathways repairing a double-strand break. *Trends Genet*, 16: 259~264
- Hamant O, Ma H, Cande WZ (2006). Genetics of meiotic prophase I in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 267~302
- Hatsugai N, Kuroyanagi M, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2006). A cellular suicide strategy of plants: vacuole-mediated cell death. *Apoptosis*, 11: 905~911
- Jung KH, Han MJ, Lee YS, Kim YW, Hwang I, Kim MJ, Kim YK, Nahm BH, An G (2005). Rice *Undeveloped Tapetum1* is a major regulator of early tapetum development. *Plant Cell*, 17: 2705~2722
- Kaul MLH (1988). Male Sterility in Higher Plants. Heidelberg: Springer-Verlag Press, 15~94
- Kerzendorfer C, Vignard J, Pedrosa-Harand A, Siwiec T, Akimcheva S, Jolivet S, Sablowski R, Armstrong S, Schweizer D, Mercier R et al (2006). The *Arabidopsis thaliana* *MND1* homologue plays a key role in meiotic homologous pairing, synapsis and recombination. *J Cell Sci*, 119: 2486~2496
- Lee JY, Aldemita RR, Hodges TK (1996). Isolation of a tapetum-specific gene and promoter from rice. *Int Rice Res Notes*, 21: 2~3
- Lee S, Jung KH, An G, Chung YY (2004). Isolation and characterization of a rice cysteine protease gene, *OsCPI1*, using T-DNA gene-trap system. *Plant Mol Biol*, 54: 755~765
- Lee YH, Chung KH, Kim HU, Jin YM, Kim HI, Park BS (2003). Induction of male sterile cabbage using a tapetum-specific promoter from *Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*. *Plant Cell Rep*, 22: 268~273
- Li N, Zhang DS, Liu HS, Yin CS, Li XX, Liang WQ, Yuan Z, Xu B, Chu HW, Wang J et al (2006). The rice *Tapetum Degeneration Retardation* gene is required for tapetum degradation and anther development. *Plant Cell*, 18: 2999~3014
- Li W, Yang X, Lin Z, Timofejeva L, Xiao R, Makaroff CA, Ma H (2005). The *AtRAD51C* gene is required for normal meiotic chromosome synapsis and double-stranded break repair in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 138: 965~976
- Luo H, Lee JY, Hu Q, Nelson-Vasilchik K, Eitas TK, Lickwar C, Kausch AP, Chandless JM, Hodges TK (2006). *RTS*, a rice anther-specific gene is required for male fertility and its promoter sequence directs tissue-specific gene expression in different plant species. *Plant Mol Biol*, 62: 397~408
- Ma H (2005). Molecular genetic analyses of microsporogenesis and microgametogenesis in flowering plants. *Annu Rev Plant Biol*, 56: 393~434
- Ma L, Sun N, Liu X, Jiao Y, Zhao H, Deng XW (2005). Organ-specific expression of *Arabidopsis* genome during development. *Plant Physiol*, 138: 80~91
- Nonomura KI, Nakano M, Fukuda T, Eiguchi M, Miyao A, Hirochika H, Kurata N (2004). The Novel Gene *HOMOLOGOUS PAIRING ABERRATION IN RICE MEIOSIS1* of rice encodes a putative coiled-coil protein required for homologous chromosome pairing in meiosis. *Plant Cell*, 16: 1008~1020
- Nonomura KI, Nakano M, Eiguchi M, Suzuki T, Kurata N (2006). *PAIR2* is essential for homologous chromosome synapsis in rice meiosis I. *J Cell Sci*, 119: 217~225
- Okamoto JK, den Boer BGW, Jofuku KD (1993). Regulation of *Arabidopsis* flower development. *Plant Cell*, 5: 1183~1193
- Pawlowski WP, Golubovskaya IN, Timofejeva L, Meeley RB, Sheridan WF, Cande WZ (2004). Coordination of meiotic recombination, pairing, and synapsis by *PHS1*. *Science*, 303: 89~92
- Pennell RI, Lamb C (1997). Programmed cell death in plants. *Plant Cell*, 9: 1157~1168
- Rabitsch KP, Tóth A, Galova M, Schleiffer A, Schaffner G, Aigner E, Rupp C, Penkner AM, Moreno-Borchart AC, Primig M et al (2001). A screen for genes required for meiosis and spore formation based on whole-genome expression. *Curr Biol*, 11: 1001~1009
- Sanders PM, Bui AQ, Weterings K, McIntire KN, Hsu YC, Lee PY, Truong MT, Beals TP, Goldberg RB (1999). Anther developmental defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants. *Sex Plant Reprod*, 11: 297~322
- Shiu SH, Bleeker AB (2001). Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 10763~10768
- Shpak ED, Lakeman MB, Torii KU (2003). Dominant-negative receptor uncovers redundancy in the *Arabidopsis* *ERECTA* leucine-rich repeat receptor-like kinase signaling pathway that regulates organ shape. *Plant Cell*, 15: 1095~1110
- Sorensen AM, Kröber S, Unte US, Huijser P, Dekker K, Saedler H (2003). The *Arabidopsis* *ABORTED MICROSPORES (AMS)* gene encodes a MYC class transcription factor. *Plant J*, 33: 413~423
- Suzuki M (1989). SPXX, a frequent sequence motif in gene regulatory proteins. *J Mol Biol*, 207: 61~84
- Thacker J (1999). A surfeit of *RAD51*-like genes? *Trends Genet*, 15: 166~168
- Tsuchiya T, Toriyama K, Ejiri S, Hinata K (1994). Molecular characterization of rice genes specially expressed in the

- anther tapetum. *Plant Mol Biol*, 26: 1737~1746
- Twell D, Yamaguchi J, Wing RA, Ushiba J, McCormick S (1991). Promoter analysis of genes that are coordinately expressed during pollen development reveals pollen-specific enhancer sequences and shared regulatory elements. *Genes Dev*, 5: 496~507
- Vizcay-Barrena G, Wilson ZA (2006). Altered tapetal PCD and pollen wall development in the *Arabidopsis msl* mutant. *J Exp Biol*, 57: 2709~2717
- Wilson ZA, Morroll SM, Dawson J, Swarup R, Tighe PJ (2001). The *Arabidopsis MALE STERILITY1 (MS1)* gene is a transcriptional regulator of male gametogenesis, with homology to the PHD-finger family of transcription factors. *Plant J*, 28: 27~39
- Wu H, Cheung AY (2000). Programmed cell death in plant reproduction. *Plant Mol Biol*, 44: 267~281
- Yang SL, Jiang L, Puah CS, Xie LF, Zhang XQ, Chen LQ, Yang WC, Ye D (2005). Overexpression of *TAPETUM DETERMINANT1* alters the cell fates in the *Arabidopsis* carpel and tapetum via genetic interaction with *EXCESS MICROSPOROXYTES1/EXTRA SPOROGENOUS CELLS*. *Plant Physiol*, 139: 186~191
- Yang SL, Xie LF, Mao HZ, Puah CS, Yang WC, Jiang L, Sundaresan V, Ye D (2003a). *TAPETUM DETERMINANT1* is required for cell specialization in the *Arabidopsis* anther. *Plant Cell*, 15: 2792~2804
- Yang X, Makaroff CA, Ma H (2003b). The *Arabidopsis MALE MEIOCYTE DEATH1* gene encodes a PHD-finger protein that is required for male meiosis. *Plant Cell*, 15: 1281~1295
- Zhao DZ, Wang GF, Speal B, Ma H (2002). The *EXCESS MICROSPOROXYTES1* gene encodes a putative leucine-rich repeat receptor protein kinase that controls somatic and reproductive cell fates in the *Arabidopsis* anther. *Genes Dev*, 16: 2021~2031