

Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin –
Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, 05–870 Błonie, Polska,
e-mail: m.wasiak@ihar.edu.pl

MARZENA WASIAK 

**Genetyczne podstawy cytoplazmatyczno-jądrowej
męskiej sterility (CMS) u roślin
oraz jej wykorzystanie w hodowli. Praca przeglądowa**

Genetic basis of cytoplasmic male sterility (CMS) in plants and its use
in cereal breeding. A review

Streszczenie. Zjawisko cytoplazmatyczno-jądrowej męskiej sterility (CMS) u roślin charakteryzuje się upośledzeniem rozwoju pełnowartościowego pyłku. To zaburzenie jest wynikiem niekompatybilności genomu mitochondrialnego i jądrowego. Istnieje wiele hipotez tłumaczących CMS, jednak molekularny mechanizm działania męskiej sterility i przywracania płodności u większości gatunków roślin uprawnych pozostaje nieznanym. Mimo to prace hodowców umożliwiły opracowanie wydajnych systemów CMS, które znalazły zastosowanie w hodowli między innymi zbóż. Zainteresowanie hodowlą heterozyjną wiąże się zarówno z możliwością wykorzystania efektu heterozji (poprzez krzyżowanie formy matecznej i ojcowskiej), jak i z kontrolą nad materiałem siewnym. Ze względów ekonomicznych hodowla heterozyjna ma – i należy oczekiwać, że będzie mieć – istotne znaczenie gospodarcze.

Słowa kluczowe: rośliny, cytoplazmatyczna męska sterility, mitochondrialne DNA, otwarta ramka odczytu, geny przywracania płodności

WSTĘP

Zjawisko cytoplazmatyczno-jądrowej męskiej sterility (CMS) opisano u ponad 150 gatunków roślin jedno- i dwuliściennych [Sofi i in. 2007], w tym m.in. u rzepaku (*Brassica napus*) [Kang i in. 2017], kapusty (*Brassica oleracea*) [Leino i in. 2003], rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) [Smyth i in. 1990], tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum* L.) [Hegde 1992, Spassova 1993], kukurydzy (*Zea mays*) [Cui i in. 1996] czy żyta (*Secale* L.) [Geiger i Schnell 1970].

CMS charakteryzuje się zaburzeniami w procesach wytwarzania pyłku i/lub męskich narządów rozrodczych, wynikających z niekompatybilności genomu mitochondrialnego

i jądrowego [Budar i Pelletier 2001, Eckardt 2006, Chase 2007]. Formy męskosterylne pochodzą zarówno z populacji naturalnych, jak i z roślin wytworzonych poprzez hybrydyzację komórek, mutagenezę, protoplazmatyczną fuzję czy za pomocą inżynierii genetycznej [Ivanov i Dymshits 2007, Yamagishi i Bhat 2014, Bohra i in. 2016]. Prace nad poszukiwaniem źródeł CMS oraz badaniem jej cytogenetycznych podstaw rozpoczęły się w latach sześćdziesiątych XIX w. Dzięki rozdzieleniu form rodzicielskich CMS przyczyniła się do podwyższenia bujności mieszańców pokolenia F1 i tym samym do wzrostu wartości cech użytkowych przekraczających wartość lepszego rodzica [Bohra i in. 2016]. Badania te zapoczątkowały wykorzystanie CMS w hodowli heterozyjnej roślin uprawnych.

PRZEJAWY CMS

Cytoplazmatyczno-jądrowa męska sterylność przejawia się na poziomie morfologii kwiatu, jego tkanek, w zmianach budowy mitochondriów oraz mikrosporogenezy. Zmiany mogą też dotyczyć samej budowy kwiatu [Ivanov i Dymshits 2007]. W literaturze opisano przypadki przekształcenia męskich narządów rozrodczych (pręcików) w płatki okwiatu lub w żeńskie narządy rozrodcze (owocolistek lub znamię słupka) [Laser i Lersten 1972]. Opisano również zaburzenia charakteryzujące się całkowitym brakiem kwiatostanu [Chase 2007]. Stwierdzono także zmiany strukturalne nitek pręcików (przede wszystkim w wiązce przewodzącej) oraz pylników, prowadzące do aborcji mikrospor w roślinach z CMS. Andersen [1963] zauważył u pomidora (*Lycopersicon*), że aborcji pyłku towarzyszyło zmniejszenie wielkości pylnika i wydłużenie nitek. Rohrbach zaś w 1965 r. wykazał, że nitki normalnych pręcików buraka zwyczajnego (*Beta vulgaris*) miały wydłużone komórki z dużą ilością cytoplazmy, a komórki w nitkach pręcików sterylnych roślin były krótkie, szerokie i zawierały mało cytoplazmy. Joppa i in. [1966] stwierdzili, że pręciki linii sterylnych pszenicy (*Triticum sp.*) mają słabo zróżnicowane wiązki przewodzące w porównaniu z normalnymi pręcikami, gdzie unaczynienie, zarówno w przypadku ksylemu, jak i floemu jest prawidłowe. Takie zjawisko prowadzi do ograniczenia dostępności asymilatów w pylnikach roślin sterylnych, powodując zmniejszenie akumulacji skrobi w tapetum i brak jej magazynowania w dojrzewających mikrosporach [Laser i Lersten 1972]. W pylnikach roślin sterylnych wykryto szereg zaburzeń rozwojowych w stosunku do pylników roślin z normalną cytoplazmą [Sofi i in. 2007]. Zniekształcone pylniki obserwowano u sterylnych roślin amfiploida kozińca i pszenicy twardej [Fukasawa 1953], małe i cienkie u kukurydzy [Jones i in. 1957], krótkie, pomarszczone i wysuszone u sorgo (*Sorghum*) [Maunder i Pickett 1959], a pylniki w kształcie sierpa były charakterystyczne dla pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum*) [Joppa i in. 1966]. W literaturze fachowej opisano także niepekające pylniki uniemożliwiające wydostanie się żywotnego pyłku [Vinod 2005].

Cytoplazmatyczno-jądrowa męska sterylność wpływa również na mitochondria roślin. Mitochondria z cytoplazmą sterylizującą charakteryzują się zmniejszoną powierzchnią błony wewnętrznej (system grzebieni jest mniej rozbudowany). W błonie tej znajdują się białka odpowiedzialne za oddychanie komórkowe oraz nośniki transportujące jony i metabolity [Majewska-Sawka i Sadoch 2003].

Mikrosporogeneza jest ważnym etapem w cyklu życiowym rośliny, ponieważ ten proces poprzez podział mejotyczny prowadzi do powstawania haploidalnych mikrospor, które przekształcają się następnie w ziarna pyłku [Nadot i in. 2008]. Zaburzenia mikro-

sporogenezy wiążą się ze zmianami w tapetum [Sakata i Higashitani 2008], tkanki odpowiedzialnej za prawidłowy rozwój i dojrzewanie mikrospor [Raghavan 2000]. Tapetum to tkanka bogata w substancje odżywcze, wyściełająca mikrosporangium, czyli wnętrze woreczka pyłkowego i otaczająca męskie mejocyty, z których rozwijają się mikrospory przekształcające się w ziarna pyłku. Podstawowymi zadaniami tapetum są: ochrona i odżywianie rozwijających się gamet, produkcja enzymów powodujących rozpad ściany tetrad, pośredniczenie w budowie egzyny i innych struktur pyłku [Leśniewska 2003]. Objawami nieprawidłowego rozwoju tapetum u roślin sterylnych są niejednokrotnie zbyt duża wakuolizacja [Shi i in. 2010], pogrubienie, powiększenie i dezorganizacja komórek, degeneracja cytoplazmy, powstawanie wielojądrowych syncytiów czy utrata specyfiki komórkowej tkanki [Scoles i Evans 1979, Raghavan 1997]. Początkowe zakłócenie funkcji tapetum może pozbawić mikrospory substancji niezbędnych do ich przeżycia [Raghavan 2000], prowadząc do zaburzenia wytwarzania pyłku. W takiej sytuacji pyłek jest niepełnowartościowy lub nie występuje w ogóle [Ivanov i Dymshits 2007]. Przykładem takiego zaburzenia jest petunia ogrodowa (*Petunia hybrida*) [Gillman i in. 2009]. U form męskosterylnych dochodzi do blokady syntezy DNA, spada poziom ATP i NADPH, co prowadzi do degeneracji komórek tapetum, a mejocyty nie przechodzą pierwszej metafazy podziału mejotycznego [Winiarczyk 1999]. Śmierć komórek tapetum i komórek sporogennych u petunii z CMS (*Petunia parodii*) może być spowodowana syntezą toksycznego białka, które przedwcześnie wyzwala mechanizm programowanej śmierci komórki (ang. PCD – programmed cell death), prowadząc do fragmentacji DNA zdegenerowanych komórek. W przypadku słonecznika przyspieszenie PCD spowodowane jest przedczesnym uwolnieniem cytochromu C z mitochondriów do tkanek tapetum [Balk i Leaver 2001]. Zaburzenia mikrosporogenezy w kontekście CMS opisano również na etapie podziału mejotycznego komórki macierzystej, wkrótce po mejozie, w stadium tetrad lub podczas poszczególnych faz rozwojowych haploidalnych mikrospor [Schnable i Wise 1998, Raghavan 2000, Majewska-Sawka i Sadoch 2003].

GENETYCZNE PODSTAWY CMS

CMS jest dziedziczona maternalnie i polega na zaburzeniu funkcjonowania genomu mitochondrialnego, prowadząc do braku kompatybilności z genomem jądrowym a w efekcie do jałowości pyłku [Chen i Liu 2014]. Zjawisko CMS może powstawać w wyniku krzyżowań międzygatunkowych, międzyrodzajowych [Gobron i in. 2013], poprzez fuzję komórek [Yamagishi i Bhat 2014] lub rozszczepienie intronowe [Jin i in. 2013]. Na poziomie molekularnym CMS związane jest z: (1) rekombinacją mtDNA; (2) posttranskrypcyjną edycją RNA; (3) małymi cząsteczkami RNA oraz (4) produktami translacji [Chen i in. 2017].

1. Rekombinacja mtDNA

Mitochondria są organellami półautonomicznymi, dziedziczonymi w linii maternalnej [Gray i in. 1999]. Ich podstawową rolą jest zaopatrywanie komórek w energię w postaci ATP wytwarzanego w procesach fosforylacji oksydacyjnej. Mitochondria oprócz udziału w fosforylacji oksydacyjnej [Handa 2003] zaopatrują komórki roślin w niezbędne do wzrostu i podziału związki organiczne, takie jak kwas foliowy, biotyna, pantoteniany,

askorbiniany, tiaminę, kwas liponowy (LA) [Rebeille i in. 2007, Balk i Pilon 2011, Millar i in. 2011], nukleotydy [Stasolla i in. 2003] czy lipidy [Horvath 2013]. Organella te pełnią także kluczową rolę w rozwoju żeńskiego gametofitu [Martin i in. 2014] oraz kiełkowaniu nasion [Law i in. 2014]. Częściowa autonomia mitochondriów przejawia się w obecności genomu niezależnego od jądra komórkowego. Wielkość genomu mitochondrialnego waha się od ok. 200 kb u rzepaku [Handa 2003] do ponad 2400 kb u melona (*Cucumis melo*) [Ward i in. 1981]. W procesie ewolucji większość genów kodujących białka mitochondrialne została przeniesiona do jądra komórkowego [Liberatore i in. 2016]. W mitochondriach zachowało się jedynie 25–40 genów, w tym geny kodujące białka uczestniczące w oksydacji fosforylacyjnej (OXPHOS) oraz geny tRNA (od 2 u lepnicy smukłej (*Silene conica*) do 26 u dyni zwyczajnej (*Cucurbita pepo*)) [Sloan i in. 2012].

Częste rekombinacje DNA mitochondrialnego mogą doprowadzić do rearanżacji genomu, dając wiele typów rekombinowanych struktur, które różnią się pod względem liczby kopii. Rekombinowane struktury mogą zawierać chimeryczne otwarte ramki odczytu (ang. ORF – open reading frame) [Tang i in. 2017], które ulegając ekspresji, skutkują powstawaniem nowych transkryptów a następnie polipeptydów czy białek [Schnable i Wise 1998]. Występowanie ORF może powodować CMS [Tang i in. 2017]. Takie zaburzenia opisano np. u rzodkwi zwyczajnej (*Raphanus sativus*) ze sterylnością typu *Ogura*, gdzie obecność białka 19 kDa skorelowana jest z występowaniem *orf138*, [Grelon i in. 1994], a w CMS typu *Kosena* występuje ortologiczna sekwencja *orf125* zawierająca dwie substytucje aminokwasowe i 39 nukleotydowych delecji [Iwabuchi i in. 1999]. U słonecznika (*Helianthus annuus*) z CMS typu PET1 otwarta ramka odczytu (*orf522*) koduje nowe białko o masie 15kDa, składające się z 522 aminokwasów i występujące wyłącznie w linii z cytoplazmą sterylizującą [Fujii i Toriyama 2008]. Powstałe produkty bywają cytotoksyczne lub zakłócają ekspresję normalnych mitochondrialnych genów [Luan i in. 2013]. Czasem rearanżacje zaburzają funkcjonowanie genów mtDNA kodujących białka uczestniczące w łańcuchu transportu elektronów [Liberatore i in. 2016]. Do tej pory zostało sklonowanych szereg genów mitochondrialnych odpowiedzialnych za ekspresję CMS u różnych gatunków [Eckardt 2006]. Sekwencje DNA tych genów są zazwyczaj chimeryczne i częściowo homologiczne do genów mitochondrialnych kodujących, np. ATPazy, oksydazy cytochromu C [Tang i in. 2017] czy dehydrogenazy NADH [Horn i in. 2014]. W przypadku rzepaku powstawanie *orf224* powoduje zaburzenia ekspresji *atp6*, które prowadzą do niedoborów energii i zahamowania rozwoju pyłku [L'Homme 1997].

2. Posttranskrypcyjna edycja RNA w systemach CMS

Posttranskrypcyjna edycja mitochondrialnych RNA pełni ważną rolę w zjawisku cytoplazmatyczno-jądrowej męskiej sterylności pyłku. Edycja mitochondrialnych transkryptów RNA prowadzi głównie do zamiany ściśle zdefiniowanych reszt cytozyny (C) na uracyl (U) [Suzuki i in. 2013]. Błędy na tym etapie mogą przyczynić się do powstawania RNA kodujących inne niż należałoby oczekiwać produkty [Takenaka i in. 2014]. Taka sytuacja ma miejsce w przypadku RNA kodowanego przez otwartą ramkę odczytu *orf77* w liniach kukurydzy z CMS-T [Gallagher i in. 2002]. Podobne zjawisko zaobserwowano w przypadku transkryptów genu *atp6* u sorgo (*Sorghum bicolor*) [Howad i Kempken 1997] czy *atp9* u ryżu i soi [Wei i in. 2008]. We wszystkich w/w przypadkach obserwowano zmniejszony poziom posttranskrypcyjnej edycji RNA [Suzuki i in. 2013]. Należy podkreślić, że posttranskrypcyjna modyfikacja RNA (typu C->U) nie zawsze jest związana z CMS [Bonen 2008].

3. Małe cząsteczki RNA

Istotną rolę w cytoplazmatyczno-jądrowej męskiej sterility mogą odgrywać małe cząsteczki RNA. Analiza produktów degradacji RNA kapusty sitowej (*Brassica juncea*) i rzodkwi zwyczajnej z CMS wykazała, że miRNA mogą uczestniczyć w sieci regulacyjnej CMS [Yang i in. 2013]. MiRNA związane z CMS zostały zidentyfikowane i scharakteryzowane w trakcie rozwoju pylnika m.in. u rzodkiewnika [Chambers i Shuai 2009] czy ryżu [Wei i in. 2011].

4. Produkty translacji

Większość białek związanych z CMS posiada konfiguracje transbłonowe zdolne do zakłócania struktury błony mitochondrialnej i/lub zmiany przepuszczalności i potencjału tej błony [Li i in. 2014]. Białka te mogą bezpośrednio ingerować w produkcję energii [Jing i in. 2011], indukują uwalnianie cytochromu C poprzez gromadzenie dużej liczby reaktywnych form tlenu (ROS) [Yan i in. 2014] i stymulowanie przedwczesnej programowanej śmierci komórek w męskich tkankach rozrodczych [Horn i in. 2014]. Część białek odpowiedzialnych za CMS wykazuje toksyczność. Przykładem mogą być produkty genu T-urf13 u kukurydzy z CMS-T [Korth i in. 1991], *OrfH79* u ryżu z CMS-HL [Hu i in. 2013], *Orf507* u pieprzu [Li i in. 2013] oraz białko związane z homeostazą ROS u bawełny (*Gossypium hirsutum*) [Yang i in. 2014].

MODELE MECHANIZMÓW CMS

Charakterystyka poznanych mechanizmów powodujących CMS doprowadziła do zaproponowania czterech modeli tłumaczących to zjawisko [Chen i in. 2017]: (1) niedoboru energii; (2) programowanej śmierci komórkowej (ang. PCD); (3) cytotoksyczności; (4) komunikacji między organellami.

W modelu niedoboru energii CMS jest wynikiem niedostatecznej liczby funkcjonalnych mitochondriów, komórki nie spełniają energetycznych wymagań potrzebnych do procesów reprodukcyjnych. Uważa się, że biogeneza komórek sporofitycznych i gametofitycznych pylników roślinnych wymaga więcej energii niż inne narządy.

Prawidłowe funkcjonowanie tapetum wymaga odpowiednio zaplanowanej inicjacji i przebiegu programowanej śmierci komórki; przedwczesny lub opóźniony proces PCD w komórkach tapetum prowadzi do sterility pyłku [Kawanabe i in. 2006]. U słonecznika cytoplazma sterylizująca PET1 powoduje przedwczesną PCD komórek tapetum, co związane jest z przedwczesnym uwalnianiem cytochromu c z mitochondriów do cytozolu [Balk i Leaver 2001]. Jednakże mechanizm, za pomocą którego indukowany jest ten proces, pozostaje niejasny. Nieprawidłową PCD zaobserwowano również w pylnikach ryżu z cytoplazmą HL na poziomie tetrad i wczesnym jednojądrowym, związanych z nadmiarem produkcji reaktywnych form tlenu (ang. ROS – reactive oxygen species) [Li i in. 2004].

W modelu cytotoksyczności produkty białkowe powstające w komórkach roślin z cytoplazmą sterylizującą są bezpośrednią przyczyną śmierci komórki. Pierwszym odkrytym białkiem takiego typu było białko T-URF13 u kukurydzy z CMS-T, które jest toksyczne dla wielu komórek eukariotycznych [Korth i in. 1993], a także dla *Escherichia coli* [Korth i in. 1991]. W wielu przypadkach przywrócenie płodności następuje poprzez

zmniejszenie produkcji toksycznych białek (bez redukcji ilości transkryptu). Takie zjawisko zaobserwowano u kukurydzy [Dewey i in. 1991], fasoli zwyczajnej [Sarria i in. 1998], kapusty [Landgren i in. 1996], rzodkiewki [Uyttewaal i in. 2008] i ryżu [Itabashi i in. 2011]. Jednak w co najmniej jednym systemie CMS kukurydzy (CMS-T) istnieją dowody na to, że płodność jest przywracana poprzez degradację toksycznych białek [Liu i in. 2001]. Część białek odpowiedzialnych za CMS to białka transbłonowe o masie 10–35 kDa zawierające region hydrofobowy, który jest typowy dla białek cytotoksycznych [Levings 1993].

Działanie CMS jest ściśle związane z komunikacją między jądrem komórkowym a mitochondrium i vice versa [Rose i Sheahan 2001]. Wyróżnia się sygnalizację „do przodu” (ang. anterograde) oraz wsteczną (ang. retrograde). W pierwszym przypadku to jądro komórkowe reguluje pracę organelli. W drugim sygnały emitowane z organelli wpływają na genom jądrowy [Yurina i Odintsova 2011]. Sterylizujące działanie cytoplazmy wiąże się z mechanizmem wstecznej sygnalizacji (retrograde). Wsteczną regulację zwykle bada się na systemach z zaburzonymi funkcjami mitochondriów wywołanych przez mutacje, środki chemiczne lub stropy abiotyczne i biotyczne. Dysfunkcja mitochondriów prowadzi do zmian w ekspresji genów jądrowych. Odpowiedzią roślin na mitochondrialne zaburzenia czynności jest indukcja ekspresji jądrowych genów kodujących białka zaangażowane w proces przywrócenia funkcjonowania mitochondriów (anterograde), takie jak alternatywne oksydazy (AO) lub alternatywne dehydrogenazy NADPH oraz geny kodujące antyoksydacyjne enzymy, takie jak transferaza glutationu, katalaza, peroksydaza askorbinianu i dysmutaza ponadtlenkowa, regulujące poziom reaktywnych form tlenu. Niekompatybilność genomu jądrowego i mitochondrialnego jest podłożem do powstawania cytoplazmatycznej męskiej sterility u roślin [Fujii i Toriyama 2008]. Poznanie interakcji pomiędzy genomami komórkowymi może mieć istotne znaczenie zarówno dla zrozumienia zjawiska cytoplazmatycznej męskiej sterility, jak i przywracania płodności u roślin.

JĄDROWE GENY PRZYWRACANIA PŁODNOŚCI

U wielu gatunków roślin męską płodność można przywrócić za pomocą jednego lub kilku jądrowych genów *Rf* [Tan i in. 2015] w różnym stopniu odpowiedzialnych za zmienność cechy [Wang i in. 2013]. Geny te kompensują lub inaktywują działanie sterylizujących czynników mitochondrialnych [Touzet i Meyer 2014], korygując zaburzenia rozwoju pyłku [Ivanov i Dymshits 2007].

Opisane w literaturze jądrowe geny przywracania płodności często należą do rodziny PPR (ang. pentatricopeptide repeat protein). Geny rodziny PPR występują zarówno w chloroplastach, mitochondriach, jak i w jądrze komórkowym [Nakamura 2012], a produkty ich ekspresji są odpowiedzialne za regulację transkrypcji [Schmitz-Linneweber i Small 2008]. Białka PPR mają pośredni wpływ na biogenezę organelli i ich funkcje, a tym samym na fotosyntezę, oddychanie, rozwój roślin i odpowiedzi środowiskowe [Barkan i Small 2014]. Zaburzenia w budowie lub funkcjonowaniu PPR powodują dysfunkcje organelli komórkowych. Roślinne białka PPR możemy podzielić na dwie podrodziny: podrodzinę PLS oraz podrodzinę P. Podrodzina białek PLS (lub PCMP ang. plant combinatorial and modular proteins) uczestniczy w redagowaniu transkryptów.

Większość zidentyfikowanych genów przywracania płodności pyłku kompensujących cytoplazmatyczno-jądrową męską sterility należy do podrodziny P [Geddy i Brown 2007]. Geny tej rodziny klasyfikowane są w oparciu o C-kończącą strukturę domeny kodowanych białek [Sharma i in. 2012]. Białka z podrodziny P wiążą swój docelowy RNA silniej niż białka PLS. Pierwszy gen kodujący PPR (Rf-PPR592) powiązany z przywracaniem płodności pyłku zidentyfikowano u petunii [Bentolila i in. 2002]. Gen ten zbudowany jest z 11 stałych motywów. Produkt translacji tego genu odpowiada za eliminację białka PCF (białko specyficzne dla CMS, kodowane przez gen chimeryczny składający się z otwartej ramki odczytu *atp9*, fragmentu dwóch eksonów *cox2* oraz orf o nieznanym pochodzeniu – *URF-S*) i znajduje się w obrębie kompleksu białkowego o wysokiej masie cząsteczkowej związanego z błoną mitochondrialną [Gillman i in. 2007]. Geny PPR są odpowiedzialne za przywracanie płodności u rzepaku (*Brassica napus*). W tym przypadku białko kodowane przez PPR – *Rfo* – zmniejsza stężenie związanego z CMS białka ORF138 [Fujii i Toriyama 2009].

Nie wszystkie znane geny przywracania płodności pyłku należą do rodziny PPR. Przykładem są geny *Rf2* u kukurydzy [Skibbe i in. 2002] oraz *Rf2* [Itabashi i in. 2011] i *Rf17* [Fujii i Toriyama 2009] u ryżu. Gen *Rf2* kukurydzy koduje dehydrogenazę aldehydową [Kim i in. 2010], która pośrednio hamuje działanie toksycznego dla pylników białka T-URF13 [Majewska-Sawka i Sadoch 2003]. Uważa się, że białko T-URF13 jest odpowiedzialne zarówno za występowanie CMS [Iwabuchi i in. 1999], jak i za podatność kukurydzy na patogeny grzybowe *Bipolaris maydis* i *Phyllosticta maydis*. T-URF13 działa jako receptor, który specyficznie wiąże toksynę T poprzez wytworzenie hydrofilowych porów w wewnętrznej błonie mitochondrialnej [Rhoads i in. 1995]. Przypuszcza się, że dehydrogenaza aldehydowa może być zaangażowana w detoksykację aldehydu octowego wytwarzanego podczas fermentacji etanolowej w trakcie rozwoju pyłku lub wchodzić w interakcje z T-URF13, hamując jego toksyczność [Cui i in. 1996]. Natomiast gen *Rf2* u ryżu koduje białko [Itabashi i in. 2011] zawierające domenę bogatą w glicynę [Matsuhira i in. 2012]. Inny gen, *Rf17*, zidentyfikowany u ryżu koduje białko zawierające segment podobny do białkowej syntetazy przenoszącej grupy acetylowe [Fujii i Toriyama 2009].

PRAKTYCZNE ASPEKTY ZJAWISKA CMS

Cytoplazmatyczno-jądrowa męska sterility jest zjawiskiem szeroko wykorzystywanym w hodowli wielu roślin uprawnych. Zjawisko to ma dwojakie znaczenie dla hodowli. Po pierwsze uważa się, że może prowadzić do zwiększenia efektu heterozji [Tsafaris 1995]. Po drugie umożliwia kontrolę nad licencjonowanym materiałem siewnym [Arseniuk i Oleksiak 2013].

Zjawisko heterozji nie jest do końca poznane. Wiadomo jednak, że prowadzi do zwiększenia biomasy, wzrostu tempa rozwoju i płodności [Birchler i in. 2010], przyczynia się do odporności na choroby i szkodniki, powoduje, że formy mieszańcowe dają lepsze wyniki hodowlane niż formy rodzicielskie [Hochholdinger i Hoecker 2007]. Zainteresowanie hodowli cytoplazmatyczno-jądrową męską sterility wynika z możliwości osiągnięcia zwiększonego efektu heterozji w wyniku rozdzielania form rodzicielskich na formę ojcowską i mateczną [Duvick 1959], wyrównaniem odmian [Kaeppeler 2012] oraz

ich stabilnością [Święcicki i in. 2011]. Odmiany heterozyjne cechuje zwykle podwyższony plon, który w zależności od gatunku czy wręcz odmiany może wahać się od kilku do kilkudziesięciu procent w stosunku do linii rodzicielskich [Święcicki i in. 2011]. Wykorzystanie zjawiska heterozji w hodowli heterozyjnej kukurydzy opartej na cytoplazmie T umożliwiło czterokrotne zwiększenie rocznego plonu ziarna na przestrzeni XX wieku [Fu i in. 2014]. Innym przykładem hodowli heterozyjnej jest hodowla ryżu, którego mieszańce dają plon wyższy o około 15–20% niż najlepsze komercyjne odmiany populacyjne uprawiane w podobnych warunkach [Pranathi i in. 2016]. Hodowlę heterozyjną prowadzi się także u buraka, sorgo, cebuli (*Allium cepa*), bakłażana (*Solanum melongena*), pomidora (*Solanum lycopersicum*), papryki (*Capsicum*), bawełny, słonecznika czy rzepaku [Fu i in. 2014]. U roślin zbożowych na uwagę zasługuje hodowla heterozyjna żyta (*Secale cereale*) czy też rozwijana w Polsce hodowla pszenżyta (*Triticosecale* sp.) [Labudda i in. 2011].

Pierwsza odmiana heterozyjna żyta bazująca na CMS PAMPA została wprowadzona w Niemczech w 1984 r. [Miedaner i in. 2000]. Obecnie praktycznie cała hodowla gatunku bazuje na CMS Pampa, a odmiany są uprawiane głównie w Niemczech oraz Europie Środkowej [Geiger i Miedaner 2009]. Dane z 2018 r. z COBORU (Centralny Ośrodek Badań Odmian Roślin Uprawnych) i badania PDO (Porejestrowe Doświadczalnictwo Odmianowe) dowodzą, że najstabsza odmiana heterozyjna żyta plonuje lepiej od odmian populacyjnych o około 14%, a odmiany najlepsze nawet o 29% [<http://www.kws-zboza.pl>]. Biorąc pod uwagę, że hodowla heterozyjna żyta jest zdominowana przez spółki z Niemiec oraz znając możliwości finansowe polskiej hodowli, postęp hodowlany w kraju jest ograniczony, a odmiany polskie często nie dorównują niemieckim.

Kolejnym gatunkiem zboża, dla którego rozwijany jest system CMS, jest pszenżyto. Obecnie hodowla tego gatunku bazuje na cytoplazmie *T. timopheevii* [Góral 2002], choć prowadzone są prace, których celem jest wykorzystanie CMS Pampa. Niektóre formy mieszańcowe F1 pszenżyta ozimego otrzymane z wykorzystaniem systemu męskiej sterylności *T. timopheevii* wykazały wzrost plonu ziarna w zakresie 10–20% [Góral 2001]. Niestety, nieznaną genetycznych podstaw zjawiska sprawia, że istnieje szereg problemów wymagających uwagi. W pierwszej kolejności należy określić liczbę genów odpowiedzialnych za ekspresję cechy [Góral i in. 2010] oraz ich znaczenie, by móc racjonalnie poszukiwać form zdolnych do utrzymania sterylności pyłku (podstawowy problem w hodowli pszenżyta z CMS-T). Należy również podjąć działania nad rozszerzeniem puli genowej pszenżyta, by zwiększyć różnorodność genetyczną gatunku.

Na uwagę zasługuje rola polskich hodowców w hodowli heterozyjnej rzepaku. System CMS typu *Ogura* jest ogólnie dostępny i aktualnie najczęściej stosowany przez większość liczących się europejskich hodowli [<http://www.tvagro.pl>]. Płodne formy heterozyjne wyhodowane w systemie *Ogura* plonują o około 10–15% lepiej w porównaniu z odmianami populacyjnymi [www.farmer.pl] i charakteryzują się lepszą zimotrwałością, a także większą tolerancją na warunki stresowe, tolerancją na większość chorób grzybowych oraz odpornością na osypywanie się nasion [<https://www.dekalb.pl>]. Jednak główną zmianą i największym sukcesem w hodowli rzepaku w Polsce było wyeliminowanie z jego składu antyżywnościowego kwasu erukowego oraz zmniejszenie zawartości niekorzystnych glukozyzolanów [Rutko 2011].

Faktem jest, że hodowla heterozyjna rozwija się dzięki możliwości kontroli licencjonowanego materiału siewnego [Jerzak i Mikulski 2011]. Spółki hodowlane są zaintereso-

sowane sprzedażą nowych form i ich produkcją, gdyż taki rodzaj hodowli zapewnia stały dochód. Wydaje się, że jest to główna siła napędowa tego kierunku hodowlanego, gdyż dane statystyczne sugerują, iż wzrost plonu odmian heterozyjnych niekoniecznie jest aż tak duży, jak tego należałoby oczekiwać. Bez wątplenia zainteresowanie hodowlą heterozyjną u gatunków roślin uprawnych będzie elementem strategicznym również spółek hodowlanych w Polsce.

Podziękowania

Serdecznie dziękuję prof. dr hab. P.T. Bednarkowi i dr Z. Rybce za cenne wskazówki i pomoc w redagowaniu pracy.

PIŚMIENNICTWO

- Andersen W.R., 1963. Cytoplasmic sterility in hybrids of *Lycopersicon esculentum* and *Solanum pennellii*. Rep. Tomato Genet. Coop. Rept. 13, 7–8.
- Arseniuk E., Oleksiak T., 2013. Stosowanie kwalifikowanego materiału siewnego a efekty produkcji zbóż. W: Zboża wysokiej jakości. Poradnik dla producentów. Warszawa, 1–5.
- Balk J., Leaver C.J., 2001. The PET1-CMS mitochondrial mutation in sunflower is associated with premature programmed cell death and cytochrome c release. *Plant Cell* 13, 1803–1818, <https://doi.org/10.1105/TPC.010116>.
- Balk J., Pilon M., 2011. Ancient and essential: the assembly of iron-sulfur clusters in plants. *Trends Plant Sci.* 16(4), 218–226, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.12.006>.
- Barkan A., Small I., 2014. Pentatricopeptide repeat proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65, 415–442, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040159>.
- Bentolila S., Alfonso A.A., Hanson M.R., 2002. A pentatricopeptide repeat-containing gene restores fertility to cytoplasmic male-sterile plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99(16), 10887–10892, <https://doi.org/10.1073/pnas.102301599>.
- Birchler J.A., Yao H., Chudalayandi S., Vaiman D., Veitia R.A., 2010. Heterosis. *Plant Cell*, tpc-110, DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.110.076133>.
- Bohra A., Jha U.C., Adhimooolam P., Bisht D., Singh N.P., 2016. Cytoplasmic male sterility (CMS) in hybrid breeding in field crops. *Plant Cell Rep.* 35(5), 967–993, <https://doi.org/10.1007/s00299-016-1949-3>.
- Bonen L., 2008. Cis- and trans-splicing of group II introns in plant mitochondria. *Mitochondrion* 8, 26–34, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.09.005>.
- Budar F., Pelletier G., 2001. Male sterility in plants: occurrence, determinism, significance and use. *Com. Ren. Acad. Sci. Ser. III-Sci. Vie-Life Sci.* 324(6), 543–550, [https://doi.org/10.1016/S0764-4469\(01\)01324-5](https://doi.org/10.1016/S0764-4469(01)01324-5).
- Chambers C., Shuai B., 2009. Profiling microRNA expression in *Arabidopsis* pollen using microRNA array and real-time PCR. *BMC Plant Biol.* 9(1), 87, <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-87>.
- Chase C.D., 2007. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial – nuclear interactions. *Trends Genet.* 23, 81–90, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2006.12.004>.
- Chen L., Liu Y.G., 2014. Male Sterility and Fertility Restoration in Crops. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65, 579–606, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040119>.

- Chen Z., Zhao N., Li S., Grover C.E., Nie H., Wendel, J.F., Hua, J., 2017. Plant mitochondrial genome evolution and cytoplasmic male sterility. *Crit. Rev. Plant Sci.* 36(1), 55–69, <https://doi.org/10.1080/07352689.2017.1327762>.
- Cui X., Wise R.P., Schnable P.S., 1996. The rf2 nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. *Science* 327(5266), 1334–1336, <https://doi.org/10.1126/science.272.5266.1334>.
- Dewey R.E., Timothy D.H., Levings III C.S., 1991. Chimeric mitochondrial genes expressed in the C male-sterile cytoplasm of maize. *Curr. Genet.* 20, 475–482, <https://doi.org/10.1007/BF00334775>.
- Duvick D.N., 1959. The use of cytoplasmic male-sterility in hybrid seed production. *Econ. Bot.* 13(3), 167–195, <https://doi.org/10.1007/BF02860581>.
- Eckardt N.A., 2006. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Plant Cell* 18(3), 515–517, <https://doi.org/10.1105/tpc.106.041830>.
- Fu D., Xiao M., Hayward A., Fu Y., Liu G., Jiang G., Zhang H., 2014. Utilization of crop heterosis: a review. *Euphytica* 197(2), 161–173, <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1103-7>
- Fujii S., Toriyama K., 2008. Genome Barriers between nuclei and mitochondria exemplified by cytoplasmic male sterility. *Plant Cell Physiol.* 49(10), 1484–1494, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn102>.
- Fujii S., Toriyama K., 2009. Suppressed expression of retrograde-regulated male sterility restores pollen fertility in cytoplasmic male sterile rice plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106(23), 9513–9518, <https://doi.org/10.1073/pnas.0901860106>.
- Fukasawa H., 1953. Studies on restoration and substitution of nucleus in *Aegilotriticum*. Appearance of male-sterile durum in substitution crosses. *Cytologia* 18(2), 167–175, <https://doi.org/10.1508/cytologia.18.167>.
- Gallagher L.J., Betz S.K., Chase C.D., 2002. Mitochondrial RNA editing truncates a chimeric open reading frame associated with S male-sterility in maize. *Curr. Genet.* 42, 179–184, <https://doi.org/10.1007/s00294-002-0344-5>.
- Geddy R., Brown G.G., 2007. Genes encoding pentatricopeptide repeat (PPR) proteins are not conserved in location in plant genomes and may be subject to diversifying selection. *BMC Genomics* 8, 130, <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-130>.
- Geiger H.H., Schnell F.W., 1970. Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). *Crop Sci.* 10, 590–593, <https://doi.org/10.2135/cropsci1970.0011183X001000050043x>.
- Geiger H.H., Miedaner T., 2009. Rye breeding. *Cereals* 3, 157–181.
- Gillman J.D., Bentolila S., Hanson M.R., 2007. The petunia restorer of fertility protein is part of a large mitochondrial complex that interacts with transcripts of the CMS-associated locus. *Plant J.* 49(2), 217–227, <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2006.02953.x>.
- Gillman J.D., Bentolila S., Hanson M.R., 2009. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration in petunia. In: Gerats T., Strommer J. (eds.). *Petunia*. Springer, New York, 107–129, <https://doi.org/10.1007/978-0-387-84796-2>.
- Gobron N., Waszczak C., Simon M., Hiard S., Boivin S., Charif D., Ducamp A., Wenes E., Budar F., 2013. A cryptic cytoplasmic male sterility unveils a possible gynodioecious past for *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* 8(4), e62450, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062450>
- Góral H., 2001. Mieszańce F1 pszenżyta ozimego z cytoplazm *Triticum timopheevi*. *Biul. IHAR* 220, 81–90.
- Góral H., 2002. Production of triticale (X *Triticosecale* Wittm.) hybrid seeds using the sterilizing cytoplasm of *Triticum timopheevi*. *Cereal Res. Commun.* 30, 31–38, JSTOR, www.jstor.org/stable/23787234.

- Góral H., Stojalowski S., Tyrka M., Wedzony M., 2010. Inheritance of fertility restoration in winter triticale with cytoplasm of *Triticum timopheevi*. Folia Pom. Univ. Technol. Stetin. Agric., Aliment., Pisc.t Zootech., 13, 11–18.
- Gray M.W., Burger G., Lang B.F., 1999. Mitochondrial evolution. Science 283(5407), 1476–1481, <https://doi.org/10.1126/science.283.5407.1476>.
- Grelon M., Budar F., Bonhomme S., Pelletier G., 1994. Ogura cytoplasmic male-sterility (CMS)-+associated orf138 is translated into a mitochondrial membrane polypeptide in male-sterile *Brassica* hybrids. Mol. Gen. Genet. 243, 540–547, <https://doi.org/10.1007/BF00284202>.
- Handa H., 2003. The complete nucleotide sequence and RNA editing content of the mitochondrial genome of rapeseed (*Brassica napus* L.), comparative analysis of the mitochondrial genomes of rapeseed and *Arabidopsis thaliana*. Nucl. Acids Res. 31(20), 5907–5916, <https://doi.org/10.1093/nar/gkg795>.
- Hegde R.R., Naik S.S., Halappanavar S.P., 1992. Mechanism of male sterility in *Nicotiana tabacum* L. Cytologia 57, 167–172, <https://doi.org/10.1508/cytologia.57.167>.
- Hochholdinger F., Hoecker N., 2007. Towards the molecular basis of heterosis. Trends Plant Sci. 12(9), 427–432, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.08.005>.
- Horn R., Gupta K.J., Colombo N., 2014. Mitochondrion role in molecular basis of cytoplasmic male sterility. Mitochondrion 19, 198–205, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.04.004>.
- Horvath S.E., Daum G., 2013. Lipids of mitochondria. Prog. Lipid Res. 52(4), 590–614, <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.07.002>.
- Howard W., Kempken F., 1997. Cell type-specific loss of atp6 RNA editing in cytoplasmic male sterile Sorghum bicolor. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94, 11090–11095, <https://doi.org/10.1073/pnas.94.20.11090>.
- <http://www.farmer.pl/produkcja-roslinna/zboza/odmiany-mieszanecowe,51310.html> [dostęp 07.01.2019].
- <http://www.tvagro.pl/PL-H23/3/2035/na-czym-polega-hodowla-rzepaku-w-systemie-ogura.html> [dostęp 09.01.2019].
- <https://www.dekalb.pl/rzepak/nasiona-rzepak/cechy-mieszanecow-dekalb/mieszance-zrestorowane-wyhodowane-w-systemie-ogura> [dostęp 10.01.2019].
- Hu J., Huang W., Huang Q., Qin X., Dan Z., Yao G., Zhu Y., 2013. The mechanism of ORFH79 suppression with the artificial restorer fertility gene Mt-GRP162. New Phytol. 199(1), 52–58, <https://doi.org/10.1111/nph.12310>.
- Hu J., Yi R., Zhang H., Ding Y., 2013. Nucleo-cytoplasmic interactions affect RNA editing of cox2, atp6 and atp9 in alloplasmic male-sterile rice (*Oryza sativa* L.) lines. Mitochondrion 13, 87–95, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2013.01.011>.
- Itabashi E., Iwata N., Fujii S., Kazama T., Toriyama K., 2011. The fertility restorer gene, Rf2, for Lead Rice-type cytoplasmic male sterility of rice encodes a mitochondrial glycine-rich protein. Plant J. 65, 359–367, <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04427.x>.
- Ivanov M.K., Dymshits G.M., 2007. Cytoplasmic male sterility and restoration of pollen fertility in higher plants. Russ. J. Genet. 43(4), 354–368, <https://doi.org/10.1134/S1022795407040023>.
- Iwabuchi M., Koizuka N., Fujimoto H., Sakai T., Imamura J., 1999. Identification and expression of the kosenia radish (*Raphanus sativus* cv. Kosenia) homologue of the ogura radish CMS-associated gene, orf138. Plant Mol. Biol. 39, 183–188, <https://doi.org/10.1023/A:1006198611371>.
- Jerzak M.A., Mikulski W., 2011. Rynkowa konkurencyjność krajowego nasiennictwa zbóż w świetle konsolidacji spółek hodowli roślin ANR. Zag. Ekon. Rol. (3), 134–142.

- Jin Z., Wu L., Cao J., Chen Z., Pei Y., 2013. TinII intron, an enhancer to affect the function of the cytoplasmic male sterility related gene T in *Brassica juncea*. *Sci. China Life Sci.* 56(12), 1107–1112, <https://doi.org/10.1007/s11427-013-4570-5>.
- Jing B., Heng S., Tong D., Wan Z., Fu T., Tu J., Shen J., 2011. A male sterility-associated cyto-toxic protein ORF288 in *Brassica juncea* causes aborted pollen development. *J. Exp. Bot.* 63(3), 1285–1295, <https://doi.org/10.1093/jxb/err355>.
- Jones D.F., Stinson H.T., Khoo U., 1957. Pollen restoring genes. Connecticut Agricultural Experiment Station. CT Agr. Exp. Stu. Bull. Immed. Info. 62, 213–217.
- Joppa L.R., McNeal F.H., Welsh J.R., 1966. Pollen and Anther development in cytoplasmic male sterile wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Sci.* 6(3), 296–297, <https://doi.org/10.2135/cropsci1966.0011183X000600030026x>.
- Kaeppler S., 2012. Heterosis, many genes, many mechanisms—end the search for an undiscovered unifying theory. *ISRN Bot.* 1–12, <https://doi.org/10.5402/2012/682824>.
- Kang L., Li P., Wang A., Ge X., Li Z., 2017. A novel cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* (inap CMS) with carpelloid stamens via protoplast fusion with Chinese woad. *Front. Plant Sci.* 8, 529, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00529>
- Kawanabe T., Ariizumi T., Kawai-Yamada M., Uchimiya H., Toriyama K., 2006. Abolition of the tapetum suicide program ruins microsporogenesis. *Plant Cell Physiol.* 47, 784–787, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcj039>.
- Kim K., Lee Y.P., Lim H., Han T., Sung S.K., Kim S., 2010. Identification of Rfd1, a novel restorer-of-fertility locus for cytoplasmic male-sterility caused by DCGMS cytoplasm and development of simple PCR markers linked to the Rfd1 locus in radish (*Raphanus sativus* L.). *Euphytica* 175(1), 79–90, <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0190-3>.
- Korth K.L., Kaspi C.I., Siedow J.N., Levings C.S., 1991. URF13, a maize mitochondrial pore-forming protein, is oligomeric and has a mixed orientation in *Escherichia coli* plasma membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 10865–10869, <https://doi.org/10.1073/pnas.88.23.10865>.
- Korth K.L., Levings C.S., 1993. Baculovirus expression of the maize mitochondrial protein URF13 confers insecticidal activity in cell cultures and larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 3388–3392, <https://doi.org/10.1073/pnas.90.8.3388>.
- Labudda M., Machczyńska J., Woś H., Bednarek P.T., 2011. Wybrane aspekty postępu biologicznego w hodowli pszenżyta (\times Triticosecale WITTM. ex A.CAMUS). *Post. Nauk Rol.* 63(4), 3–10.
- Landgren M., Zetterstrand M., Sundberg E., Glimelius K., 1996. Alloplasmic male-sterile *Brassica* lines containing *B. tournefortii* mitochondria express an ORF 3' of the *atp6* gene and a 32 kDa protein. *Plant Mol. Biol.* 32(5), 879–890, <https://doi.org/10.1007/BF00020485>.
- Laser K.D., Lersten N.R., 1972. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *Bot. Rev.* 38(3), 425–454, <https://doi.org/10.1007/BF02860010>.
- Law S.R., Narsai R., Whelan J., 2014. Mitochondrial biogenesis in plants during seed germination. *Mitochondrion* 19, 214–221, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.04.002>.
- Leino M., Teixeira R., Landgren M., Glimelius K., 2003. *Brassica napus* lines with rearranged *Arabidopsis* mitochondria display CMS and a range of developmental aberrations. *Theor. Appl. Genet.* 106(7), 1156–1163, <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1167-y>.
- Leśniewska J., 2003. Tapetum pylnikowe w aspekcie programowanej śmierci komórki. *Kosmos. Probl. Nauk Biol.* 52(4), 399–412.
- Levings C.S., 1993. Thoughts on cytoplasmic male sterility in cms-T maize. *Plant Cell* 5, 1285–1290, <https://dx.doi.org/10.1105/2Ftpc.5.10.1285>.
- L'Homme Y., Stahl R.J., Li X.Q., Hameed A., Brown G.G., 1997. *Brassica napus* cytoplasmic male sterility is associated with expression of a mtDNA region containing a chimeric gene similar to the *pol* CMS-associated *orf224* gene. *Curr. Genet.* 31(4), 325–335, <https://doi.org/10.1007/s002940050212>.

- Li S., Wan C., Kong J., Zhang Z., Li Y., Zhu Y., 2004. Programmed cell death during microgenesis in a Honglian CMS line of rice is correlated with oxidative stress in mitochondria. *Funct. Plant Biol.* 31, 369–376, <https://doi.org/10.1071/FP03224>.
- Li J., Pandeya D., Jo Y.D., Liu W.Y., Kang B.C., 2013. Reduced activity of ATP synthase in mitochondria causes cytoplasmic male sterility in chili pepper. *Planta* 237(4), 1097–1109, <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1824-6>.
- Li Y., Liu T., Duan W., Song X., Shi G., Zhang J., Hou X., 2014. Instability in mitochondrial membranes in Polima cytoplasmic male sterility of *Brassica rapa* ssp. *chinensis*. *Funct. Integr. Genom.* 14(2), 441–451, <https://doi.org/10.1007/s10142-014-0368-1>.
- Liberatore K.L., Dukowic-Schulze S., Miller M.E., Chen C., Kianian S.F. 2016. The role of mitochondria in plant development and stress tolerance. *Free Radic. Biol. Med.* 100, 238–256, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.033>.
- Liu F., Cui X., Horner H.T., Weiner H., Schnable P.S., 2001. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. *Plant Cell* 13, 1063–1078, <https://doi.org/10.1105/tpc.13.5.1063>.
- Luan J., Liu T., Luo W., Liu W., Peng M., Li W., Dai X., Liang M., Chen L., 2013. Mitochondrial DNA genetic polymorphism in thirteen rice cytoplasmic male sterile lines. *Plant cell reports* 32(4), 545–554, <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1386-5>.
- Majewska-Sawka A., Sadoch Z., 2003. Cytoplazmatyczna męska sterility roślin – mechanizmy biologiczne i molekularne. *Kosmos. Probl. Nauk Biol.* 4(52), 413–423.
- Martin M. V., Distéfano A.M., Bellido A., Córdoba J.P., Soto D., Pagnussat G.C., Zabaleta E., 2014. Role of mitochondria during female gametophyte development and fertilization in *A. thaliana*. *Mitochondrion* 19, 350–356, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.01.005>.
- Matsuhira H., Kagami H., Kurata M., Kitazaki K., Matsunaga M., Hamaguchi Y., Hagihara E., Ueda M., Harada M., Muramatsu A., Yui-Kurino R., Taguchi K., Tamagake H., Mikami T., Kubo T., 2012. Unusual and Typical Features of a Novel Restorer-of-Fertility Gene of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *Genetics* 192(4), 1347–1358, <https://doi.org/10.1534/genetics.112.145409>.
- Maunder A.B., Pickett R.C., 1959. The genetic inheritance of cytoplasmic-genetic male sterility in grain sorghum. *Agron. J.* 51(1), 47–49, <https://doi.org/10.2134/agronj1959.00021962005100010016x>.
- Miedaner T., Glass C., Dreyer F., Wilde P., Wortmann H., Geiger H.H., 2000. Mapping of genes for male-fertility restoration in 'Pampa' CMS winter rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 101(8), 1226–1233, <https://doi.org/10.1007/s001220051601>.
- Millar A.H., Whelan J., Soole K.L., Day D.A., 2011. Organization and regulation of mitochondrial respiration in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 79–104, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103857>.
- Nadot S., Furness C.A., Sannier J., Penet L., Triki-Teurtroy S., Albert B., Ressayre A., 2008. Phylogenetic comparative analysis of microsporogenesis in angiosperms with a focus on monocots. *Am. J. Bot.* 95(11), 1426–1436, <https://doi.org/10.3732/ajb.0800110>.
- Nakamura T., Yagi Y., Kobayashi K., 2012. Mechanistic insight into pentatricopeptide repeat proteins as sequence-specific RNA-binding proteins for organellar RNAs in plants. *Plant Cell Physiol.* 53(7), 1171–1179, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcs069>.
- Pranathi K., Viraktamath B.C., Neeraja C.N., Balachandran S.M., Hari Prasad A.S., Koteswara Rao P., Revathi P., Senguttuvel P., Hajira S.K., Balachiranjeevi C.H., Bhaskar Naik S., Abhilash V., Praveen M., Parimala K., Kulkarni S.R., Anila M., Rekha G., Koushik M.B.V.N., Kemparaju B., Madhav M.S., Mangrauthia S.K., Harika G., Dilip T., Kale R.R., Vishnu Prasanth V., Ravindra Babu V., Sundaram R.M., 2016. Development and validation of candidate gene-specific markers for the major fertility restorer genes, Rf4 and Rf3 in rice. *Mol. Breed.* 36(145), 1–14, <https://doi.org/10.1007/s11032-016-0566-8>.

- Raghavan V., 1997. Molecular embryology of flowering plants. Gametogenesis. Cambridge University Press, USA.
- Raghavan V., 2000. Developmental biology of flowering plants. microsporogenesis and formation of the male gametophyte. Springer-Verlag, New York, 186–215, <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1234-8>.
- Rébeillé F., Alban C., Bourguignon J., Ravanel S., Douce R., 2007. The role of plant mitochondria in the biosynthesis of coenzymes. *Photosynth. Res.* 92(2), 149–162, <https://doi.org/10.1007/s11120-007-9167-z>.
- Rhoads D.M., Levings C.S., Siedow J.N., 1995. URF13, a ligand-gated, pore-forming receptor for T-toxin in the inner membrane of cms-T mitochondria. *J. Bioenerg. Biomembr.* 27(4), 437–445, <https://doi.org/10.1007/BF02110006>.
- Rohrbach U., 1965. Beiträge zum Problem der Pollensterilität bei *Beta vulgaris* L. Untersuchungen über die Ontogenese des Phanotyps. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung* 53(2), 105–124.
- Rose R.J., Sheahan M.B., 2001. Plant mitochondria. eLS, <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001680.pub2>.
- Rutko T., 2011. Uprawa rzepaku ozimego, rzepak – zasady uprawy – zdrowa żywność. Poradnik dla producentów. Instytut Agrofizyki PAN, Lublin.
- Sakata T., Higashitani A., 2008. Male sterility accompanied with abnormal anther development in plants, genes and environmental stresses with special reference to high temperature injury. *Int. J. Plant. Dev. Biol.* 2, 42–51.
- Sarria R., Lyznik A., Vallejos E.C., Mackenzie S.A., 1998. A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial peptide in common bean is post-translationally regulated. *Plant Cell* 10(7), 1217–1228, <https://doi.org/10.1105/tpc.10.7.1217>.
- Schmitz-Linneweber C., Small I., 2008. Pentatricopeptide repeat proteins, a socket set for organelle gene expression. *Trends Plant Sci.* 13(12), 663–670, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.001>.
- Schnable P.S., Wise R.P., 1998. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends Plant Sci.* 3(5), 175–180, [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01235-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01235-7).
- Scoles G.J., Evans L.E., 1979. Pollen development in male-fertile and cytoplasmic male-sterile rye. *Can. J. Bot.* 57(24), 2782–2790, <https://doi.org/10.1139/b79-330>.
- Sharma B., Shinada T., Kifuji Y., Kitashiba H., Nishio T., 2012. Molecular mapping of a male fertility restorer locus of Brassica oleracea using expressed sequence tag-based single nucleotide polymorphism markers and analysis of a syntenic region in Arabidopsis thaliana for identification of genes encoding pentatricopeptide repeat proteins. *Mol. Breed.* 30(4), 1781–1792, <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9761-4>.
- Shi S., Ding D., Mei S., Wang J., 2010. A comparative light and electron microscopic analysis of microspore and tapetum development in fertile and cytoplasmic male sterile radish. *Protoplasma* 241(1–4), 37–49, <https://doi.org/10.1007/s00709-009-0100-5>.
- Skibbe D.S., Liu F., Wen T.J., Yandea M.D., Cui X., Cao J., Simmons C.R., Schnable P.S., 2002. Characterization of the aldehyde dehydrogenase gene families of Zea mays and Arabidopsis. *Plant Mol. Biol.* 48(5–6), 751–764, <https://doi.org/10.1023/A:1014870429630>.
- Sloan D.B., Alverson A.J., Chuckalovcak J.P., Wu M., McCauley D.E., Palmer J.D., Taylor D.R., 2012. Rapid evolution of enormous, multichromosomal genomes in flowering plant mitochondria with exceptionally high mutation rates. *PLoS Biol.* 10(1), 1–17, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001241>.
- Smyth D.R., Bowman J.L., Meyerowitz E.M., 1990. Early flower development in Arabidopsis. *Plant Cell* 2(8), 755–767, <https://doi.org/10.1105/tpc.2.8.755>.

- Sofi P.A., Rather A.G., Wani S.A., 2007. Genetic and molecular basis of cytoplasmic male sterility in maize. *Commun. Biometry Crop Sci.* 2(1), 49–60.
- Spasova M., John H., Nijkamp J., Hille J., 1993. Cytoplasmic male sterility in higher plants. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 7(4), 40–51, <https://doi.org/10.1080/13102818.1993.10818705>
- Stasolla C., Riko Katahira R., Trevor A., Thorpe T.A., Ashihara H., 2003. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 160, 1271–1295, <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01169>.
- Suzuki H., Yu J., Ness S., O'Connell M., Zhang J., 2013. RNA editing events in mitochondrial genes by ultra-deep sequencing methods, a comparison of cytoplasmic male sterile, fertile and restored genotypes in cotton. *Mol. Genet. Genom.* 288, 445–457, <https://doi.org/10.1007/s00438-013-0764-6>
- Święcicki W. K., Surma M., Koziara W., Skrzypczak G., Szukała J., Bartkowiak-Broda I., Zimny J., Banaszak Z., Marciniak K., 2011. Nowoczesne technologie w produkcji roślinnej – przyjazne dla człowieka i środowiska. *Pol. J. Agron.* 7, 102–112.
- Takenaka, M., Verbitskiy D., Zehrmann A., Härtel B., Bayer-Császár E., Glass F., Brennicke A., 2014. RNA editing in plant mitochondria-connecting RNA target sequences and acting proteins. *Mitochondrion* 19(B), 191–197, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.04.005>.
- Tan Y., Xu X., Wang C., Cheng G., Li S., Liu X., 2015. Molecular characterization and application of a novel cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial sequence in rice. *BMC Genet.* 16(1), 45, <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0205-0>.
- Tang H., Zheng X., Li C., Xie X., Chen Y., Chen L., Guo J., 2017. Multi-step formation, evolution, and functionalization of new cytoplasmic male sterility genes in the plant mitochondrial genomes. *Cell Res.* 27(1), 130–146, <https://doi.org/10.1038/cr.2016.115>.
- Touzet P., Meyer E.H., 2014. Cytoplasmic male sterility and mitochondrial metabolism in plants. *Mitochondrion* 19, 166–171, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.04.009>.
- Tsaftaris S. A., 1995. Molecular aspects of heterosis in plants. *Physiol. Plant.* 94(2), 362–370, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb05324.x>.
- Uyttewaal M., Arnal N., Quadrado M., Martin-Canadell A., Vrielynck N., Hiard S., Mireau H., 2008. Characterization of *Raphanus sativus* pentatricopeptide repeat proteins encoded by the fertility restorer locus for Ogura cytoplasmic male sterility. *Plant Cell* 20(12), 3331–3345, <https://doi.org/10.1105/tpc.107.057208>.
- Vinod K.K., 2005. Cytoplasmic genetic male sterility in plants. A molecular prospective. *Proceedings of the training programme on "Advances and Accomplishments in Heterosis Breeding"*. Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 147–162.
- Wang Z. W., Wang C., Gao L., Mei S. Y., Zhou Y., Xiang C. P., Wang T., 2013. Heterozygous alleles restore male fertility to cytoplasmic male-sterile radish (*Raphanus sativus* L.), a case of overdominance. *J. Exp. Bot.* 64(7), 2041–2048, <https://doi.org/10.1093/jxb/ert065>.
- Ward B.L., Anderson R.S., Bendich A.J., 1981. The mitochondrial genome is large and variable in a family of plants (Cucurbitaceae). *Cell* 25(3), 793–803, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(81\)90187-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(81)90187-2).
- Warmke H.E., Lee S-L.J., 1977. Mitochondrial degeneration in Texas cytoplasmic male-sterile corn anthers. *J. Hered.* 68, 213–222, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a108817>.
- Wei L., Yan Z. X., Ding Y., 2008. Mitochondrial RNA editing of F0-ATPase subunit 9 gene (atp9) transcripts of Yunnan purple rice cytoplasmic male sterile line and its maintainer line. *Acta Physiol. Planta.* 30, 657–662, <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0162-6>.

- Wei L.Q., Yan L.F., Wang T., 2011. Deep sequencing on genome-wide scale reveals the unique composition and expression patterns of microRNAs in developing pollen of *Oryza sativa*. *Genome Biol.* 12, R53, <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r53>.
- Winiarczyk K., 1999. Męska i żeńska sterylność u roślin kwiatowych. *Wiad. Bot.* 43(1/2), 37–45.
- Yamagishi H., Bhat S.R., 2014. Cytoplasmic male sterility in Brassicaceae crops. *Breed. Sci.* 64(1), 38–47, <https://doi.org/10.1270/jsbbs.64.38>.
- Yan J., Tian H., Wang S., Shao J., Zheng Y., Zhang H., Ding Y., 2014. Pollen developmental defects in ZD-CMS rice line explored by cytological, molecular and proteomic approaches. *J. Proteom.* 108, 110–123, <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.05.014>.
- Yang J., Liu X., Xu B., Zhao N., Yang X., Zhan, M., 2013. Identification of miRNAs and their targets using high-throughput sequencing and degradome analysis in cytoplasmic male-sterile and its maintainer fertile lines of *Brassica juncea*. *BMC Genom.* 14, 9, <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-9>.
- Yang P., Han J., Huang J., 2014. Transcriptome sequencing and de novo analysis of cytoplasmic male sterility and maintenance in JA-CMS cotton. *PLoS One* 9(11), e112320, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112320>.
- Yurina N., Odintsova M., 2011. Plant organelles-to-nucleus retrograde signaling. Abiotic stress response in plants-physiological, biochemical and genetic perspectives. *InTech* 3, 55–74.

Praca była finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach działalności statutowej Zakładu Biochemii i Fizjologii Roślin Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie.

Summary. The cytoplasmic male sterility (CMS) phenomenon in plants is the result of pollen development abortion. The abortion is usually due to incompatibility of nuclear and mitochondrial genomes interactions. Many models are pretending to explain CMS. However, molecular mechanisms of pollen sterility preservation, as well as its restoration in case of many species, are not well known, despite that breeding programs resulted in the evaluation of effective CMS systems, i.e. in cereals. The interest in hybrid breeding results from the opportunity of heterosis exploitation and to the efficient way of control over breeding materials. It is evident that hybrid breeding has, and would also have in the future, a crucial status in breeding companies due to economic reasons.

Key words: plants, cytoplasmic male sterility, mitochondrial DNA, open reading frames, *fertility restorer genes*

Otrzymano/ Received: 1.02.2019
Zaakceptowano/ Accepted: 18.03.2019