



作物育性调控和分子设计杂交育种前沿进展与展望

欧阳亦聃^{1*}, 陈乐天^{2*}

1. 华中农业大学生命科学技术学院, 作物遗传改良国家重点实验室, 国家植物基因研究中心(武汉), 武汉 430070;

2. 华南农业大学生命科学学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广州 510642

* 联系人, E-mail: lotichen@scau.edu.cn; diana1983941@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2021-05-28; 接受日期: 2021-08-03; 网络版发表日期: 2021-10-18

国家自然科学基金委员会-中国科学院联合项目(批准号: L192400064, XK2019SMC008)和国家自然科学基金项目(批准号: 31991223, 32030080)资助

摘要 作物育性调控不仅直接影响作物的产量, 同时也和作物杂种优势利用密切相关. 本文总结了作物雄性不育和杂种不育的遗传基础和分子调控机制的研究进展, 介绍了细胞质雄性不育及三系杂交育种应用, 光温敏雄性核不育系的建立及两系杂交育种应用, 作物智能不育分子设计育种体系的建立及其应用以及作物杂种育性的调控机制及其对远缘杂交育种的应用. 在此基础上分析了我国作物育性调控研究和分子设计杂交育种面临的瓶颈与对策, 并展望了作物育性调控和杂交育种技术未来的发展趋势和战略布局.

关键词 作物, 细胞质雄性不育, 细胞核雄性不育, 智能不育系, 杂种不育, 杂交育种

种子是由雌、雄配子结合受精后的胚珠发育而成的繁殖器官, 是作物繁衍后代的重要方式, 更是决定粮食作物产量的重要因素. 作物育性与种子的形成密切相关, 其调控涉及有性生殖发育的全过程, 包括花器官的发育和雌雄配子形成等一系列生长发育阶段. 该过程的任何变异都将或多或少影响作物的育性、产量和后代繁衍.

作物育性的调控由细胞核基因和胞质基因共同决定. 根据造成雄性不育的基因来源, 将作物雄性不育分为细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)和细胞核雄性不育(genic male sterility, GMS). 作物雄性不育是作物杂种优势利用的遗传基础, 在杂交育种中具有重要利用价值. 同时, 作物杂种优势的利用又受到杂种不育的限制, 是杂交育种需要突破的瓶颈. 因

此, 围绕与重要作物生产应用紧密相关的雄性不育和杂种不育现象, 本文将重点阐述其研究现状、发展趋势、研究瓶颈和突破重点.

1 作物育性调控的国内外研究现状

1.1 细胞质雄性不育及三系杂交育种应用

作物杂种优势利用最成熟的是三系杂交育种体系, 该体系包括细胞质雄性不育的不育系、保持系和恢复系. 不育系含细胞质雄性不育基因, 但缺乏核恢复基因, 表现为花粉不育、雌性可育、无法自交产生后代, 但可以作为母本接受保持系或恢复系的花粉产生杂交后代. 保持系既不含细胞质雄性不育基因, 也不含核恢复基因, 其花粉表现为可育. 保持系与细胞

引用格式: 欧阳亦聃, 陈乐天. 作物育性调控和分子设计杂交育种前沿进展与展望. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1385–1395

Ouyang Y D, Chen L T. Fertility regulation and molecular design hybrid breeding in crops (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 1385–1395, doi: 10.1360/SSV-2021-0172

质雄性不育系的杂种后代能保持雄性不育特性, 从而实现不育系的繁殖; 恢复系与不育系杂交, 用于生产具有杂种优势的可育杂交种. 利用细胞质雄性不育, 目前已在水稻、玉米、油菜、小麦、大豆等作物中实现三系杂交育种^[1].

细胞质雄性不育基因通常是由线粒体基因组发生重排、插入或缺失等结构变异形成的嵌合基因. 目前, 水稻细胞质雄性不育基因的研究较为深入, 生产上可用的野败型CMS(CMS-WA)、包台型CMS(CMS-BT)和红莲型CMS(CMS-HL)三类细胞质雄性不育基因均已被克隆. CMS-WA不育基因编码一个含352个氨基酸、在小孢子母细胞期的花药绒毡层中特异积累的跨膜蛋白WA352. 该蛋白与核编码蛋白COX11互作, 干扰其清除活性氧的功能, 导致花药绒毡层细胞内活性氧爆发, 引起细胞程序性死亡提前发生而产生花粉雄性不育^[2]. CMS-BT不育基因*orf79*则编码一个含79个氨基酸, 能在花药小孢子特异积累细胞毒素蛋白, 导致花粉败育^[3]. CMS-HL的不育基因*orfH79*与*orf79*编码的蛋白只有5个氨基酸的差异. ORFH79与一个电子传递链复合体III亚基P61互作并影响其酶活性, 导致能量供给紊乱和活性氧爆发, 最终引起花粉败育^[4,5]. 水稻三大细胞质雄性不育的恢复基因均已被克隆, 它们都编码PPR蛋白, 大都在转录后水平调控细胞质雄性不育基因的功能. CMS-WA不育系的恢复基因*Rf4*编码一个782个氨基酸的PPR蛋白, 可降低WA352转录本80%的丰度, 抑制细胞质雄性不育蛋白的功能, 从而恢复育性^[6]. CMS-BT不育系的恢复基因*Rf1*由*Rf1a*和*Rf1b*组成, 两者都编码具有线粒体定位信号的PPR蛋白. 它们分别以定点切割和完全降解的方式对*orf79*的转录本进行加工, 导致不育基因*orf79*的转录后基因功能沉默, 从而恢复花粉发育^[3].

玉米CMS主要有CMS-T, CMS-C和CMS-S三种类型^[7]. 其中CMS-C和CMS-T为孢子体败育类型(花粉育性由植株基因型决定), CMS-S为配子体败育类型(花粉育性由配子基因型决定). CMS-T不育基因*T-urf13*编码的线粒体内膜通道蛋白URF13通过影响线粒体内膜的通透性, 使电子传递失衡, 造成能量代谢过程紊乱, 进而导致花粉败育^[8,9]. CMS-T的恢复基因*Rf1*, *Rf8*和*Rf**, 都是通过降低不育基因*T-urf13*的表达量来恢复育性^[10]; 但与*Rf1*相比, *Rf8*和*Rf**的育性恢复能力较弱^[11]. *Rf2*编码的乙醛酸脱氢酶可能通过调控线粒体的能量

代谢通路, 起到育性恢复的作用^[12]. 玉米CMS-C已在生产上成功应用, 但是其CMS不育基因和恢复基因至今仍未被克隆. CMS-C胞质线粒体基因组中的*atp6-C*, *atp9*和*cox2-C*均存在异常重组, 推测*atp6-C*可能是不育基因^[13]. 玉米CMS-S在线粒体基因组的线性末端转录产生的1.6 kb的*orf355/orf77* RNA与雄性不育相关^[14,15]. 最新研究表明, 花药中特异表达的转录因子ZmDREB1.7能特异结合*orf355*的启动子并促进其表达, 而*orf355*编码的毒蛋白的积累可增强线粒体逆向信号, 调节ZmDREB1.7的转录, 形成质-核正反馈调控机制, 最终导致ORF355蛋白的积累和花粉败育; 而恢复基因可解除ORF355蛋白产生不育效应从而恢复育性^[16].

小麦属于六倍体(AABBDD)作物, 其基因组庞大且复杂, 因此小麦的CMS/Rf研究相对困难, 其CMS发生和育性恢复的分子机制研究与水稻、玉米等主粮作物相比相对滞后. 杂交小麦生产应用中, K, T和V三种胞质不育是“三系”杂交小麦的主要类型. CMS-K型小麦的不育胞质源于粘果山羊草(*Aegilops kotschy*), 是最有潜力的配子体败育类型, 但是其对应的强恢复系较少^[17]. CMS-K的不育基因及其主效恢复基因*Rfk1*和*Rfk2*至今仍未被克隆^[18]. 小麦CMS-T型不育系的胞质源于提莫菲维小麦, 是最稳定且应用最广泛的CMS类型. 最新研究表明, CMS-T型不育的恢复基因*Rf1*和*Rf3*分别是位于Chr1A的*RFL79*和Chr1B的*RFL29a*; 二者均编码PPR蛋白, 可在不同的位点结合并切割*orf279*转录本, 导致ORF279蛋白的积累减少, 从而恢复CMS-T的育性; 而且*Rf1*和*Rf3*对CMS-T的育性恢复有叠加效应, 但它们对*orf256*的转录本并没有切割或降解作用^[19].

油菜是重要的油料作物, 也是蛋白饲料的重要来源. 油菜细胞质雄性不育都是孢子体不育类型, 主要有波里马胞质雄性不育系(CMS-pol)、*nap*胞质雄性不育系(CMS-nap)、*tour*胞质雄性不育系(CMS-tour)、*hau*胞质雄性不育系(CMS-hau)和萝卜胞质雄性不育系(CMS-ogu)等^[1], 其中以CMS-pol和CMS-ogu在油菜“三系”杂交育种的应用最为广泛. CMS-pol是我国最先报道, 并在油菜杂交制种过程中大面积推广应用的不育类型^[20]. CMS-pol不育基因*orf224*与*atp6*共转录, 其恢复基因*Rfp*编码一种典型的P类PPR蛋白, 通过参与线粒体中*orf224-atp6*的转录后加工而恢复育性^[21]. CMS-ogu的不育细胞质来源于萝卜, 主要在欧洲推广

应用. CMS-ogu的不育基因*orf138*编码一个线粒体膜蛋白, 该蛋白的积累导致雄性不育; 恢复基因*Rfo*编码的线粒体定位蛋白PPR-B可以在转录后水平抑制花药绒毡层中ORF138蛋白的积累而恢复花粉育性^[22,23].

大豆杂种优势的利用和相关CMS基因与*Rf*基因的研究均落后于水稻、玉米、小麦、油菜等大田作物. 我国大豆细胞质雄性不育研究始于20世纪80年代. 孙寰等人于1993年育成了世界上第一个野生型大豆细胞质雄性不育系OA, 1995年育成了栽培大豆细胞质雄性不育系YA, 实现了“三系”配套, 并于2002年育成了世界上第一个大豆杂交种“杂交豆1号”^[24,25]. 目前, 生产上应用的大豆CMS不育系背景主要来源于RN型、ZD型、M型和N型, 并成功育成了ZA, NJCMS1A和阜CMS1A等一系列代表品种^[26-28], 为大豆杂种优势的利用做出了突出贡献.

1.2 光温敏雄性核不育及两系杂交育种应用

调控作物生殖发育过程的核基因, 尤其是涉及雌雄配子发育的减数分裂过程、绒毡层发育和程序性死亡, 以及决定花药角质层与花粉外壁形成相关的脂肪酸合成和转运的基因一旦发生突变, 通常都会产生核不育表型. 但这类核不育材料由于缺乏合适的保持系材料, 难以进行纯合不育系的繁衍, 无法直接用于生产. 而受环境因素影响的核不育材料, 如光温敏雄性核不育材料, 由于可以在特定条件下恢复育性, 光温敏雄性核不育系能同时作为不育系和保持系, 恢复谱广, 因此具有生产流程简单、配组自由等优势. 目前两系杂交稻在我国20个省市都有种植, 主要推广区域在长江中下游及华南稻区, 其中安徽和湖北的两系杂交稻种植面积已超过三系杂交稻^[29].

目前关于光温敏雄性核不育的分子机制研究主要集中在水稻中, 克隆的基因包括光敏不育基因*pms1*和*pms3*^[30,31], 温敏不育基因*tms5*, *TMS10*和*p/tms12-1*^[32-34], 以及反光敏不育基因*CSA*^[35,36]. 这些研究表明, 非编码RNA在水稻光温敏雄性核不育中发挥重要功能. *pms1*和*pms3*位点共同控制不育系农垦58S的光敏不育表型, 两者的功能具有重叠效应^[37]. 其中*pms1*在幼穗中高表达产生长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)*PMS1T*, 后者能够被miR2118剪切并生成phasiRNA; 在不育系中, 该基因的miR2118结合位点附近存在一个单核苷酸多态性

(single nucleotide polymorphism, SNP), 导致phasiRNA在长日照时大量积累并引起花粉败育^[31]. *pms3*同样转录产生一个lncRNA(命名为LDMAR), 在不育系农垦58S中一个碱基的突变造成LDMAR二级结构的改变, 导致其启动子区域甲基化程度的升高, 从而导致其转录水平下降, 最终引起该突变体在长日照下不育^[30]. 研究进一步发现, LDMAR启动子区的甲基化是由该区域中一个21 nt的小RNA Psi-LDMAR所介导^[38]. *pms3*和*p/tms12-1*为同一个基因, 转录产物均为lncRNA, 且不育突变位点一致, 但两者在粳稻(农垦58S)和籼稻(培矮64S)遗传背景下, 分别表现为对温度或者光周期敏感的不同表型^[32].

光温敏不育可归纳为有害蛋白积累和同源基因功能补偿两种机制^[39]. 前一种机制以*tms5*为代表, 该基因编码产生的RNA酶RNase Z^{S1}能降解泛素-60S核糖体蛋白L40基因(*Ub_{L40}*)的mRNA, 而不育系中一个SNP的变异导致RNase Z^{S1}的翻译提前终止, 无法降解底物^[33]. *tms5*自身的表达水平基本不受温度调控, 但高温能促进*Ub_{L40}*的mRNA在*tms5*无功能材料中过度积累从而引起雄性不育, 造成温敏不育的表型^[33]. 同源基因功能补偿机制以*CSA*和*TMS10*为代表. *CSA*基因编码一个在水稻绒毡层和糖运输组织中特异表达的MYB转录因子; *csa*突变后, 可能造成其编码单糖转运蛋白的靶基因*MST8*在花药的表达下降从而阻碍糖分运输, 进而导致花器官中糖分和淀粉量减少引起花粉不育^[35,36]. 进一步探究光照对相关基因的调控方式发现, 短日照能诱导*CSA*的表达, 而长日照则能促进其同源基因*MYB5*和*MYB8*的表达, 暗示这几个基因在不同日照条件下对花粉发育的作用可能相互补偿; *CSA*在短日照时的功能更关键, 因而*csa*突变体表现为反光敏不育^[36]. *TMS10*编码一个花粉发育必需的富亮氨酸重复激酶受体(LRR-RLK), 虽然其自身表达不受温度影响, 但其同源基因*TMS10L*的表达受低温诱导, 能补偿*TMS10*的功能, 因此突变体*tms10*表现为温敏不育^[34].

与水稻相比, 玉米、小麦、油菜和大豆等其他作物中光温敏雄性核不育基因的克隆和机制研究相对滞后, 多数仅停留在基因初步定位的阶段^[40-43]. 油菜中培育出一些具有实用性的温敏雄性核不育系和光温敏雄性核不育系^[42,44], 初步成功应用于两系杂交油菜生产. 在玉米和小麦中也发现了光温敏雄性核不育材料^[43,45,46]. 然而, 这些光温敏玉米和小麦材料尚未广泛

应用在两系育种上。大豆杂种优势的利用目前仍受制于不育系资源短缺, 仅有少数的光温敏材料被报道, 如温敏雄性核不育突变体*msh*和光敏雄性核不育突变体88-428-BY^[41]。

1.3 作物智能核不育及新型不育系的创制

无论是三系还是两系杂交作物都受限于不育系的繁殖和稳定性, 这给杂交稻制种带来风险和困难。智能核不育系将分子设计和杂交育种相结合, 利用作物中普遍存在的细胞核雄性不育基因, 创建纯合的雄性不育系, 并通过在不育系转入连锁的育性恢复基因、花粉败育基因和标记基因创建对应的保持系, 从而解决杂交育种过程中不育系的稳定性和配组广泛性等问题^[47]。

以水稻智能核不育分子设计育种体系为例, 隐性细胞核雄性不育基因的突变体*osnp1*可作为雄性不育系, 其转入连锁的三个元件可创建对应的保持系: 元件一为育性恢复基因*OsNP1*, 在孢子体阶段发挥作用, 可以恢复转基因植株的花粉育性。元件二为 α -淀粉酶基因, 在转基因植株的配子体阶段表达, 可杀死含转基因元件的花粉, 防止转基因花粉的传播; 只有非转基因的花粉能参与授粉, 确保生物安全。同时保持系能通过雌配子稳定遗传, 其自交种可以通过元件三, 即在胚乳特异表达的红色荧光蛋白基因*DsRed*, 利用荧光分选技术快速分离不育系(无转基因元件)和保持系(带转基因元件)种子, 分别用于杂交制种和繁殖^[48]。水稻基因组广泛存在的隐性雄性核不育基因都可以成为智能核不育分子设计育种体系的基因资源。

智能核不育分子设计育种体系在玉米中也得到了应用, 如通过在玉米隐性核不育材料*ms7*中导入包含育性恢复基因*ZmMs7*、花粉败育基因*ZmAA*和*Dam*、红色荧光基因*DsRed2*或*mCherry*和抗除草剂基因*Bar*的表达载体, 实现更安全、更稳定且更低成本的玉米不育系繁殖和杂交育种^[49,50]。而深入认识更多玉米细胞核雄性不育基因, 也将为建立玉米杂交育种和制种的新方法和新体系提供新的切入点^[51,52]。

作物智能核不育分子设计育种体系具有不育性稳定、不受环境限制、配组自由等优点, 不仅可提高对作物种质资源的利用范围, 也保障了杂交种的制种安全和育种创新, 有望应用于不同作物的杂交育种和杂种优势利用。

1.4 作物杂种不育及远缘杂种优势利用

杂种优势现象在远缘亲本之间, 比如种间或者亚种间的杂种中表现尤为突出。以水稻为例, 与品种间杂种相比, 籼稻和粳稻亚种间杂种表现出更强的产量杂种优势和抗逆性。但是远缘亲本之间的遗传变异同样会导致合子后生殖隔离, 从而降低杂种的育性, 这也是远缘杂交育种应用的最大障碍。

对水稻杂种育性调控机制的认识有三个阶段: 早期的认识基于栽培稻和野生稻、不同栽培稻种以及亚洲栽培稻的籼稻和粳稻亚种的系列杂交组合展开, 通过遗传分析和基因定位在不同水稻群体中鉴定到50个左右调控水稻杂种不育的位点^[53]。进一步的研究认识到作为一个复杂性状, 杂种不育可以分解为花粉败育、胚囊败育、雌雄配子体不亲和等多个构成的组分^[54,55], 受到不同位点以及位点间的互作所调控^[56]。而对种间或亚种间杂种不育位点的克隆, 包括对*S5*, *Sa*, *Sc*, *S1*, *S7*, *qHMS7*, *hsa1*, *DPL1/DPL2*, *S27/S28*, *DGS1/DGS2*, *Esa1*等11个位点(或位点组)研究, 则标志着对其认识的进一步飞跃^[57-59]。

对水稻不同杂种不育位点分子调控机制的研究表明, 杂种育性的下降是由不同种间或亚种间等位基因或非等位基因的复杂互作导致的。以调控籼粳杂种胚囊育性的*S5*位点为例, 该位点存在3个连锁的基因, 杂种中杀手基因*ORF5*+和它的帮凶*ORF4*+合作杀死雌配子, 而携带保护基因*ORF3*+的胚囊可以正常发育^[60,61]。而在调控杂种花粉育性的*Sa*位点上, 两个紧密连锁的基因*SaM*和*SaF*通过两基因/三因子互作的模式调控籼粳杂种雄配子的发育^[62]。另一个杂种花粉育性位点*Sc*则通过等位基因剂量效应驱动的选择性基因沉默导致籼粳杂种育性下降^[63]。*S1*位点同时控制亚洲栽培稻和非洲栽培稻种间杂种的雌性和雄性不育, 该位点的*SITPR*, *SIA4*和*SIA6*形成一个杀手系统, 缺少保护基因*SITPR*的亚洲稻配子特异性败育^[64,65]。*qHMS7*位点可通过毒蛋白*ORF2*和解毒蛋白*ORF3*的互作调控栽培稻和野生稻种间杂种的雄性不育^[66]。

在充分理解杂种不育位点不同等位基因的功能及其互作模式的基础上, 可以利用分子标记辅助选择技术或者基因编辑技术, 培育和不同亲本都正常可育的水稻亲和品种, 打破远缘杂交的障碍。例如, 可以通过分子标记辅助选择技术通过聚合多个广亲和基因, 培

育结实率高亲和的育种中间材料^[67~70], 或者聚合广亲和等位基因和粳型等位基因培育粳型偏粳系用于杂交稻育种^[71]. 此外, 对已克隆的*Sa*, *Sc*和*SI*等杂种不育位点的效应基因进行CRISPR/Cas9编辑, 可快速培育相关的亲和材料^[63,64,72,73]. 对水稻杂种不育理论的深入研究, 必将进一步加速玉米、大豆和小麦等重要作物的分子设计育种工作.

2 作物育性调控研究和分子设计杂交育种的未来发展趋势

2.1 作物育性调控的基础研究: 从基因功能走向网络调控, 从个体发育转向环境响应

我国已建立了水稻、玉米、油菜、大豆、小麦等多种作物的杂种优势利用体系, 这依赖于对作物育性调控机制的深入解析和作物雄性不育系的创建与培育. 育性调控是涉及不同发育阶段多个基因协同互作的复杂生物学过程. 因此, 推进作物育性调控的基础理论研究不仅需要对单个育性基因的功能进行研究, 更需要对不同发育空间参与育性调控的所有基因, 以及不同发育时间这些基因涉及的调控网络的动态变化进行研究, 解析育性调控的复杂网络和动态变化规律.

作物育性调控的另一特点是对多种环境因子的响应和互作. 水稻、玉米、小麦、谷子、油菜、棉花等不同作物都广泛存在光敏或者温敏的雄性核不育种质资源. 未来新型的光温敏雄性核不育系的建立和两系杂交作物的应用, 都将依赖于对更多基因资源和品种资源的探索, 以及对相关育性转换机制的深入研究. 此外, 育性对环境胁迫表现的敏感性极大地影响作物的稳产. 因此, 研究高温、低温、逆境等环境因素对作物雄性生殖发育过程的影响, 揭示环境和雄性生殖细胞发育的互作机制也是未来的重要研究方向.

前沿关键技术的突破将成为作物育性调控基础理论研究的创新源泉. 雄配子体是多种细胞类型的集合, 从单细胞层面解析雄配子体不同细胞类型的调控网络, 有望孕育作物育性调控基础理论研究的新突破. 此外, 雌配子体发育的遗传学、细胞学和分子生物学相关领域尚存在很大的空白, 随着未来前沿技术的突破, 有望对雌配子体发育的调控机制给出新的回答. 转录组、蛋白组、代谢组、表观组等不同水平的组学研究, 结合基因编辑等技术手段, 有望在广度和深度上助

力作物育性调控基因的功能研究.

2.2 分子设计杂交育种和相关产业应用: 利用更广泛的种质资源、基于不同作物的交互性、开创新的技术体系

随着水稻、玉米、小麦、大豆、油菜等主要农作物的参考基因组的构建, 野生种和栽培种作物种质资源的搜集和部分种质资源全基因组图谱绘制的相继完成, 我国现阶段对作物育性调控基因资源的挖掘与应用已经在少数种质资源中实现. 未来的研究应针对作物的不同群体构建系列参考基因组、泛基因组的数据库和分析平台, 将利用范围扩大到对更广泛种质资源优良等位基因的挖掘中, 并进一步拓展到对野生种资源的利用中.

作物育性调控作为发育调控的重要组成, 其调控机制和代谢途径存在一定的保守性. 因此, 不同作物的分子设计杂交育种体系之间存在着可借鉴性, 应加强不同作物间的信息与资源的交互, 借助基因的同源性和育性调控途径的保守性加速作物杂交育种体系的创新和应用.

杂种优势的固定有望成为分子设计杂交育种的新途径, 这一技术体系通过基因编辑技术对减数分裂和受精途径的生殖调控基因进行编辑, 使杂交稻通过无融合生殖实现种子的无性繁殖, 让杂种优势可以稳定遗传到下一代. 对无融合生殖的深入研究也将为重塑新的分子设计杂交育种体系提供新的切入点.

3 我国作物育性调控研究和分子设计杂交育种面临的瓶颈与对策

3.1 战胜作物育性受多基因调控和环境制约的挑战

在作物功能基因组取得长足发展的基础上, 我国已克隆了一批有自主知识产权的作物育性调控基因, 包括细胞质雄性不育基因*WA352*, *ORF79*和*ORFH79*, 光温敏雄性核不育基因*pms3*和*tms5*等, 杂种不育位点*S5*, *Sa*, *Sc*, *SI*, *S7*和*qHMS7*等, 这些基因具有重要的育种价值, 部分基因已经广泛应用于我国作物雄性不育系或者分子设计杂交育种, 为我国作物杂交育种的产业化提供了理论基础. 但是现有的研究重点还停留在基因的克隆和功能研究上, 对这些基因的调控网络还知之甚少. 同时, 作物育性在极大程度上受环境的影

响, 随着地理、海拔、光照、温度、湿度、逆境胁迫等不同环境的变化而改变, 现有认识对育性调控和环境的交互明显存在不足, 因此在实践中还不能完全满足分子设计育种的需求。此外, 未来对育性调控的理论研究上更应打破作物种间的壁垒, 除了在深度上挖掘基因间的互作网络, 在广度上也应认识育性调控基因在不同作物的功能变异和共性机制, 以推动作物杂交育种和杂种优势更高效应用和产业化。

3.2 解决规模化和精准化进行种质资源的鉴定与利用的难题

作物种质资源的充分利用是杂交育种的核心。但是我国对作物种质资源的系统评价还未走向规模化, 对优异等位基因的鉴定挖掘也还未走向精准化; 此外, 我国在水稻种质资源的挖掘和全基因组水平的鉴定上取得了一系列原创性成果, 但是对其他作物的研究还存在一定差距, 因此将作物品种资源转变为基因资源还任重道远。未来的工作应在建立种质资源鉴定与创新体系的基础上, 更高通量更大规模地对优异种质资源和育种材料进行鉴定, 并以性状为导向精准筛选服务于作物雄性不育系创建和杂种优势利用的基因资源。同时将水稻中已建立的高通量资源利用、表型考察、基因挖掘体系应用到其他作物中。

3.3 突破现有分子育种技术瓶颈, 引领前沿技术体系变革

我国的作物杂交育种技术紧跟国际前沿, 并处于国际领先水平, 如基因编辑应用于杂种优势的固定, 智能核不育分子设计育种体系在水稻和玉米中得到应用, 分子标记辅助选择和基因编辑推动远缘杂交亲和品种的培育, 这极大地促进了我国作物杂种优势利用技术的广泛应用。但是我国从0到1的原创性技术仍然存在很大局限, 如缺乏原创性的基因编辑技术、单细胞测序技术、育种高通量检测技术、信息化分析和检测技术等。未来工作应以需求为牵引, 以技术创新为导向, 创建从种质资源到全基因组选育, 从基因挖掘到分子设计育种, 品种培育到种子生产加工的全产业链。

4 我国杂交育种技术面向2035年的战略布局

为确保我国杂交育种技术的世界领先地位和可

持续发展, 实现我国种业2035年中长期目标, 在作物育性理论和应用研究中必须重点做好以下四方面的工作。

4.1 作物雄性不育和育性恢复的调控机制

我国粮食安全是国家战略问题。作物杂种优势利用是确保我国粮食作物的高产和稳产的重要策略, 作物雄性不育和育性恢复的转换是实现杂种优势的实践基础。因此, 需要持续挖掘水稻、玉米、小麦、大豆、油菜等主要农作物雄性器官(花药)发生、小孢子形成等雄性发育过程中的调控基因和信号网络。同时发挥我国作物丰富的种质资源优势, 克隆相关基因并解析雄性不育和育性恢复的调控机制。进一步发掘杂交育种所需的遗传材料, 丰富杂交育种中不育系和恢复系的遗传多样性, 改变当前育种同质化现象, 优化三系和两系制种体系。

4.2 作物育性转化及其与光温互作和环境响应的理论基础

环境变化和逆境胁迫对作物产量带来极大的影响^[74,75]。因此, 需研究植物雄性生殖发育过程对光照时间、温度等环境因素的响应, 揭示雄性生殖细胞发育和光温互作的分子机制, 创建稳定高效的新型光温敏雄性核不育系。同时探究逆境胁迫对作物育性调控的影响, 解决杂交作物制种过程中非预期的育性转化导致的制种风险。

此外, 目前两系制种主要依赖于温敏不育材料, 只能在早季、低温条件下制种。近期在水稻中发现一类与常规光/温敏不育系表型相反, 短光周期/低温不育、长光周期/高温可育的新型反光/温敏不育材料^[36,76,77]。利用反温敏不育遗传材料, 可降低温敏不育系杂交制种受倒春寒和阴雨低温条件影响的风险, 将两系不育系繁种放在夏季高温条件下进行, 从而丰富两系杂交种质资源、扩大两系应用范围、打破两系制种环境敏感度对季节、气候和地域的严格限制。

4.3 作物远缘杂种不育的分子调控网络和远缘杂种优势利用

我国育种家们经过长期的探索, 已经在水稻中培育了少数具有生产应用价值的籼粳亚种杂交稻组合,

如“甬优系列”和“春优系列”等, 揭开了远缘杂种优势利用的序幕. 当前克隆的杂种不育位点还非常有限, 导致杂种不育的分子机制还存在许多疑点和难点. 未来工作应最大限度地克隆种间和亚种间杂种不育基因, 利用基因编辑等技术手段快速创建多位点的人工亲和系, 将推动远缘杂种优势的利用从理论推向实用化, 从水稻推向其他作物, 作为未来作物增产的新生长点.

基于无融合生殖的“一系法”育种可应用于远缘杂种优势的固定^[78]. 国内外研究者基于无融合生殖的理论, 通过敲除减数分裂和单倍体发生相关基因, 获得与亲本类似的无融合生殖植株, 取得了重要突破^[79,80]. 但目前这些策略还存在诱导效率低和植株育性差的问题, 还有待进一步完善和改进, 离生产应用还有一定距离. 为了更好地实现杂种优势固定, 在今后一段时期应重点对具有无融合生殖特性的植物开展深入的基础研究, 为创建高效、简便的“一系法”杂交育种体系提供理论指导和技术支撑.

4.4 杂交育种技术的创新和农业生产方式的变革

新时期的智慧农业必须依靠科学和技术的进步. 未来工作应利用前沿生物技术手段, 发掘和创建新型不育系和杂交制种体系. 同时结合作物多倍体育种, 开发建立多倍体杂交育种体系. 另外, 杂交育种还需要解决不育系包颈和杂交种早衰等生产实际问题的分子机制, 实现杂交种综合性状改良, 提升其增产潜力.

此外, 随着人民生活水平提高, 社会日益趋向老龄化发展, 我国农村年轻人口涌入城市, 农村劳动力逐渐变弱, 制种机械化需求日益凸显. 培育适应无人机辅助、机械混合制种和种植的新材料, 对节省人力成本具有重要意义. 智能核不育系的培育改变传统杂交育种模式, 可实现大规模、机械化安全制种. 智能型雄性不育系或雌性不育系的创制, 需要突破现有智能核不育系筛选标记主要依靠荧光蛋白、配子致死基因多限于 α -amylase的局面, 获得更多有效筛选标记和配子体致死基因, 促进我国农业生产方式的变革.

参考文献

- Chen L, Liu Y G. Male sterility and fertility restoration in crops. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, 65: 579–606
- Luo D, Xu H, Liu Z, et al. A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice. *Nat Genet*, 2013, 45: 573–577
- Wang Z, Zou Y, Li X, et al. 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. *Plant Cell*, 2006, 18: 676–687
- Qin X, Huang Q, Xiao H, et al. The rice DUF1620-containing and WD40-like repeat protein is required for the assembly of the restoration of fertility complex. *New Phytol*, 2016, 210: 934–945
- Hu J, Wang K, Huang W, et al. The rice pentatricopeptide repeat protein RF5 restores fertility in Hong-Lian cytoplasmic male-sterile lines via a complex with the glycine-rich protein GRP162. *Plant Cell*, 2012, 24: 109–122
- Tang H, Luo D, Zhou D, et al. The rice restorer *Rf4* for wild-abortive cytoplasmic male sterility encodes a mitochondrial-localized PPR protein that functions in reduction of *WA352* transcripts. *Mol Plant*, 2014, 7: 1497–1500
- Su A G, Song W, Wang S S, et al. Advance on cytoplasmic male sterility and fertility restoration genes in maize (in Chinese). *China Biotech*, 2018, 38: 108–114 [苏爱国, 宋伟, 王帅帅, 等. 玉米细胞质雄性不育及其育性恢复基因的研究进展. *中国生物工程杂志*, 2018, 38: 108–114]
- Korth K L, Levings C S. Baculovirus expression of the maize mitochondrial protein URF13 confers insecticidal activity in cell cultures and larvae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 3388–3392
- Sofi P A, Rather A G, Wani S A. Genetic and molecular basis of cytoplasmic male sterility in maize. *Commun Bio Crop Sci*, 2007, 2: 49–60
- Wise R P, Dill C L, Schnable P S. *Mutator*-induced mutations of the *rf1* nuclear fertility restorer of T-cytoplasm maize alter the accumulation of *T-urf13* mitochondrial transcripts. *Genetics*, 1996, 143: 1383–1394
- Dill C L, Wise R P, Schnable P S. *Rf8* and *Rf** mediate unique *T-urf13*-transcript accumulation, revealing a conserved motif associated with RNA processing and restoration of pollen fertility in T-cytoplasm maize. *Genetics*, 1997, 147: 1367–1379
- Cui X, Wise R P, Schnable P S. The *rf2* nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. *Science*, 1996, 272: 1334–1336
- Yang H L. Preliminary functional analysis of the candidate genes for C-type cytoplasmic male sterility in maize (in Chinese). Dissertation for

- Master's Degree. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2017 [杨慧丽. 玉米C型胞质雄性不育候选基因功能的初步分析. 硕士学位论文. 郑州: 河南农业大学, 2017]
- 14 Gabay-Laughnan S, Kuzmin E V, Monroe J, et al. Characterization of a novel thermosensitive restorer of fertility for cytoplasmic male sterility in maize. *Genetics*, 2009, 182: 91–103
- 15 Xiao H, Zhang F, Zheng Y. The 5' stem-loop and its role in mRNA stability in maize S cytoplasmic male sterility. *Plant J*, 2006, 47: 864–872
- 16 Xiao S, Zang J, Pei Y, et al. Activation of mitochondrial *orf355* gene expression by a nuclear-encoded DREB transcription factor causes cytoplasmic male sterility in maize. *Mol Plant*, 2020, 13: 1270–1283
- 17 Zhao G L, Lin C J, Jin D C, et al. Advances in restorer genes for fertility on cytoplasmic male sterility in major crops (in Chinese). *Biotech Bull*, 2020, 36: 116–125 [赵国龙, 林春晶, 金东淳, 等. 主要农作物细胞质雄性不育系育性恢复基因研究进展. 生物技术通报, 2020, 36: 116–125]
- 18 Sun W X. Mapping with marks and effect analysis of the fertility restorer genes for male sterile line with *Ae.kotschy* cytoplasm in wheat (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2011 [孙文鑫. 小麦K型细胞质雄性不育育性恢复基因的标记定位和效应分析. 硕士学位论文. 郑州: 河南农业大学, 2011]
- 19 Melonek J, Duarte J, Martin J, et al. The genetic basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in wheat. *Nat Commun*, 2021, 12: 1036
- 20 Witt U, Hansen S, Albaum M, et al. Molecular analyses of the CMS-inducing 'Polima' cytoplasm in *Brassica napus* L. *Curr Genet*, 1991, 19: 323–327
- 21 Liu Z, Yang Z, Wang X, et al. A mitochondria-targeted PPR protein restores *pol* cytoplasmic male sterility by reducing *orf224* transcript levels in oilseed rape. *Mol Plant*, 2016, 9: 1082–1084
- 22 Uyttewaala M, Arnal N, Quadrado M, et al. Characterization of *Raphanus sativus* pentatricopeptide repeat proteins encoded by the fertility restorer locus for ogura cytoplasmic male sterility. *Plant Cell*, 2008, 20: 3331–3345
- 23 Brown G G, Formanová N, Jin H, et al. The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *Plant J*, 2003, 35: 262–272
- 24 Zhao L M, Sun H, Wang S M, et al. Breeding of hybrid soybean HybSoy 1 (in Chinese). *Chin J Oil Crop Sci*, 2004, 26: 16–18 [赵丽梅, 孙寰, 王曙明, 等. 大豆杂交种杂交豆1号选育报告. 中国油料作物学报, 2004, 26: 16–18]
- 25 Dong D K, Gao S, Liu L C, et al. Advance in the research of soybean cytoplasmic genetic male sterility (in Chinese). *Chin Agric Sci Bull*, 2012, 28: 5–9 [董德坤, 高莎, 刘乐承, 等. 大豆质核互作雄性不育研究进展. 中国农学通报, 2012, 28: 5–9]
- 26 Xu Z Y, Li L, Qiu L J, et al. Selection of three lines and localization of the restorer genes in soybean using SSR markers (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 1999, 32: 32–38 [许占友, 李磊, 邱丽娟, 等. 大豆三系的选育及恢复基因的SSR初步定位研究. 中国农业科学, 1999, 32: 32–38]
- 27 Zhang L, Dai O H. Selection and breeding of nucleo-cytoplasmic male sterile line W931A in soybean (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 1997, 30: 91–92 [张磊, 戴瓯和. 大豆质核互作不育系W931A的选育研究. 中国农业科学, 1997, 30: 91–92]
- 28 Gai J Y, Ding D R, Cui Z L, et al. Development and performance of the cytoplasmic-nuclear malesterile line NJCMS1A of soybean (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 1999, 32: 23–27 [盖钧镒, 丁德荣, 崔章林, 等. 大豆质核互作雄性不育系NJCMS1A的选育及其特性. 中国农业科学, 1999, 32: 23–27]
- 29 Hu Z X, Tian Y, Xu Q S. Review of extension and analysis on current status of hybrid rice in China (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2016, 31: 1–8 [胡忠孝, 田妍, 徐秋生. 中国杂交水稻推广历程及现状分析. 杂交水稻, 2016, 31: 1–8]
- 30 Ding J, Lu Q, Ouyang Y, et al. A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 2654–2659
- 31 Fan Y, Yang J, Mathioni S M, et al. *PMSIT*, producing phased small-interfering RNAs, regulates photoperiod-sensitive male sterility in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 15144–15149
- 32 Zhou H, Liu Q, Li J, et al. Photoperiod- and thermo-sensitive genic male sterility in rice are caused by a point mutation in a novel noncoding RNA that produces a small RNA. *Cell Res*, 2012, 22: 649–660
- 33 Zhou H, Zhou M, Yang Y, et al. RNase Z^{SI} processes *Ubl40* mRNAs and controls thermosensitive genic male sterility in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4884
- 34 Yu J, Han J, Kim Y J, et al. Two rice receptor-like kinases maintain male fertility under changing temperatures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 12327–12332
- 35 Zhang H, Liang W, Yang X, et al. *Carbon Starved Anther* encodes a MYB domain protein that regulates sugar partitioning required for rice pollen

- development. *Plant Cell*, 2010, 22: 672–689
- 36 Zhang H, Xu C, He Y, et al. Mutation in *CSA* creates a new photoperiod-sensitive genic male sterile line applicable for hybrid rice seed production. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 76–81
 - 37 Mei M H, Dai X K, Xu C G, et al. Mapping and genetic analysis of the genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice using the original mutant Nongken 58S. *Crop Sci*, 1999, 39: 1711–1715
 - 38 Ding J, Shen J, Mao H, et al. RNA-directed DNA methylation is involved in regulating photoperiod-sensitive male sterility in rice. *Mol Plant*, 2012, 5: 1210–1216
 - 39 Xie Y Y, Tang J T, Yang B W, et al. Current advance on molecular genetic regulation of rice fertility (in Chinese). *Hereditas*, 2019, 41: 703–715 [谢勇尧, 汤金涛, 杨博文, 等. 水稻育性调控的分子遗传研究进展. *遗传*, 2019, 41: 703–715]
 - 40 Yuan G, Wang Y, Yuan S, et al. Functional analysis of wheat *TaPaO1* gene conferring pollen sterility under low temperature. *J Plant Biol*, 2018, 61: 25–32
 - 41 Sun X Y, Wang Y F, Wang Y H, et al. Progress on genic male sterility gene in soybean (in Chinese). *Hereditas*, 2021, 43: 52–65 [孙小媛, 王一帆, 王毓慧, 等. 大豆细胞核雄性不育基因研究进展. *遗传*, 2021, 43: 52–65]
 - 42 Xu X F. temperature reaction and screening of molecular markers for male sterile gene of thermo-sensitive genic male sterility Huiyou50s in rapeseed (*Brassica napus* L.) (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Yangling: Northwest A&F University, 2014 [徐献锋. 油菜温敏核不育Huiyou50S的温敏特征及育性基因分子标记筛选. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014]
 - 43 Fu Z Y, Qin Y T, Tang J H. Reviews of photo-or/and thermo-sensitive genic male sterile gene in major crops (in Chinese). *China Biotech*, 2018, 38: 115–125 [付志远, 秦永田, 汤继华. 主要作物光温敏核雄性不育基因的研究进展与应用. *中国生物工程杂志*, 2018, 38: 115–125]
 - 44 Liu Z W, Wu P, Li H L, et al. Current situation and prospects of studies on two-line hybrid rapeseed (in Chinese). *Acta Agric Jiangxi*, 2005, 17: 50–55 [刘尊文, 吴平, 李海龙, 等. 两系法杂交油菜研究现状及展望. *江西农业学报*, 2005, 17: 50–55]
 - 45 Bai J F, Wang Y K, Wang P, et al. Uncovering male fertility transition responsive miRNA in a wheat photo-thermosensitive genic male sterile line by deep sequencing and degradome analysis. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1370
 - 46 Ding S T. Research on the differentiation development of tassel and the utilization of heterosis in the photoperiod-thermo-sensitive tassel deficiency line I17 maize (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Changsha: Hunan Agricultural University, 2015 [丁帅涛. 光温敏无雄穗系玉米I17雄穗分化发育及杂种优势利用研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2015]
 - 47 Deng X W, Wang H Y, Tang X Y, et al. Hybrid rice breeding welcomes a new era of molecular crop design (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2013, 43: 864–868 [邓兴旺, 王海洋, 唐晓艳, 等. 杂交水稻育种将迎来新时代. *中国科学: 生命科学*, 2013, 43: 864–868]
 - 48 Chang Z, Chen Z, Wang N, et al. Construction of a male sterility system for hybrid rice breeding and seed production using a nuclear male sterility gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 14145–14150
 - 49 Zhang D, Wu S, An X, et al. Construction of a multicontrol sterility system for a maize male-sterile line and hybrid seed production based on the *ZmMs7* gene encoding a PHD-finger transcription factor. *Plant Biotechnol J*, 2018, 16: 459–471
 - 50 An X, Ma B, Duan M, et al. Molecular regulation of *ZmMs7* required for maize male fertility and development of a dominant male-sterility system in multiple species. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 23499–23509
 - 51 An X, Dong Z, Tian Y, et al. *ZmMs30* encoding a novel GDGL lipase is essential for male fertility and valuable for hybrid breeding in maize. *Mol Plant*, 2019, 12: 343–359
 - 52 Wan X, Wu S, Li Z, et al. Maize genic male-sterility genes and their applications in hybrid breeding: progress and perspectives. *Mol Plant*, 2019, 12: 321–342
 - 53 Ouyang Y D. Progress of *indica-japonica* hybrid sterility and wide-compatibility in rice (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2016, 61: 3833–3841 [欧阳亦聃. 水稻籼粳杂种不育与广亲和. *科学通报*, 2016, 61: 3833–3841]
 - 54 Song X, Qiu S Q, Xu C G, et al. Genetic dissection of embryo sac fertility, pollen fertility, and their contributions to spikelet fertility of intersubspecific hybrids in rice. *Theor Appl Genet*, 2005, 110: 205–211
 - 55 Liu H Y, Xu C G, Zhang Q. Male and female gamete abortions, and reduced affinity between the uniting gametes as the causes for sterility in an *indica/japonica* hybrid in rice. *Sex Plant Reprod*, 2004, 17: 55–62
 - 56 Li G, Li X, Wang Y, et al. Three representative inter and intra-subspecific crosses reveal the genetic architecture of reproductive isolation in rice. *Plant J*, 2017, 92: 349–362
 - 57 Ouyang Y, Zhang Q. The molecular and evolutionary basis of reproductive isolation in plants. *J Genets Genomics*, 2018, 45: 613–620

- 58 Hou J, Cao C, Ruan Y, et al. *ESAI* is involved in embryo sac abortion in interspecific hybrid progeny of rice. *Plant Physiol*, 2019, 180: 356–366
- 59 Xie Y, Shen R, Chen L, et al. Molecular mechanisms of hybrid sterility in rice. *Sci China Life Sci*, 2019, 62: 737–743
- 60 Chen J, Ding J, Ouyang Y, et al. A triallelic system of *S5* is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of indica-japonica hybrids in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 11436–11441
- 61 Yang J, Zhao X, Cheng K, et al. A killer-protector system regulates both hybrid sterility and segregation distortion in rice. *Science*, 2012, 337: 1336–1340
- 62 Long Y, Zhao L, Niu B, et al. Hybrid male sterility in rice controlled by interaction between divergent alleles of two adjacent genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 18871–18876
- 63 Shen R, Wang L, Liu X, et al. Genomic structural variation-mediated allelic suppression causes hybrid male sterility in rice. *Nat Commun*, 2017, 8: 1310
- 64 Xie Y, Xu P, Huang J, et al. Interspecific hybrid sterility in rice is mediated by *OgTPRI* at the *SI* locus encoding a peptidase-like protein. *Mol Plant*, 2017, 10: 1137–1140
- 65 Xie Y, Tang J, Xie X, et al. An asymmetric allelic interaction drives allele transmission bias in interspecific rice hybrids. *Nat Commun*, 2019, 10: 2501
- 66 Yu X, Zhao Z, Zheng X, et al. A selfish genetic element confers non-Mendelian inheritance in rice. *Science*, 2018, 360: 1130–1132
- 67 Shahid M Q, Chen F, Li H, et al. Double-neutral genes, *Sa-n* and *Sb-n*, for pollen fertility in rice to overcome *Indica*×*Japonica* hybrid sterility. *Crop Sci*, 2013, 53: 164–176
- 68 Wan J M. Utilization of strong heterosis between indica and japonica varieties in rice (in Chinese). In: Proceedings of the First Hybrid Rice Congress in China. 2010. 3–6 [万建民. 水稻籼粳交杂种优势利用研究. 见: 第1届中国杂交水稻大会论文集. 2010. 3–6]
- 69 Mi J, Li G, Huang J, et al. Stacking *S5-n* and *f5-n* to overcome sterility in *indica-japonica* hybrid rice. *Theor Appl Genet*, 2016, 129: 563–575
- 70 Mi J, Lei Y, Kim S R, et al. An effective strategy for fertility improvement of *indica-japonica* hybrid rice by pyramiding *S5-n*, *f5-n*, and *pf12-j*. *Mol Breeding*, 2019, 39: 138
- 71 Chen L, Zhao Z, Liu X, et al. Marker-assisted breeding of a photoperiod-sensitive male sterile japonica rice with high cross-compatibility with indica rice. *Mol Breeding*, 2011, 27: 247–258
- 72 Xie Y, Niu B, Long Y, et al. Suppression or knockout of *SaF/SaM* overcomes the *Sa*-mediated hybrid male sterility in rice. *J Integr Plant Biol*, 2017, 59: 669–679
- 73 Koide Y, Ogino A, Yoshikawa T, et al. Lineage-specific gene acquisition or loss is involved in interspecific hybrid sterility in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: E1955–E1962
- 74 Fedoroff N V, Battisti D S, Beachy R N, et al. Radically rethinking agriculture for the 21st century. *Science*, 2010, 327: 833–834
- 75 Zhu J K. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 2016, 167: 313–324
- 76 Jia J H, Zhang D S, Li C Y, et al. Molecular mapping of the reverse thermo-sensitive genic male-sterile gene (*rtms1*) in rice. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 607–612
- 77 Ni J, Wang D, Ni D, et al. Characterization and fine mapping of *RTMS10*, a semi-dominant reverse thermo-sensitive genic male sterile locus in rice. *J Integr Agr*, 2021, 20: 2–11
- 78 Yuan L P. A tentative plan for the breeding of hybrid rice (in Chinese). *Hybrid Rice*, 1987, 1: 1–3 [袁隆平. 杂交水稻的育种战略设想. *杂交水稻*, 1987, 1: 1–3]
- 79 Wang C, Liu Q, Shen Y, et al. Clonal seeds from hybrid rice by simultaneous genome engineering of meiosis and fertilization genes. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 283–286
- 80 Khanday I, Skinner D, Yang B, et al. A male-expressed rice embryogenic trigger redirected for asexual propagation through seeds. *Nature*, 2019, 565: 91–95

Fertility regulation and molecular design hybrid breeding in crops

OUYANG YiDan¹ & CHEN LeTian²

1 National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and National Centre of Plant Gene Research (Wuhan), College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2 State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Fertility regulation affects crop yield as well as heterosis utilization. Here we summarize the genetic basis and molecular regulatory mechanism of male sterility and hybrid sterility in crops. The advances include cytoplasmic male sterility and its application in three-line hybrid breeding, photoperiod- and temperature-sensitive genic male sterility and its application in two-line hybrid breeding, biotechnology-based male sterility system and its application by molecular design breeding technology, and hybrid fertility and its application in distant hybrid breeding. On this basis, we discuss the bottleneck and strategies for exploring mechanisms of crop fertility regulation and molecular design hybrid breeding in China, with future trend predicted.

crop, cytoplasmic male sterility, genic male sterility, biotechnology-based male sterility system, hybrid sterility, hybrid breeding

doi: [10.1360/SSV-2021-0172](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0172)