

UNELE PARTICULARITĂȚI DE INTERACȚIUNE NUCLEU – CITOPLASMĂ ÎN CADRUL SISTEMELOR *ASC-Rf*

Andrei MIDONI

Catedra Biologie Vegetală

This work focused on a complex study of various modalities of nucleo – cytoplasmic interaction through the prism of *CMS-Rf* systems of plants. Therewith we tried to understand different way of suppression of cytoplasmaticale male sterility phenotype.

Abordarea analitică, prin integrarea informațiilor obținute la diferite niveluri de organizare, pune în evidență fenotipul ca rezultat al expresiei spațial-temporale a genelor nucleare și citoplasmatică reglate prin numeroase conexiuni de semnalizare. Studiile consacrate elucidării fenomenelor intergenomice în realizarea programelor morfogenetice la plante au vizat diverse interacțiuni ale plasmă-cariogenelor:

- nucleu – plastide [4, 19, 42];
- nucleu – mitocondrii [11, 27, 29];
- plastide – mitocondrii [34, 40];
- nucleu – plastide – mitocondrii [17, 44].

Un model excelent în elucidarea interacțiunii mitocondrie – nucleu reprezintă restaurarea fertilității fenotipului la hibridii obținuți în bază de androsterilitate citoplasmatică, adică sistemul *ASC-Rf* (*androsterilitate citoplasmatică și restaurarea fertilității polenului*). Relevanța cercetării acestui sistem este determinată atât de utilizarea practică a vigorii hibride, cât și de aspectul fundamental al problemei privind mecanismele geneti-co-moleculare.

Evaluarea cercetărilor asupra mecanismelor moleculare ale sistemului *ASC-Rf* a cunoscut un salt considerabil, începând cu primele ipoteze expuse în anii 70' ai secolului trecut de către N.V. Turbin și A.N. Palilova [45]. Conform acestor autori, androsterilitatea citoplasmatică are la bază mecanisme complexe la nivel biochimic și morfogenetic și că acest fenomen reprezintă o dovadă elocventă a interacțiunii genelor citoplasmatică și nucleare. Se considera că *ASC* este rezultatul unor mutații care afectează comunicarea intracelulară. În cazul mutației mitocondriale, sterilitatea masculină se transmite doar pe linie maternă. Primele rezultate citogenetice și biochimice au determinat apariția modelului teoretic al mecanismului de interacțiune a genelor nucleare și cele citoplasmatică la plantele cu androsterilitate și cu fertilitatea restaurată. Ideea acestui model constă în faptul că mutațiile mitocondriale afectează expresia unor gene, fapt ce determină expresarea unor proteine represoare implicate în sinteza și activitatea componentelor proteice care asigură o funcționare normală a organismului. Restaurarea fertilității polenului este determinată de prezența genelor nucleare *Rf* în stare dominantă, care ar îndeplini un rol de efector prin controlul sintezei proteinei-represor, înlăturând astfel deficiențele energetice cauzate de mutațiile mitocondriale [43].

Modelul general de interacțiune *ASC-Rf*, expus de A.N. Palilova, a fost analizat ulterior la diverse specii de plante prin metode molecular genetice care au permis identificarea a mai multor gene implicate în apariția androsterilității și restaurării fertilității. Prin sinteza acestor informații, avantajată de bazele de date genomice și tehnicile bioinformaționale, ne-am propus să elucidăm unele particularități de interacțiune dintre nucleu și mitocondrii la diferite sisteme *ASC-Rf*.

Material și metode

Asigurând unele investigații integrale ale sistemelor vii, atât prin analize *in silico*, cât și prin proiectarea experiențelor în baza informației sistematizate în băncile de date genomice, tehnologiile bioinformaționale devin instrumente utile în diverse proiecte de cercetare.

În prezenta lucrare a fost analizată informația privind producția de expresie a genelor implicate în manifestarea fenomenului de androsterilitate și restaurare a fertilității la diferite specii de plante stocată în baza de date NCBI [47], iar programele computerizate și paginile Web: Protein Workbench 5.0.1. [46], PFAM [48], ClustalW2 [49], PhyloDraw Ver. 0.8 [28] au fost aplicate în evaluarea unor proprietăți specifice ale proteinelor cu evidențierea tipurilor de domene proteice ale acestora.

Rezultate și discuții

Efectele induse de genele *ASC* se manifestă în decursul perioadei reproductive prin afecțiuni la nivel genetic, fiziologo-biochimic și fenotipic, cum ar fi:

- modificări cantitative ale unor metaboliți esențiali în dezvoltarea polenului [15,16];
- afecțiuni la nivelul promotorilor specifici anterei, ce au drept țintă distrugerea țesutului tapetal

[13,20,24,31,32] sau a altui țesut în timpul maturării [30,12,25], astfel încât este oprită dezvoltarea ulterioară a polenului;

- codificarea unor proteine cu efect toxic [14,36];
- efecte ale apoptozei celulare [2,32,41].

Rezultatele investigațiilor efectuate au permis să identificăm douăzeci și patru de proteine specifice genotipurilor androsterile din cadrul a treisprezece specii de plante. Acestea s-au remarcat prin dimensiuni relativ mici care se includ în intervalul de valori de la 67 aminoacizi până la 224, cu excepția polipeptidei *ASC* de la *Petunia axillaris* de 402 aminoacizi.

Patrusprezece proteine cu dimensiune ce variază între 506 și 794 aminoacizi sunt implicate în restaurarea fertilității la șapte specii de plante. Din acest grup, cinci proteine reprezintă aldehiddehidrogenaze (ALDH): produsul de expresie a genei *rf2* și *rf2b* de la *Zea mays ASC-T*; ALDH2a de la *Oryza sativa* japonica group; ALDH de la *Nicotiana tabacum* și ALDH de la *Arabidopsis thaliana*.

Dintre toate proteinele analizate la una și aceeași specie cunoașterea secvențelor proteice atât pentru genele *ASC*, cât și pentru restauratorii lor de fertilitate a fost observată doar la *Petunia* spp., *Brassica napus*, *Oryza sativa* și *Raphanus sativus*, pentru care au și fost analizate domeniile proteice. De asemenea, în studiu au fost incluse și unele secvențe proteice *ORF77* și *ORF355* asociate cu *ASC* la porumbul cu citoplasma de tip S în tentativa de a stabili căile de interacțiune ipotetice în lipsa unei informații complete stocate în baza de date (Tab.1).

Talelul 1

Proteinele sistemului *ASC-Rf*

Specia	Proteina <i>ASC</i> și numărul de acces [NCBI]	Proteina <i>Rf</i> și numărul de acces [NCBI]
<i>Petunia</i> spp.	proteina <i>ASC</i> 402 a.a. (A.A.A96602)	produsul de expresie a genei: <i>Rf-PPR591</i> (A.A.M52340) și <i>Rf-PPR592</i> (A.A.M52339)
<i>Brassica napus</i>	<i>ORF 222</i> (A.A.B41354)	produsul de expresie a genei: <i>Rfo</i> (ACJ70132)
<i>Oryza sativa</i>	<i>ORF79</i> (BA.A.18902)	produsul de expresie a genelor: <i>Rf1a</i> , <i>Rf1b</i> și <i>Rf1c</i> (ABC42330, ABC42331 și BAD13711)
<i>Raphanus sativus</i>	<i>ORF125</i> (BAB21870)	produsul de expresie a genei: <i>orf687</i> (CAD61285)
<i>Zea mays ASC-S</i>	<i>ORF77</i> (A.A.N38288) și <i>ORF355</i> (A.A.N38287)	–

Androsterilitatea citoplasmatică la plantele de *Petunia* spp. este asociată cu apariția unui nou cadru de citire - *pcf*, care este cotranscris cu două gene mitocondriale: *nad3* (NADH dehidrogenază subunitatea 3) și *rps12* (subunitatea mică a unei proteine ribozomale S12), afectând expresia acestora (Fig.1) [15]. La plantele fertile *nad3* și *rps12* se transcriu împreună cu o genă mitocondrială *orf142*, al cărei rol nu este cunoscut.

Se cunoaște că prezența locusului restaurator *Rf-PPR592* afectează abundența transcriptului *pcf/nad3/rps12*. La formele restaurate a fost observată o deleție la capătul 5' cu 121 de nucleotide înaintea codonului start al genei *pcf*. Prin urmare, conținutul proteinei de 25 kDa asociate cu androsterilitatea citoplasmatică este redus substanțial [15].

Mecanismul apariției androsterilității citoplasmice, precum și fenomenul de restaurare a androfertilității nu este încă pe deplin elucidat.

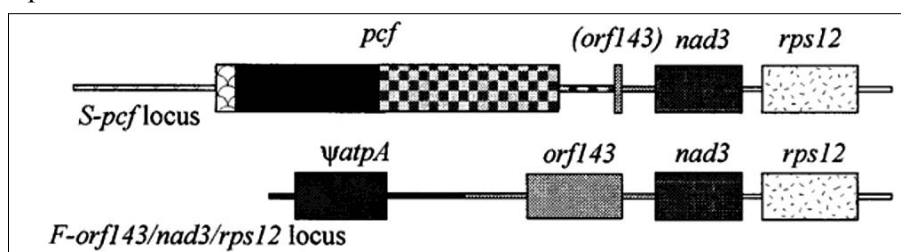


Fig.1. Diferențe ale genomului mitocondrial la plantele sterile și fertile de petunie [15].

Studiul bioinformatic al secvenței proteice *PCF* a pus în evidență un domen proteic (P.D.), numit „retroviral aspartil proteaza”. Această constatare, în conformitate cu datele din literatură [7,15], susține ideea, conform căreia gena *pcf* codifică o protează de genul „retroviral aspartil proteaza”, care ar putea fi implicată în destabilizarea produșilor de expresie a genelor *nad3* și *rps12*.

Investigarea domeniilor proteice ale genei restauratoare de fertilitate *Rf-PPR592* indică asupra codificării unor proteine „chaperonin family” (Fig.2).

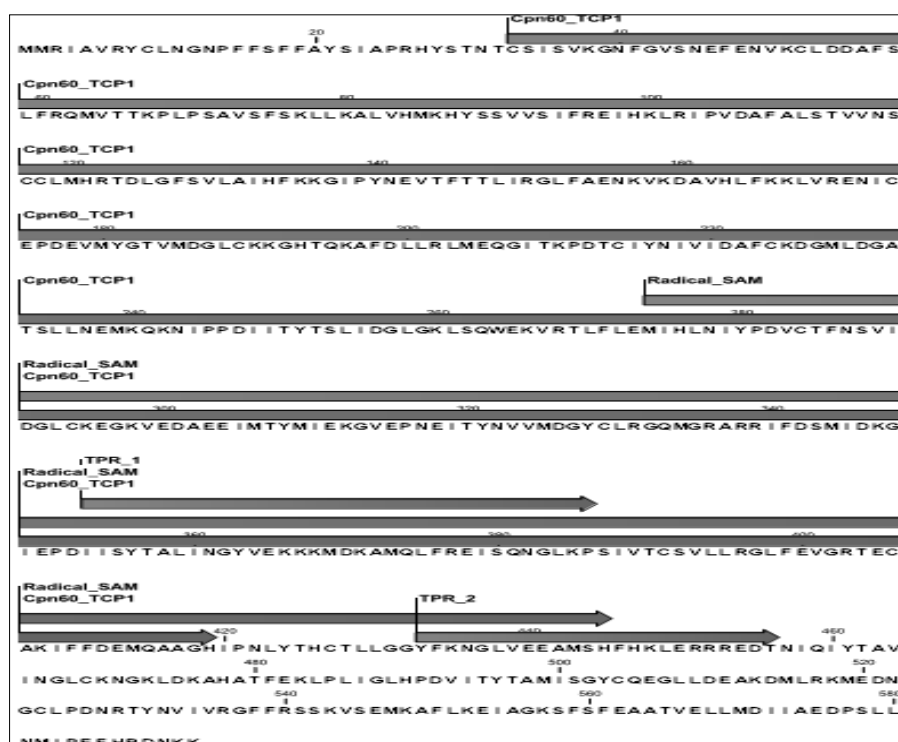


Fig.2. Domenii existente în cadrul proteinei PPR 592 (NCBI – numărul de acces: A.A.M52339): Cpn60_TCP1– chaperonin family (CLC Protein Workbench 5.0).

Proteinele din acest grup indeplinesc mai multe funcții, de exemplu: participă în desfășurarea „*foldingului proteic*” [10,35]; sunt implicate în organizarea moleculară a proteinelor și a concentrației acestora în citosol, facilitează transportul prin membrane etc. A fost constatat că acest tip de proteine sunt sintetizate ca reacție de răspuns la diferiți factori de stres [9]. Probabil, unul dintre efectele produsului de expresie a genelor *Rf* ar fi asociat cu destabilizarea funcțională sau cantitativă a proteinei *ASC*.

Un alt tip de interacțiune nucleu – citoplasmă a fost identificat la plantele de *Brassica* androsterilitatea citoplasmatică este corelată cu apariția a două cadre de citire noi: *orf222* situat în amonte de gena *nad5c* și *orf139* – în avalul acestei gene [14]. Investigarea bioinformațională a acestor gene nu a pus în evidență existența unui domen proteic. În 1999, M.Bellaoui și col. au identificat *ARN*-ul mesager al genei *orf139* în extractul de antere [3], spre deosebire de proteina *ORF139*, care nu a fost depistată la nivelul butonilor florali. Acest lucru ar putea demonstra că gena restauratoare *Rfn* acționează posttranscripțional. Li X.Q. și col. au constatat că produsul genei restauratoare este asociat cu micșorarea conținutului transcriptului *ASC orf222/nad5c/orf139* și stimulează procesingul unui alt locus mitochondrial – *nad4* [5,21]. Astfel, autorii ajung la concluzia că activitatea genei *Rfn* se realizează printr-o serie de procese cantitative și calitative.

Studiul computerizat al proteinei *Rfn* a demonstrat existența unui domen: „*RNA recognition motif*” (Fig.3).



Fig.3. Domenii existente în cadrul produsului de expresie a genei *Rfn* [NCBI – numărul de acces: ACJ70132]: RRM_1– RNA recognition motif [CLC Protein Workbench 5.0].

Probabil, acest domen proteic este implicat în recunoașterea *ARN*-ului genelor mitochondriale asociate cu *ASC*, determinând acțiunea reglatoare diferențiată prin stimularea expresiei *nad4* și supresia *orf139*.

La *Raphanus sativus* androsterilitatea citoplasmatică este asociată cu apariția unui cadru de citire nou la nivelul genomului mitochondrial: *orf125*, care este situat între secvențele *trnfM* și *atp8* [14]. Studiul computerizat al proteinei *ORF125* nu a relevat existența vreunui domen proteic. N.Koizuka (2003) [18] și K.Yasumoto (2008) [39] confirmă că gena restauratoare *orf687* codifică o proteină cu 16 repetări a câte 35 de a.a. ce poartă un motiv numit „pentatricopeptid” și are drept țintă mitochondria. Nici în cazul proteinei restauratoare de fertilitate *ORF687* programul nu a găsit domene proteice. Din această cauză s-a hotărât de a analiza gradul de simi-

laritate dintre această proteină și alte proteine restauratoare de fertilitate de la alte specii. Rezultatele au arătat o asemănare mare între produșii de expresie a genelor *Rf* de la *Raphanus sativus* și *Brassica napus* (Fig.4).

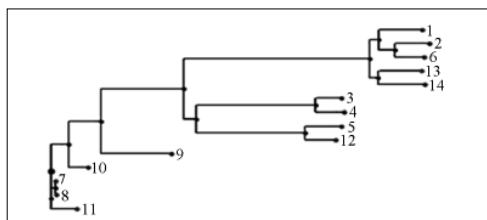


Fig.4. Dendrograma produșilor de expresie a genelor *Rf*: 1– *Rf2a* și 2 – *Rf2b* (*Zea mays*); 3 – *PPR591* și 4 – *PPR592* (*Petunia x hybrida*); 5 – *Rf* (*Brassica napus*); 6 – *ALDH 2a*, 7 – *Rf1*, 8 – *Rf1a*, 9 – *Rf1b*, 10 – *Rf1c* și 11– *Rf4* (*Oryza sativa*); 12– *Rf* (*Raphanus sativus*); 13 – *ALDH* (*Nicotiana tabacum*); 14 – *ALDH* (*Arabidopsis thaliana*) [49].

Întrucât studiul computerizat al proteinei *Rfn* a demonstrat existența unui domen: „*RNA* recognition motif” și analiza clusteriană indică o asemănare mare dintre aceasta și produsul de expresie a genei *orf687*, putem presupune că în cadrul sistemului dat există același mecanism restaurator ca și la *Brassica napus*.

Analiza sistemului *ASC-Rf* la *Oryza sativa* a relevat faptul că la plantele androsterile apare un cadru de citire nou: *orf 79* situat înaintea genei *atp6* [14], iar transcriptul *atp6* nu este editat eficient și este translat într-un polipeptid alterat [16]. O cantitate mare a acestuia are efect toxic și cauzează apariția *ASC* prin competiție cu proteina normală *ATP6*. După Z.Wang și col. (2006) [36], genele *Rf1a* și *Rf1b* au fost identificate în cadrul locusului restaurator *Rf1* și reprezintă componentele unui cluster de gene cu motive „pentatricopeptidice”. În cazul dat, ambele proteine – *RF1A* și *RF1B* – au acțiune mitocondrială și produc deleții la nivelul *ARN*-ului mitocondrial (*RF1A*) sau degradează (*RF1B*) transcriptul *atp6-orf79*. Totodată, a mai fost observat și faptul că produsul de expresie a genei *Rf1a* mai are un rol adițional în expresarea genei mitocondriale *atp6* independent de prima funcție [36]. A fost depistat un domeniu proteic la produsul de expresie a genei *Rf1c* asemănător cu „*atp* sinthase”. Astfel, se poate presupune că expresia genelor restauratoare de fertilitate crește suficient de mult cantitatea de proteină normală față de polipeptidul alterat al locusului *ASC* și destabilizează expresia genei *ASC*, ceea ce determină restaurarea androfertilității citolasmatice.

O altă modalitate de restaurare a fertilității citoplasmice a fost constatată la *Zea mays* cu citoplasma de tip T. Fenomenul de androsterilitate este datorat proteinei mitocondriale *URF13*, a cărei genă mitocondrială este situată între locusul *atp6* și *atp4*. Proteina *URF13* este prezentă în toate țesuturile vegetative [14], dar afectate sunt doar florile masculine. La momentul de față, în baza de date nu există secvența proteinei *ASC*, ceea ce face imposibilă determinarea vreunui D.P. la nivelul acestui polipeptid. Datele din literatură demonstrează că incapacitatea mitocondrii de a furniza energie destulă în prezența genelor androsterile determină intensificarea glicolizei, generând cantități însemnate de acid piruvic, care ulterior, prin fermentație alcoolică, se transformă în acetaldehidă, acumulându-se în cantități toxice pentru plante [23].

În cadrul acestui sistem gena *Rf2* (ce expresează o aldehiddehidrogenază) este un „restaurator neobișnuit”, care mai curând compensează defectele metabolice cauzate de proteina toxică *URF13* și acționează conjugat cu gena *Rf1* [41]. La *Zea mays* aldehiddehidrogenazele sunt de două tipuri: *RF2A* și *RF2B*. Primul tip poate oxida aldehide cu lanțul mai mare de 10 atomi de carbon, inclusiv cele aromatice, iar al doilea, identificat în cantități mari în antere, oxidează aldehide cu lanț mai scurt de 10 atomi de carbon. Ambele proteine ținesc mitocondria și sunt produșii de expresie a genelor *rf2a* și *rf2b* cu masele moleculare de 214 și, respectiv, 200 kDa. Proteinele *RF2A* și *RF2B* sunt homotetramere, ale căror subunități au 54,2 și 54 kD [22].

La *Zea mays* cu citoplasma de tip S expresia proteinelor *ORF77* și *ORF355* [38] la nivelul butonilor floralii induce androsterilitatea [37], care este corelată cu apoptoza. Printre efectele asociate cu apoptoza în cadrul acestui sistem a fost observată degradarea *ADN*-ului nuclear și elimierea citocromului *c* din mitocondrie în citosol [41].

Cu ajutorul studiului bioinformațional, noi am indentificat mai multe domenii în cadrul proteinei *ORF355* răspunzătoare de *ASC*. Primul prezintă un grad înalt de similaritate cu „*Cytocrom_B_C*”, iar al doilea domeniu, numit „*Major Facilitator Superfamily*”, reprezintă un polipeptid membranar cu rol de a transporta cantități mici de solvenți diferiți, ca urmare a modificărilor chimiosmotice (Fig.5). Astfel, în conformitate cu datele din literatură [41] și bazându-ne pe studiul efectuat, putem presupune că proteina, *ORF355* care reprezintă un polipeptid membranar, ar putea să îndeplinească rolul unei pompe alterate. Numărul mare al acestora ar putea distruge integritatea mitocondrială și ar media declanșarea proceselor apoptozice.

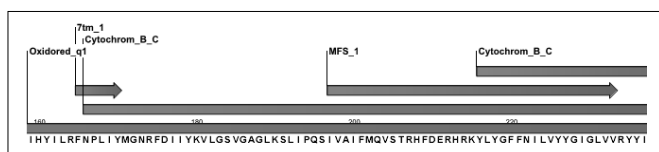


Fig.5. Domenii existente în cadrul proteinei *ORF 355* [NCBI – numărul de acces: A.A.N38287]: MFS_1– Major Facilitator Superfamily [CLC Protein Workbench 5.0].

La rândul său, gena restauratoare de fertilitate *Rf₃* activează expresia unor largi serii de gene antiapoptozice [41]: VDAC2 (voltage-dependent anion channel protein), care la organismele animale poate inhiba desfășurarea apoptozei [6], BI-1 (Bax-inhibitor), cystatin II și AdoMetDC (adenosylmethionine decarboxylase), care este cheia esențială în sinteza poliaminei ce joacă un rol important în diviziunea celulară și în efectul de antisenescentă [41].

Concluzii

1. Analizând modelul de sistem *ASC-Rf* propus de A.N. Palilova în 1986, putem preciza faptul că mecanismul androsterilității citoplasmice și al restaurării androfertilității polenului prezintă o serie de particularități proprii fiecărei specii de plante în parte.

2. În urma acestui studiu au fost puse în evidență trei modalități diferite de manifestare a *ASC*: destabilizarea expresiei altor gene mitocondriale; sinteza unei proteine toxice și eliminarea citocromului *c* din mitocondrie în citosol.

Referințe:

1. Akagi H., Nakamura A., Yokozeki-Misono Y., Inagak A., Takahashi H., Mori K., Fujimura T. Positional cloning of the rice *Rf-1* gene, a restorer of BT-type cytoplasmic male sterility that encodes a mitochondria-targeting PPR protein. *Theor // Appl. Genet.* – 2004. – Vol.108. – No.8. – P. 1449-1457.
2. Balk J., Leaver C.J. The PET1-CMS mitochondrial mutation in sunflower is associated with premature programmed cell death and cytochrome c release // *Plant Cell.* – 2001. – Vol.13. – P.1803-1818.
3. Bellaoui M., Grelon M., Pelletier G., Budar F. The restorer *Rfo* gene acts posttranslationally on the stability of the ORF138 Ogura CMS-associated protein in reproductive tissues of rapeseed cybrids // *Plant Mol. Biol.* – 1999. – Vol.40. – P.893-902.
4. Bligny M., Courtois F., Thaminy S., Chang C., Lagrange T., Baruah-Wolff J., Stern D., Lerbs-Mache S. Regulation of plastid rDNA transcription by interaction of CDF2 with two different RNA polymerases // *The EMBO Journal.* – 2000. – Vol.19. – No.8. – P.1851-1860.
5. Brown G.G. Unique aspects of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in *Brassica napus* // *J. Hered.* – 1999. – Vol.90. – P.351-356.
6. Cheng E.H., Sheiko T.V., Fisher J.K., Craigen W.J., Korsmeyer S.J. VDAC2 inhibits BAK activation and mitochondrial apoptosis // *Science.* – 2003. – Vol.301. – P.513-517.
7. Conlei C.A., Parthasarathz M.V., Hanson M.R. Effects of the *Petunia* cytoplasmic male sterile (CMS) cytoplasm on the development of sterile and fertility restored *Pparodii* anthers // *Am. J. Bot.* – 1994. – Vol.81. – P.630-640.
8. Cui X., Wise R.P., Schnable P.S. The *rf2* nuclear restorer gene of male sterile T-cytoplasm maize // *Science.* – 1996. – Vol.272. – P.1334-1336.
9. Ellis R.J., van der Vies S.M. Molecular chaperones // *Annu. Rev. Biochem.* – 1991. – Vol.60. – P.321. 47.
10. Fenton W.A., Horwich A.L. Chaperonin-mediated protein folding: fate of substrate polypeptide // *Q. Rev. Biophys.* – 2003. – Vol.36. – No.2. – P.229-56.
11. Forsburg S.L., Guarente L. Communication between mitochondria and the nucleus in regulation of cytochrome genes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Annu. Rev. Cell. Biol.* – 1989. – Vol.5. – P.153-180.
12. Gerstel D.J., Burns J.A., Burk L.G. Cytoplasmic male sterility in *Nicotiana*, restoration of fertility, and the nucleolus // *Genetics.* – 1978. – Vol.89. – P.157-169.
13. Hanson M.R. Plant mitochondrial mutations and male sterility // *Annu. Rev. Genet.* – 1991. – Vol.25. – P.461-486.
14. Hanson M.R., Bentolila S. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development // *The plant Cell.* – 2004. – Vol.16. – P.154-169.
15. Hanson M.R., Wilson R.K., Bentolila S., Kohler R.H., Chen H.C. Mitochondrial gene organization and expression in *petunia* male fertile and sterile plants // *American genetic association.* – 1999. – Vol.90. – P.362-368.
16. Iwabuchi M., Kyozuka J., Shimamoto K. Processing followed by complete editing of an altered mitochondrial *atp6* RNA re-stores fertility of cytoplasmic male-sterile rice // *The EMBO Journal.* – 1993. – Vol.12. – P.1437-1446.
17. Kleine T., Maier U.G., Leister D. DNA Transfer from Organelles to the Nucleus: The Idiosyncratic Genetics of Endosymbiosis. // *Annual Review of Plant Biology.* – 2009. – Vol.60. – P.115-138.
18. Koizuka N., Imai R., Fujimoto H., Hayakawa T., Kimura Y., Kohno-Murase J., Sakai T., Kawasaki S., Imamura J. Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*, that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile *Kosena* radish // *Plant J.* – 2003. – Vol.34. – No.4. – P.407-415.

19. Kuroiwa T. The replication, differentiation, and inheritance of plastids with emphasis on the concept of organelle nuclei // *Int. Rev. Cytol.* – 1991. – Vol.128. – P.1-62.
20. Laser K.D., Lersten N.R. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male-sterile angiosperms // *Bot. Rev.* – 1972. – Vol.38. – P.425-454.
21. Li X.Q., Jean M., Landry B.S., Brown G.G. Restorer genes for different forms of Brassica cytoplasmic male sterility map to a single nuclear locus that modifies transcripts of several mitochondrial genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – Vol. 95. – P.10023-10037.
22. Liu F., Schnable P. Functional Specialization of Maize Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenases // *Plant Physiol.* – 2002. – Vol.130. – P.1657-1674.
23. Nakazono M., Tsuji H., Li Y., Saisho D., Arimura S., Tsutsumi N., Hirai A. Expression of a gene encoding mitochondrial aldehyde dehydrogenase in rice increases under submerged conditions // *Plant Physiol.* – 2000. – Vol.124. – P.587-598.
24. Newton K.J. Plant mitochondrial genomes: organization, expression and variation // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* – 1988. – Vol.39. – P.503-532.
25. Nikova V., Vladova R. Wild Nicotiana species as a source of cytoplasmic male sterility in Nicotiana tabacum // *Contrib. Tobacco Res.* – 2002. – Vol.20. – P.301-311.
26. Orlov P.A., Pyko V.I. Green and albino plant regeneration in anther culture of alloplasmic wheat lines // *Proc. Intern. Congr. „Anther and pollen: from biology to biotechnology”.* – Sprigler-Verlag, 1999, p.229-236.
27. Parikh V.S., Morgan M.M., Scott R., Clements L.S., Butow R.A. The mitochondrial genotype can influence nuclear gene expression in yeast // *Science.* – 1987. – Vol.235. – P.576-580.
28. PhyloDraw Ver. 0.8 Graphics Application Lab., Pusan National University.
29. Poyton R.O., McEwen J.E. Crosstalk between nuclear and mitochondrial genomes // *Annu. Rev. Biochem.* – 1996. – Vol.65. – P.563-607.
30. Sabar M., De Paep R., De Kouchkovsky Y. Complex I impairment, respiratory compensations, and photosynthetic decrease in nuclear and mitochondrial male sterile mutants of *Nicotiana sylvestris* // *Plant Physiol.* – 2000. – Vol.124. – P.1239-1249.
31. Sarria R., Lyznik A., Vallejos C.E., Mackenzie S.A. A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial peptide in common bean is post-translationally regulated // *Plant Cell.* – 1998. – Vol. 10. – P.1217-1228.
32. Smith M.B., Palmer R.G., Horner H.T. Microscopy of a cytoplasmic male-sterile soybean from an interspecific cross between glycine max and g. soja (leguminosae) // *American Journal of Botany.* – 2002. – Vol.89. – No.3. – P.417-426.
33. Srivastava H.K. Nuclear control and mitochondrial transcrip tprocessing with relevance to cytoplasmic male sterility in higher plants // *Current Science*, 2000, Vol.79. – No.2. – P.176-201.
34. Svab Z., Maliga P. Exceptional transmission of plastids and mitochondria from the transplastomic pollen parent and its impact on transgene containment. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – Vol.104. – P. 7003-7008.
35. van den Berg B., Wain R., Dobson C.M., Ellis R.J. **Macromolecular crowding perturbs protein refolding kinetics: implications for folding inside the cell** // *The EMBO Journal.* – 2000. – Vol.19. – No15. – P.3870-3875.
36. Wang Z., Zou Y., Li x., Zhang Q., Chen L., Wu H., Su D., Chen Y., Guo J., Luo D., Long Y., Zhong Y., Liu Y.G. Cytoplasmic male sterility of rice with boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing // *Plant Cell.* – 2006. – Vol.18. – P.676-687.
37. Wen L.Y., Chase C.D. Mitochondrial gene expression in developing male gametophytes of male-fertile and S male-sterile maize // *Sex. Plant. Reprod.* – 1999. – Vol.11. – P.323-330.
38. 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. – Vol.47. – No6. – P.864-872.
39. Yasumoto K., Nagashima T., Umeda T., Yoshimi M., Yamagishi H., Terachi T. Genetic and molecular analysis of the restoration of fertility (Rf) genes for Ogura male-sterility from a Japanese wild radish (*Raphanus sativus* var. hortensis f. *Raphanistroides Makino*) // *Euphytica.* – 2008. – Vol.164. – P.395-404.
40. Yu H.S., Russell S.D. Populations of plastids and mitochondria during male reproductive cell maturation in Nicotiana tabacum L.: A cytological basis for occasional biparental inheritance // *Planta.* – 1994. – Vol.193. – P.115-122.
41. Zhang Z., Tang W., Zhang F., Zheng Y. Fertility Restoration Mechanisms in S-Type Cytoplasmic Male Sterility of Maize (*Zea mays* L.) Revealed Through Expression Differences Identified by cDNA Microarray and Suppression Subtractive Hybridization // *Plant Molecular Biology Reporter.* – 2005. – Vol.23. – P.17-38.
42. Zoschke R., Liere K., Börner T. From seedling to mature plant: Arabidopsis plastidial genome copy number, RNA accumulation and transcription are differentially regulated during leaf development. // *The Plant Journal.* – 2007. – Vol.50. – No4. – P.710-722.
43. Палилова А.Н. Генетические системы у растений и их взаимодействие. – Минск: Наука и техника, 1986.
44. Палилова А.Н., Орлов П.А., Волуевич Е.А. Фундаментальные и прикладные проблемы взаимодействия ядерной и цитоплазматических генетических систем у растений // *Вестник ВОГиС.* – 2005. – Том 9. – №4. – С.499-504.
45. Турбин Н.В., Палилова А.Н. Теоретическая модель взаимодействия хромосомов генов и цитоплазмы при ЦМС у кукурузы // *Доклады ВАСХНИЛ.* – 1970. – №11. – С.2-4.
46. www.clcbio.com.
47. www.ncbi.nlm.nih.gov
48. www.pfam.sanger.ac.uk/family.acc
49. www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2