

高粱質核互作雄不稔之研究與進展

龔美玲¹⁾、張惠如¹⁾

¹⁾ 行政院農業委員會種苗改良繁殖場 助理研究員(通訊作者)、副研究員兼課長

地址：42644 台中市新社區大南里興中街 6 號

電話：04-25825535

傳真：04-25814687

電子信箱：melinda@tss.gov.tw

摘要：高粱育種普遍運用雄不稔特性以生產雜交種，目前商業品種主要使用 A1 型(milo)雄不稔系，因其具有較佳的穩定性及較多的恢復系可供選擇。在育種上可利用細胞質 RFLP 標誌、*cox I* 及 *rpoC2* 基因的序列差異以區分部分雄不稔細胞質(CMS)種原類型，已知粒線體上的 *orf107* 是高粱 A3 型 CMS 的關聯基因。高粱稔性的穩定性主要受溫度影響，報告指出溫度低於 10~15°C 時會誘導高粱表現雄不稔，而高溫處理會使雄不稔系恢復稔性，且粒線體的數量發生改變。前人觀察到雄不稔高粱的絨氈層在花粉發育過程中並未瓦解，故雄不稔可能與絨氈層細胞程序性死亡的異常有關。高粱已發現的稔性恢復基因為 *Rf1*~*Rf5*，皆被認為可能是五肽重複序列(Pentatricopeptide repeat, PPR)，並已有利用 SSR 標誌進行 A1 型雄不稔系之隱性 *rf1* 基因的輔助選種，成功育成雄不稔品系的案例。

關鍵詞：高粱、雄不稔、絨氈層、稔性恢復基因

前 言

高粱(*Sorghum bicolor* L. Moench) (2n=20)原產於非洲，抗旱性強，適合栽培於缺乏灌溉設備之田地，為全球第五大重要糧食作物，僅次於玉米、小麥、水稻及大麥。高粱除了是乾旱地區的主要糧食，也能作為動物飼料使用，目前高粱在臺灣以釀酒為主要用途。植物分類學家將高粱分成 *bicolor*、*guinea*、*caudatum*、*kafir* 及 *durra* 等 5 個基本小種(basic race)，其中以 *bicolor* 最為普遍；另外依用途可分成 4 種栽培型，包含以莖稈作為製糖原料的 Sweet sorghums (sorgo)、製作掃帚用的 Broom corn、牧草動物飼料用的 Grass sorghums，以及種實作為食用的 Grain sorghums

接受日期：110 年 6 月

(OGTR, 2017)。全球高粱栽培面積在 2019 年為 4,007 萬公頃，產量達 5,789 萬公噸(FAO, 2021)。

高粱育種採用一代雜交種(F_1)，利用雜種優勢可使 F_1 品種在產量上或者對病蟲害或環境逆境的耐受性上優於親本，根據聯合國糧食及農業組織(FAO)統計，自 1960 年代起開始大量推廣商業 F_1 品種後，使全球的高粱單位面積產量提升了 40%~50%(Reddy *et al.*, 2005)。然而生產 F_1 品種時，必須先去除母本上具有活性的花粉，以防止產生自交種子混雜，但高粱屬常異交作物，雜交率約 18% (Barnaud *et al.*, 2008)，為圓錐花序、雌雄同花，人工去雄不符合雜糧種子生產的成本效益，因此高粱育種勢必朝向應用雄不稔特性，其中又以細胞質核互作雄不稔(cytoplasmic-genetic male sterility, CGMS 或 CMS)系統最為廣泛，透過作為父本之恢復親貢獻細胞核內顯性的稔性恢復基因(fertility restoration gene, *Rf*)彌補花粉發育時的粒線體功能異常，使 F_1 仍可產生花粉與結實。本文綜述高粱 CMS 之發現與類型、高粱雄不稔細胞質之分子鑑別、溫度對高粱稔性及花藥絨氈層細胞之影響及稔性恢復基因之定位等相關國內外研究現況，期能作為國內高粱育種研究之參考，以嘉惠臺灣本土高粱品種之育成。

高粱細胞質核互作雄不稔的發現與類型

Stephens 與 Holland 於 1954 年首次發表高粱 A_1 (milo)型雄不稔，他們在品系 Double Dwarf Yellow Sooner Milo (durra race) (♀)與 Texas Blackhull kafir (♂)雜交的 F_2 世代中發現 25%為雄不稔，這些雄不稔後代再與 kafir 雜交的後代皆為雄不稔，但與 milo 雜交的後代全為雄可稔，故可以推斷 Double Dwarf Yellow Sooner Milo 的基因型為 $S/RfRf$ ，Texas Blackhull kafir 為 $N/rfrf$ 。由於細胞質雄不稔的特點為源自母系之細胞質遺傳，因此 milo x kafir 所雜交的 F_1 後代($S/Rfrf$)皆會帶有母本 milo 細胞質胞器的遺傳物質，Stephens 與 Holland (1954)以此 F_1 為母本回交 kafir，選出雄不稔的 BC_1 後代($S/rfrf$)再回交，經過 7 個回交世代後所得到雄不稔品系(A-line)，被命名為 Combine kafir A (CK 60A) ($S/rfrf$)，其對應的維持系(B-line)為 CK 60B ($N/rfrf$)，常作為高粱 CMS 研究之材料。

雄不稔可分成 3 種外觀形態：(1)沒有花粉、(2)有花粉，但沒有活性、(3)花藥不開裂，其花粉可能有或沒有活性。利用與 B-line 或恢復系(R-line)試交(test cross)

的後代稔性外表型，可將高粱雄不稔細胞質分成 A₁ (milo)、A₂、A₃、A₄、A₅、A₆ 及 9E 等 7 種類型(Reddy and Stenhouse, 1994; Schertz, 1994)，另外也有發表過 KS 型、maldandi、VZM 及 G₁ 等不同的 CMS 細胞質來源(Reddy *et al.*, 2005; Sandeep and Biradar, 2020)。根據花粉發育及花藥型態，可分成兩大類：(1)小花藥型，包含 A₁、A₂、A₅ 及 A₆，因小孢子形成期發生退化現象，無法生成可稔花粉；(2)大花藥但不開裂，包含 A₃、A₄ 及 9E，可能帶有活性花粉(Schertz *et al.*, 1989)(圖一)。研究指出 A₁ 型能對應的稔性恢復基因(*Rf*)頻度最高，依序是 A₁ > A₂ > A₄ > A₃ (Senthil *et al.*, 1998)，換言之，A₁ 型雄不稔比較容易選到適合的 R-line，也因此 A₁ 型雄不稔為目前全球應用最廣泛的高粱 CMS 品系(Reddy *et al.*, 2005)。



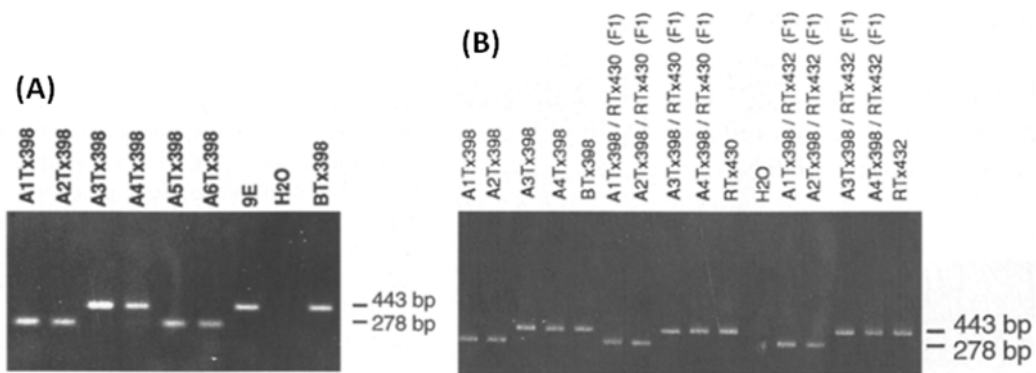
圖一、高粱雄不稔品系花藥外觀。左：大花藥型(A3T×398)；右：小花藥型(Chen *et al.*, 1995)。

Fig. 1. Photograph of anthers in sorghum CMS lines. Left, large-anthered type (A3T×398) and right, small-anthered type (Chen *et al.*, 1995).

高粱雄不稔細胞質之研究及分子鑑別

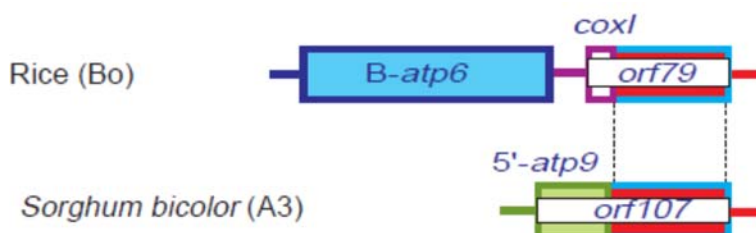
目前普遍發現多種作物中的細胞質雄不稔係由粒線體基因所控制，當粒線體基因體發生重組時，進而衍生不同類型的細胞質雄不稔 (Schnable and Wise, 1998)。Xu 等(1995)以粒線體 DNA 上的 RFLP 標誌可以區分 A₃、A₄、9E 與其他類型的雄不稔細胞質，也有研究指出 A₄/9E 型的 *coxI* 基因序列不同於 milo 型(Bailey-Serres *et al.*, 1986a, b; Pring *et al.*, 1995)。Chen *et al.* (1993, 1995)在高粱小花藥型(A₁、A₂、

A₅ 及 A₆) 雄不稔細胞質葉綠體的 *rpoC2* 基因序列上找出 165 bp 的缺失(deletion)，利用該多型性所設計之分子標誌可分辨小花藥型與大花藥型(A₃、A₄ 及 9E) 雄不稔品系及部分高粱的 B-line 與 R-line (圖二)。基因體中可能為蛋白質編碼的序列稱為 open reading frame (ORF)，高粱 A₃ 型細胞質粒線體上的 *orf107* 可能是雄不稔的關鍵基因，且有轉錄表現，其轉譯蛋白質之 N 端序列與高粱的 *atp9* 基因相近，而 C 端則與水稻 Chinsurah Boro II (Bo) 型雄不稔細胞質的 *orf79* 序列相似(Tang *et al.*, 1996, 1999; Schnable and Wise, 1998; Pring *et al.*, 1998) (圖三)。王等(2019)定序 A1 型細胞質雄不稔系 Tx623A 及其維持系 Tx623B 的粒線體基因體，透過共線性分析比較，發現一段 57 kb 基因體片段易位(translocation)。



圖二、*rpoC2* 基因分子標誌之電泳分析結果。(A) 高粱大花藥型雄不稔系(A3T×398、A4T×398 及 9E) 與雄可稔品系 BT×398 可增幅片段 443 bp；小花藥型(A1T×398、A2T×398、A5T×398 及 A6T×398) 因有 165 bp 的缺失，PCR 產物大小為 278 bp。(B) 高粱恢復系(RT×430 及 RT×432) 與 A3T×398、A4T×398 衍生之 F₁ 呈現 443 bp 條帶，而 A1T×398、A2T×398 其衍生的 F₁ 呈現 278 bp 條帶(Chen *et al.*, 1995)。

Fig. 2. The electrophoresis of the molecular marker, *rpoC2*. (A). A 443 bp fragment is present in A3T×398, A4T×398, 9E (large anthered CMS lines), and BT×398 (a fertile sorghum line), and a 278 bp fragment is present in A1T×398, A2T×398, A5T3×398, and A6T×398 (small-anthered sorghum CMS lines). (B). RT×430 and RT×432 (restorer lines), and the F₁ hybrid lines derived from A3T×398 and A4T×398 display a 443 bp fragment, whereas A1T×398, A2T×398, and the F₁ hybrid lines derived from A1T×398 and A2T×398 display a 278 bp fragment (Chen *et al.*, 1995).



圖三、高粱粒線體的CMS基因片段嵌合結構示意圖(Schnable and Wise, 1998)。
Fig. 3. Chimeric cytoplasmic male sterility (CMS)-associated regions in the mitochondrial genomes of sorghum (Schnable and Wise, 1998).

溫度對高粱稔性之影響

並不是所有類型的雄不稔品系都能應用於商業化雜交種子生產，條件在於雄不稔的穩定性、是否有適合的 R-line、雄不稔性對農藝性狀的影響及優良雜交組合的選擇等因素考量。不穩定的 A-line 會有部分花粉脫落造成自交及種子混雜，影響種子生產的成本與雜交種子的品質，而優良的商業雄不稔品系需要在任何地點或季節，皆不能產生花粉與自交果穗。但是雄不稔及稔性恢復的穩定性會受到環境影響，其中以溫度為最關鍵的影響因素；據報告指出，開花前的夜溫低於 10°C 時，會干擾稔性恢復，而誘導表現雄不稔，但當日溫高達 42°C 時，雄不稔品系會變得不穩定而產生花粉；比較不同類型雄不稔，以 A₁ 型的雄不稔最為穩定，其次為 A₃ > A₂ > A₄ (Reddy and Stenhouse, 1994)。Tarumoto *et al.* (2008) 以不同溫度條件評估 11 個 A₁ 型雄不稔系表現，發現部分品系在高溫處理後會變為可稔。另一方面，在臺灣的高粱採種種子量常受低溫影響，宋等(1995)發現參試之高粱雄可稔自交系在 15°C 以下穎花不開，雖然留在花藥內的花粉活力正常，但花粉發芽率卻低於 10%，影響授粉及種子收量。因此，建議當高粱開花期的環境溫度大於 42°C 時，需評估雄不稔的穩定性，而當栽培地區的夜溫小於 15°C 時，宜確認恢復系開花授粉的表現。

高粱雄不稔系之花粉敗育

Singh 與 Hadley (1961) 觀察高粱雄不稔系 CK 60A 與雄可稔系的花粉發育過程，發現兩者皆能正常完成減數分裂(meiosis)形成四分體(tetrad)，亦稱為小孢子

(microspore)，然而接下來即出現三點差異：一為雄可稔的花粉外壁表面平滑，但雄不稔植株的花粉外壁呈網狀；二為在正常情況下，小孢子會進行有絲分裂(mitosis)形成管細胞(tube cell)和生殖細胞(generative cell)，但大部分的雄不稔系小孢子卻維持單核(uninucleate)；三為雄可稔材料的絨氈層在花粉母細胞即將完成減數分裂時會開始瓦解，但雄不稔系的絨氈層細胞不斷進行核內有絲分裂(endomitosis)，形成多核狀態，即使在小孢子發育為花粉粒之後，仍異常的持續存在。在花粉發育後期，花藥最內層的絨氈層(tapetum)細胞藉由進入細胞程序性死亡(Programmed cell death, PCD)，將養分釋出形成花粉外壁(exine)，花粉外壁是花粉活性的關鍵，因此若絨氈層的 PCD 提早、延遲或被抑制，將導致花粉發育無法成熟，而表現雄不稔(Wu and Cheung, 2000; Ku *et al.*, 2003)。Warmke 與 Overman (1972)則是發現高粱雄不稔系在進行細胞質分裂(cytokinesis)時，胼氈質(callose)出現纖維化並提早消失，造成四分體無法正常分離，或者形成多核小孢子。

高溫對高粱雄不稔系絨氈層細胞之影響

有研究發現 A2 型雄不稔品系冬天 ($< 10^{\circ}\text{C}$) 時的絨氈層保持完整且花粉不可稔，但當夏季 ($> 42^{\circ}\text{C}$) 時的絨氈層會有部分或完全瓦解，並產生可稔花粉，造成 A2 型雄不稔的不穩定(Devi and Murthy, 1993)。王等(2000)以 45°C 高溫處理高粱雄不稔系 3197A 之花粉母細胞期後，該品系轉變為雄可稔，此時小穗的粒線體數量增加至原本的 4.58 倍。其他研究指出玉米絨氈層及小孢子細胞中的粒線體數量分別是一般細胞的 40 倍及 20 倍，代表花粉發育需要大量的能量與營養成分，因此推測 CMS 基因可能是透過干擾粒線體的形成或功能，進而導致花粉敗育(pollen abortion) (Warmke and Lee, 1977, 1978)。王等(2000)根據高溫處理後的雄不稔系 3197A 表現出處理前沒有的過氧化物酶及細胞色素氧化酶同功酶，推測熱休克蛋白(heat shock protein)可能幫助了某些蛋白質摺疊成正常構型，或者協助某些蛋白質轉運至粒線體中。綜合上述，高溫可能誘導高粱雄不稔品系絨氈層中的正常粒線體數量增加，使花粉完成發育，進而使稔性恢復。

高粱稔性恢復基因(*Rf*)之定位

隨著分子生物技術的進步，開始可以透過分子標誌定位重要基因所在染色體

的可能位置，A₁型雄不稔的 *Rf* 基因定位研究結果測定 *Rf1* (Klein *et al.*, 2001, 2005) 與 *Rf2* 的位置 (Jordan *et al.*, 2010; Madugula *et al.*, 2018)，以及可同時恢復 A₁ 型及 A₂ 型稔性的 *Rf5* (Jordan *et al.*, 2011) 及 *Rf6* 基因位置 (Praveen *et al.*, 2015)，A₃ 型則有 *Rf3* (Pring *et al.*, 1998; Tang *et al.*, 1999; Tang and Pring, 2003) 及 *Rf4* (Tang *et al.*, 2007)。其中高粱的 *Rf1* 基因被定位於第 8 條染色體上，並被認為可能是五肽重複序列 (Pentatricopeptide repeat, PPR) 蛋白家族的 *PPR13* 基因 (Klein *et al.*, 2005)。PPR 蛋白為參與轉錄後修飾的 RNA 結合蛋白，作用於細胞質胞器，例如粒線體及葉綠體 (Barkan and Small, 2014)。目前其他植物已知的 *Rf* 選殖 (cloned) 基因或候選基因也多為 PPR 基因 (Dahan and Mireau, 2013)，包含水稻、蘿蔔、甜菜、矮牽牛及溝酸漿等。Gao *et al.* (2013) 利用與高粱隱性 *rf1* 基因連鎖之 SSR 標誌 (Xtxp18) 進行分子標誌輔助育種，結果顯示 *rf1* 同質結合體的判別正確率達 95.1%。*Rf2* 基因位於第 2 條染色體，fine mapping 分析結果找到該基因 (*Sobic.002G057050*) 亦屬於 PPR 基因家族 (Madugula *et al.*, 2018)；*Rf5* 及 *Rf6* 都被定位在第 4 條染色體上，且皆可能屬於 PPR 基因 (Jordan *et al.*, 2011; Praveen *et al.*, 2015)。

結 語

雄不稔由於其產業重要性而被廣泛研究，已發現高粱有多個 CMS 種原，彼此間除了雄不稔穩定性的差異及對應不同的稔性恢復基因外，在農藝性狀及對病蟲害的抗性上亦有差異。目前商業高粱品種的細胞質遺傳背景仍以 A₁ 型雄不稔為主，但狹窄的遺傳資源潛在大面積病蟲害造成產量嚴重損失的風險，因此有學者期望 A₂ 型雄不稔細胞質可替代 A₁ 型，因為以兩者為基礎之雜交種的農藝性狀無顯著差異，但由於 A₂ 型恢復親的種原比例較 A₁ 型少，以及其花藥外觀較難與雄可稔的花藥區別，成為應用上的限制 (Reddy *et al.*, 2005)。已知粒線體參與動物細胞凋亡 (apoptosis) 的訊息傳遞，故可推測粒線體在絨氈層的細胞程序性死亡 (PCD) 中扮演關鍵角色，並與花粉發育有關，報告指出 PET1-CMS 向日葵的絨氈層細胞 PCD 有提早的現象，並在 PCD 的特徵 (例如：細胞凝聚及細胞核 DNA 片段化) 出現前，粒線體會先釋放細胞色素 c (cytochrome c) 至絨氈層的胞質溶膠 (cytosol) 中 (Balk and Leaver, 2001)。CMS 基因多被認為存在於粒線體基因體中，高粱 A₃ 型粒線體的 *orf107* 基因亦為其中一例 (Schnable and Wise, 1998)；另有研究推測溫度誘

導粒線體數量的改變，進而影響高粱雄不稔的穩定性(王等，2000)。受惠於分子生物學的進步，學者們開始找出可能的高粱稔性調控基因，並利用分子標誌進行鑑別及稔性恢復基因(*rf*)的輔助選種，然而目前還不明瞭雄不稔及稔性恢復的表現與基因之間的鏈結與作用機制，以及粒線體如何誘導組織專一性 PCD，尚停留在觀察細胞層次的變化，期待本篇綜述可做為未來更進一步研究的參考基礎。

引用文獻

- 王平、叢玲、王春語、朱振興、A. A. Kumar、張麗霞、陸曉春。2019。高粱 A1 型細胞質雄性不育系與保持系線粒體基因組分析比較。生物技術通報 35(5): 42-47。
- 王俐、祁新紅、劉根齊、章銀梅、陳建南。2000。高粱雄性不育系熱激前後線粒體的變化與育性的關係。遺傳學報 27(9): 834-838。
- 宋濟民、陳宗禮。1995。溫度對高粱花粉活力與授粉的影響。雜糧作物生產技術改進研討會專刊: 193-202。
- Bailey-Serres, J., L. K. Dixon, A. D. Liddell, and C. J. Leaver. 1986a. Nuclear-mitochondrial interactions in cytoplasmic male-sterile sorghum. *Theor. Appl. Genet.* 73(2): 252-260.
- Bailey-Serres, J., D. K. Hanson, T. D. Fox, and C. J. Leaver. 1986b. Mitochondrial genome rearrangement leads to extension and relocation of the cytochrome c oxidase subunit I gene in sorghum. *Cell* 47(4): 567-576.
- Balk, J. and C. J. Leaver. 2001. The PET1-CMS mitochondrial mutation in sunflower is associated with premature programmed cell death and cytochrome c release. *Plant Cell* 13: 1803-1818.
- Barkan, A. and I. Small. 2014. Pentatricopeptide repeat proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65(1): 415-442.
- Barnaud, A., G. Trigueros, D. McKey, and H. I. Joly. 2008. High outcrossing rates in fields with mixed sorghum landraces: how are landraces maintained? *Heredity* 101(5): 445-452.
- Chen, Z., S. Muthukrishnan, G. H. Liang, K. F. Schertz, and G. E. Hart. 1993. A

- chloroplast DNA deletion located in RNA polymerase gene *rpoC2* in CMS lines of sorghum. *Mol. Gen. Genet.* 236(2–3): 251-259.
- Chen, Z., K. F. Schertz, J. E. Mullet, A. DuBell, and G. E. Hart. 1995. Characterization and expression of *rpoC2* in CMS and fertile lines of sorghum. *Plant Mol. Biol.* 28(5): 799-809.
- Dahan, J. and H. Mireau. 2013. The *Rf* and *Rf*-like PPR in higher plants, a fast-evolving subclass of PPR genes. *RNA Biol.* 10(9): 1469-1476.
- Devi, D. R. and U. R. Murthy. 1993. Genotype environment interaction in tapetal development A2 based sorghum genotypes. *Sorghum Newsl.* 34: 41.
- FAO. 2021. FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (accessed 13 Apr 2021).
- Gao, J., B. Xia, F. Luo, S. Sun, Z. Pei, Z. Gui, Q. Yuan, and X. Li. 2013. Marker-assisted breeding for *rf1*, a nuclear gene controlling A1 CMS in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Euphytica* 193(3): 383-390.
- Jordan, D. R., R. R. Klein, K. G. Sakrewski, R. G. Henzell, P. E. Klein, and E. S. Mace. 2011. Mapping and characterization of *Rf5*: a new gene conditioning pollen fertility restoration in A1 and A2 cytoplasm in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Theor. Appl. Genet.* 123(3): 383-396.
- Jordan, D. R., E. S. Mace, R. G. Henzell, P. E. Klein, and R. R. Klein. 2010. Molecular mapping and candidate gene identification of the *Rf2* gene for pollen fertility restoration in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theor. Appl. Genet.* 120(7): 1279-1287.
- Klein, R. R., P. E. Klein, A. K. Chhabra, J. Dong, S. Pammi, K. L. Childs, J. E. Mullet, W. L. Rooney, and K. F. Schertz. 2001. Molecular mapping of the *rf1* gene for pollen fertility restoration in sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Theor. Appl. Genet.* 102(8): 1206-1212.
- Klein, R. R., P. E. Klein, J. E. Mullet, P. Minx, W. L. Rooney, and K. F. Schertz. 2005. Fertility restorer locus *Rf1* of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) encodes a pentatricopeptide repeat protein not present in the colinear region of rice chromosome 12. *Theor. Appl. Genet.* 111(6): 994-1012.

- Ku, S., H. Yoon, H. S. Suh, and Y. Y. Chung. 2003. Male-sterility of thermosensitive genic male-sterile rice is associated with premature programmed cell death of the tapetum. *Planta* 217(4): 559-565.
- Madugula, P., A. G. Uttam, V. A. Tonapi, and M. Ragimasalawada. 2018. Fine mapping of *Rf2*, a major locus controlling pollen fertility restoration in sorghum A₁ cytoplasm, encodes a PPR gene and its validation through expression analysis. *Plant Breed.* 137(2): 148-161.
- OGTR. 2017. The Biology of *Sorghum bicolor* (L.) Moench subsp. *bicolor* (Sorghum). Office of the Gene Technology Regulator, Department of Health, Australian Government.
- Praveen, M., G. Anurag Uttam, N. Suneetha, A. Umakanth, J. V. Patil, and R. Madhusudhana. 2015. Inheritance and molecular mapping of *Rf6* locus with pollen fertility restoration ability on A1 and A2 cytoplasm in sorghum. *Plant Sci.* 238: 73-80.
- Pring, D. R., W. Chen, H. V. Tang, W. Howad, and F. Kempken. 1998. Interaction of mitochondrial RNA editing and nucleolytic processing in the restoration of male fertility in sorghum. *Curr. Genet.* 33(6): 429-436.
- Pring, D. R., H. Van Tang, and K. F. Schertz. 1995. Cytoplasmic male sterility and organelle DNAs of sorghum. *Mol. Biol. Plant Mitochondria*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301527059> (accessed 10 June 2019).
- Reddy, B.V. S., S. Ramesh, and R. Ortiz. 2005. Genetic and cytoplasmic-nuclear male sterility in sorghum. *Plant Breeding Reviews*. John Wiley & Sons, Ltd. p. 139-172
- Reddy, B.V. S. and J. W. Stenhouse. 1994. Sorghum improvement for the semi-arid tropic region: past, current and future research thrusts in Asia. *P. K. V. Res. J.* 18: 155-170.
- Sandeep, N. and B. Biradar. 2020. Identification of stable restorers for diverse cytoplasmic source in Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.]. *Indian J Genet* 80(2): 218-220.
- Schertz, K. F. 1994. Male-sterility in sorghum: Its characteristics and importance. p. 35-37. In: J. R. Witcombe and R. R. Duncan (eds.), *Use of Molecular Markers in*

- Sorghum and Pearl Millet Breeding for Developing Countries. Proc. Int. Conf. Genet. Improvement Overseas Development Administration (ODA), Plant Sci. Res. Conf., 29 March-1 April 1993. Norwich, UK, ODA, UK.
- Schertz, K. F., A. Sotomayor-Rios, and S. Torracco-Cardona. 1989. Cytoplasmic-nuclear male-sterility opportunities in breeding and genetics. Proc. Grain Sorghum Res. & Util. Conference 16. p. 175-186
- Schnable, P. S. and R. P. Wise. 1998. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. Trends Plant Sci. 30(5): 175-180.
- Senthil, N., P. Ramasamy, and A. K. F. Khan. 1998. Fertility restoration and heterosis involving different cytoplasms in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) hybrids. J. Genet. Breed. 52: 339-342.
- Singh, S. P. and H. H. Hadley. 1961. Pollen abortion in cytoplasmic male sterile sorghum. Crop Sci. 1(6): 430-432.
- Stephens, J. C. and R. F. Holland. 1954. Cytoplasmic male-sterility for hybrid sorghum seed production. Agron. J. 46(1): 20-23.
- Tang, H. V., W. Chen, and D. R. Pring. 1999. Mitochondrial *orf107* transcription, editing, and nucleolytic cleavage conferred by the gene *Rf3* are expressed in sorghum pollen. Sex. Plant Reprod. 12(1): 53-59.
- Tang, H. V., J. F. Pedersen, C. D. Chase, and D. R. Pring. 2007. Fertility restoration of the sorghum A3 male-sterile cytoplasm through a sporophytic mechanism derived from sudangrass. Crop Sci. 47(3): 943-950.
- Tang, H. V. and D. R. Pring. 2003. Conversion of fertility restoration of the sorghum IS1112C (A3) male-sterile cytoplasm from two genes to one gene. Crop Sci. 43(5): 1747-1753.
- Tang, H. V., D. R. Pring, L. C. Shaw, R. A. Salazar, F. R. Muza, B. Yan, and K. F. Schertz. 1996. Transcript processing internal to a mitochondrial open reading frame is correlated with fertility restoration in male-sterile sorghum. Plant J. 10(1): 123-133.
- Tarumoto, I., E. Ishii, M. Yanase, and M. Fujimori. 2008. The phenotypic fluctuation factor for male sterility in A1 Male-Sterile Lines of Sorghum (*Sorghum bicolor*

- Moench). Sci. Rep. Grad. Sch. Life. & Envi. Sci. Osaka Pref. Univ. 59:1-6.
- Warmke, H. E. and S. L. J. Lee. 1977. Mitochondrial degeneration in Texas cytoplasmic male-sterile corn anthers. J. Hered. 68(4): 213-222.
- Warmke, H. E. and S. L. J. Lee. 1978. Pollen abortion in T cytoplasmic male-sterile corn (*Zea mays*): a suggested mechanism. Science 200(4341): 561-563.
- Warmke, H. E. and M. A. Overman. 1972. Cytoplasmic male sterility in sorghum I. Gallose behavior in fertile and sterile anthers. J. Hered. 63(3): 103-108.
- Wu, H. and A. Y. Cheung. 2000. Programmed cell death in plant reproduction. Plant Mol. Biol. 44: 267-281.
- Xu, G. W., Y. X. Cui, K. F. Schertz, and G. E. Hart. 1995. Isolation of mitochondrial DNA sequences that distinguish male-sterility-inducing cytoplasm in *Sorghum bicolor*. Theor. Appl. Genet. 90: 1180-1187.

Progress of Researches on Cytoplasmic-Genetic Male Sterility in Sorghum

Mei-Ling Kung¹⁾、Hui-Ju Chang¹⁾

¹⁾ Assistant Researcher (Corresponding Author), Associate Researcher. Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, TSIPS. Taiwan, R.O.C.

TEL: 886-4-25825535

FAX: 886-4-25814687

E-mail: melinda@tss.gov.tw

Summary: Male sterility is exploited for hybrid seed production in sorghum breeding programs worldwide. A1 (milo) cytoplasm is the primary cytoplasmic-genetic male sterile (CMS) system among different types of male sterile cytoplasm for commercial varieties because of its better stability and more restorer candidates. Cytoplasmic RFLP markers and markers derived from sequence differences of *cox I* and *rpoC2* can be used to distinguish some CMS sources. Mitochondrial open reading frame *orf107* is considered to be associated with A3 male sterile type. The stability of sorghum male sterility and fertility is mainly affected by temperature. When the temperature is lower than 10~15°C, male sterile would be induced in some fertile lines, and heat treatment could restore the fertility of some CMS lines and change the amount of mitochondria. Since the tapetum of male sterile sorghum maintained intact during pollen development, so the abnormal programmed cell death of tapetum might play a key role for male sterility. Sorghum fertility restorer genes, *Rf1*~*Rf5*, have been identified and suggested to encode pentatricopeptide repeats (PPR) protein gene family. Marker assisted selection (MAS) by SSR for recessive *rf1* gene correlating with A1 cytoplasm has been reported.

Key words: sorghum (*Sorghum bicolor*), male sterile, tapetum, fertility restoration gene (*Rf*)