

現代的高粱去雄方法之介紹¹

施俞安²

摘 要

高粱(*Sorghum bicolor* L. Moench)為雌雄同株同花的常異交作物。為提高高粱雜交工作執行效率，須確實去雄，目前高粱去雄手法主要有三種，包含手工操作、遺傳型雄不稔系統及化學藥劑處理型。手工操作去雄處理包含使用器具移除花藥及塑膠袋套袋創造人工高濕微氣候抑制花藥開裂，以及溫湯法藉由42-48°C水浴破壞花粉活性。高粱的遺傳型雄不稔系統主要採用細胞核質共同調控雄不稔系統，成因多為細胞核與粒線體間的協同作用出現障礙而抑制雄配子發育，目前可取得A₁、A₂、A₃、A₄及9E型，主流商業雜交種為A₁型。另有藥劑處理法透過阻斷雄配子發育誘導出雄不稔性，已知可行藥劑有三個，包含trifluoromethanesulfonamide (TFMSA)、ethrel及ethyl 4-fluorooxanilate (E4FO)。有關高粱去雄的文獻回顧僅討論手工操作去雄與細胞核質雄不稔系統的傳統遺傳分類，本篇進一步統整細胞核質雄不稔系統分子層次的研究現況，以及近年新開發誘導雄不稔性的可行藥劑處理。

關鍵字：高粱、去雄、細胞核質共同調控雄不稔系統、化學藥劑處理法

前 言

高粱(*Sorghum bicolor*)屬光合作用 C₄型植物，具有低需水性與低資源投入需求的優勢，尤其在降水不穩定或長時間高溫逆境地區的產量穩定度高於玉米，強環境適應性的高粱在氣候變遷的壓力下受到重視^(2,12,42)。除了環境適應性優勢，高粱更具有 4F2B 廣應用性，可作為糧食(Food)、飼料(Feed)、牧草(Forage)、能源(Fuel)、飲料(Beverage)及掃帚(Broom)⁽¹³⁾。更值得一提的是高粱種實之麩皮層具有高酚類化合物，如 3-脫氧花青素(3-deoxyanthocyanidin)和縮合單寧(condensed tannins)等酚類化合物質，其高抗氧化能力可減少攝食者身體發炎反應，進而有益健康^(5,51,52)。

高粱穗具備兩性花，雖然能以自交方式繁衍後代並留種，目前為利用雜交優勢增進產量與環境適應性，朝向一代雜交種(F₁)育種，然而相較於同株異花的近親玉米僅需去除上部雄穗即能完成去雄工作⁽²⁶⁾，雌雄同花的高粱在執行人工去雄較為費工。

在作物改良工作中，育種者首先需要創造變異族群，再透過量測與評估，篩選並保留具有綜合性狀表現優良的個體。創造變異族群的其一手法為雜交，將個體透過去雄、授粉雜交

¹行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 1038 號。

²行政院農業委員會臺中區農業改良場技佐。

及後續之自交，便能創造分離族群。然而育種者需了解作物花器特性，才能明確知道如何控制去雄與雜交方法，以有效產出遺傳分離族群，進一步評估及選拔有興趣的性狀與基因型。

依據植物授粉特性的差異，其自然雜交率的高低差異，分為自交型(小於 5%)、常異交型(5%以上但小於 50%)與異交型(50%以上)。其中可行自花授粉的植物具備兩性花，亦即同株同花內含有完整的雌蕊與雄蕊，需在雜交前執行精準去雄，自其他植株導入花粉進行授粉才能完成雜交工作⁽¹⁴⁾。去雄工作的有效性為重要關鍵，以確保後續雜交成功率與精準度。現階段可行自花授粉植物的主流去雄方法有四大類型，包含手工操作去雄(mechanical emasculation)、遺傳型雄不稔系統(genetic male sterility system)、環境敏感型雄不稔系統(nuclear-controlled environment-sensitive genic male sterility)，以及化學藥劑處理型(chemical emasculation)^(4,6,14,20,26)。

雌雄同花的高粱被歸類於常異交型作物，根據基因型與開花期前後環境條件的差異，而有 0-50%的天然雜交比率^(14,32,44)。高粱雌雄同花的構造使得手工操作去雄較耗時而不利雜交種的大量製種，且手工操作去雄需高度仰賴操作人員經驗，才能穩定有效去雄又得以順利雜交結實，人員更動時易出現去雄成效不穩定的困境。為解決高粱手工去雄的多項瓶頸，仍需針對雄不稔系統育種工作持續開發，並針對藥劑處理誘導雄不稔進行研究與評估。

因此本文綜整高粱雜交育種工作及商用雜交種生產上，常用之手工操作、遺傳型及化學藥劑處理型去雄方法，以利未來育種工作執行。

文獻探討

一、高粱穗結構與開花特性

在執行人工雜交工作前，須先了解作物開花授粉特性，才能有效進行去雄與雜交工作，以獲得理想雜交組合的種子⁽⁴⁴⁾，因此本文先針對高粱穗與其開花授粉特性進行簡述。高粱的穗為複總狀花序(panicle)，最小單位為小穗(spikelet)，多為二個小穗為一組，包含著無柄小穗(sessile spikelet)與有柄小穗(pedicelled spikelet)。無柄小穗屬於具結實功能的小穗，具有兩花，僅一花具結實功能性，同時具備雄蕊與雌蕊。通常有柄小穗多不具結實功能，依品系差異有的僅具雄蕊，有的則為無性^(3,45)，目前另有 *msd1* 突變種具有結實功能⁽⁸⁾。

抽穗後自穗頂由上往下依序開花，依據環境與品種差異，高粱穗開花程序約 4 至 9 天完成^(10,11,44,50)，在較冷涼環境下部分大穗型品種(系)開花期則延長至 15 天⁽⁴⁴⁾。合適環境下開花過程為具結實功能之無柄小穗柱頭(stigma)顯露出，雄蕊的花絲(filament)伸長以將花藥(anther)頂出而懸垂於外，但柱頭與花藥的外露同步與否及順序，在品種間存在差異⁽⁴⁴⁾。

當花藥乾燥後便能釋出內部花粉以授粉，且大多在花藥因花絲推出即將懸垂在外之時，就已乾燥而可釋放花粉⁽⁴⁴⁾。絕大多數花粉會對同穗柱頭進行授粉，但仍會因風吹傳播花粉與高粱無柄小穗柱頭外露的作物特性，易有自然雜交的現象產生。再因不同品種間開花時柱頭與雄蕊外露時間差，而有 0%-50%的雜交比率^(14,32,44)。

二、手工操作去雄(mechanical emasculation)

(一)人工去雄

人工去雄為手工操作去雄方法之一，針對位於已開花之小花往下約 3 公分處，隔日即將開花 (anthesis) 之小穗進行處理。操作選在花藥尚未散發花粉的下午時段，將已開小穗先行剪除，並同時剪除不易人員操作去雄工作的小穗⁽³⁷⁾，因其在操作過程中易傷及器官，導致無法成功獲取種子⁽¹⁵⁾。建議一高粱穗僅保留約 25 至 50 小穗數，確保後續套袋的每一小穗皆已完整去除花藥⁽¹⁵⁾。修剪後須清潔器具與高粱穗，更可利用酒精快速清潔去雄器具，以確保無任何花粉沾染，及避免交叉汙染^(15,37)。以不傷害雌蕊前提下，移除即將開花的小穗中之三對花藥，去除花藥過程應避免其開裂，以減少花粉汙染，確保完全去雄⁽³⁷⁾。套上紙袋待後續授粉雜交工作，且不建議利用塑膠袋進行套袋⁽¹⁵⁾。

(二)塑膠袋去雄法

利用塑膠袋緊套高粱穗，藉由人造高濕度抑制即將開花之花藥開裂。在母本穗已始花 2.5 至 5 公分時，部分保留即將開花的 3 至 5 公分，剪除頂部已開花與底部未開花之部分小穗⁽³⁷⁾。利用塑膠袋套袋 2 至 3 天，即是保留區段小穗的開花期皆套在塑膠袋中，長時間密封在塑膠袋所創造出高濕度的微氣候，進而抑制花藥的正常開裂，便能抑制自花授粉。然而此方法未移除花藥，且無法確保完全抑制花藥開裂，所得種子可能混雜著成功雜交的一代雜交種種子和母本自交種子^(15,37)，雜交成功率依執行條件而有 40%至 90%差異^(15,39)。

(三)溫湯法

其核心概念為抑制花粉功能的溫度稍低於抑制子房功能的溫度^(37,54)，因此將小花進行在特定溫度的溫湯下浸泡一定時間，能有效抑制花粉的功能性，進而達到去雄效果。將具防水性的袋子綁套在穗頸(peduncle)上，使高粱穗能在 42 至 48°C 水浴 10 分鐘，大多數花粉被破壞卻又不影響子房受精功能^(37,43)。

三、遺傳型雄不稔系統(genetic male sterility system)

雄不稔性狀在植物界廣泛於超過 610 個物種中被發現⁽⁶⁾。而在植物的雄不稔廣義上來說，是因遺傳性或環境因素所導致的生理現象，所出現的現象包含：(1)無法正常運行花藥開裂(dehiscent anthers)、(2)無法產出具有功能性的花粉(functional pollens)、(3)無法獲得有效雄配子(viable male gametes)⁽⁶⁾。導致雄不稔性的機制很多，雄不稔性的遺傳型調控機制可分為兩大類別：(1)細胞核調控雄不稔系統(genetic male sterility system)、(2)細胞核質共同調控雄不稔系統(cytoplasmic genic male sterility system, CMS)。商用高粱雜交種種子育種研究及生產，目前以細胞核質共同調控雄不稔系統為主流。

細胞核質共同調控雄不稔系統多是細胞核與粒線體之間的協同作用出現異常所導致的生理障礙現象⁽³⁸⁾，粒線體是含有自體染色體的半自動化胞器，需有細胞核的功能協同才能使生理功能完整運作⁽⁶⁾。除了需細胞核轉錄轉譯的蛋白質進入粒線體參與工作，粒線體自體染色體基因轉錄轉譯、

核糖核酸修飾、蛋白質組裝等過程亦受到細胞核中基因的調控。

由於細胞核質共同調控雄不稔性的主因，為其粒線體(S)與正常運作粒線體(N)的部分序列有所突變⁽²⁰⁾，在粒線體基因體序列具差異下，核內調控基因型如未能相對應協調，最終將造成雄配子生育功能受阻。利用細胞核質共同調控雄不稔系統製作一代雜交種的應用屬三系雜交系統，包含雄不稔系(CMS line)、維持系(maintainer line)與恢復系(restorer line)⁽⁶⁾。雄不稔系(S; rfrf)含有導致雄不稔性的基因型(CMS-causing gene)，並且缺乏可協助恢復稔性的功能性細胞核型(functional nuclear restorer of fertility)，致使雄配子不具功能，因此雄不稔系作為雜交母本。雄不稔系的維持則須倚賴維持系，維持系(N; rfrf)同樣缺乏可協助恢復稔性的功能細胞核型，但具有正常細胞質功能，因而能正常提供花粉，與雄不稔系雜交後不會改變雜交後代的核內基因型。恢復系則在核內有可恢復稔性的基因型(Rf)，與雄不稔系雜交後，一代雜交種因恢復系所提供之 Rf 基因便能成功產出功能性雄配子⁽⁶⁾。

在高粱發現的第一組細胞核質共同調控雄不稔系統是 A₁ 型，於 1954 年在 Double Dwarf Yellow Sonner Milo x Texas Blackhull kafir 的 F₂ 族群中找尋到⁽³⁶⁾，因而育成 Combine kafir (CK 60A&B)。除此 CK 60 的雄不稔品系，而最被廣泛使用的也正是 A₁ 型⁽²⁴⁾。雄不稔品系再依據生育能力恢復的組合性(fertility restoration patterns)進行區分與分類，即是不同維持系(maintainer)與恢復系(restorer)的雜交效果進行區分，目前較能取得的類別為 A₁、A₂、A₃、A₄ 及 9E^(23,24,36,38)。其中研究較多的部分以 A₁ 至 A₄ 型的雄不稔系統進行試交，其結果為 TAM 428B (A₂) 只能使 A₁ cytoplasm 的 F₁ 恢復稔性，IS 84B (A₄-Maldandi) 可恢復 A₁ 及 A₂ cytoplasm 的稔性，IS 5767R(A₄-Maldandi) 除了 A₃ 外皆可使 cytoplasm 恢復稔性，CK80B(A₁) 可以讓所有種類的雄不稔系統恢復稔性^(24,36)。

恢復系核內有稔性恢復基因(fertility restorer genes; Rf genes)，而能使與雄不稔系雜交後所得一代雜交種恢復雄配子稔性。許多作物之 Rf 基因已被確認為 pentatricopeptide repeat (PPR) 蛋白質⁽²¹⁾。此類 PPR 蛋白質具有串聯重複性的 35 個胺基酸模組(motif)為一大特色，功能上多為辨識特定序列 ssRNA 結合蛋白(ssRNA binding protein)^(7,31,41,53)，PPR 蛋白進入粒線體或葉綠體內，辨識序列後影響的胞器基因運作，包含(1)基因表現、(2)RNA 穩定性、(3)RNA 的 5'與 3'端剪切、(4)內含子(intron) 剪切、(5)RNA 修飾、(6)mRNA 轉譯^(7,40,53)。如 PPR 蛋白功能未正常執行，嚴重將造成胞器損耗最終導致植物器官之生理障礙，如植株生長停滯、種子發育受阻及雄不稔性等⁽²⁷⁾。

高粱已知核內參與雄配子稔性之稔性恢復基因包含：*SbRf1*、*SbRf2*、*SbRf3*、*SbRf4*、*SbRf5* 及 *SbRf6*^(17,21,33,34) (表一)。稔性恢復基因相關研究主要集中於 A₁、A₂ 及 A₃ CMS 型，並以較廣泛使用之 A₁ CMS 型有較多研究，目前已知有 *SbRf1*、*SbRf2*、*SbRf5* 及 *SbRf6* 參與其中^(16,17,21,22,29,33)。*SbRf1* 位於第 8 對染色體上的 SORBI_3008G147400^(21,22)，*SbRf2* 位於第 2 對染色體上的 SORBI_3002G057050^(16,21,29)，*SbRf6* 位於第 4 對染色體上的 SORBI_3004G004100⁽³³⁾，而 *SbRf5* 位於第 5 對染色體上，基於 QTL 分析顯示可能位於 2,433,620 至 2,573,735，此段含有 7 個可能的 PPR 基因^(17,21)。其中 *SbRf5* 與 *SbRf6* 則也參與 A₂ CMS 型的稔性恢復調控^(17,33)。A₃ CMS 型透過遺傳稔性表現型比

例，推斷為受兩基因調控，命名為 *SbRf3* 與 *SbRf4*^(34,47,48)，雖尚未被找出在核內位點，

但已了解粒線體中 *orf107* 的修飾與否，影響細胞核質共同調控雄不稔系統的生理機制(6,34,47,48)。

表一、高粱細胞核質共同調控雄不稔系統(CMS)之稔性恢復基因(*Rf*)

Table 1. Characterized *Rf* genes of CMS lines in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench).

Rf gene	Chromosome	Genome location	Gene locus tag	CMS type	Mitochondrial target	Ref
<i>SbRf1</i>	Chr8	58099298... 58102691 Reverse	SORBI_ 3008G147400	A ₁	Unknown	(20,21,22)
<i>SbRf2</i>	Chr2	5546272... 5550944 Forward	SORBI_ 3002G057050	A ₁	Unknown	(16,20,21,29)
<i>SbRf3</i>	Unknown	Unknown	Unknown	A ₃	<i>orf107</i>	(6,34,46,48)
<i>SbRf4</i>	Unknown	Unknown	Unknown	A ₃	<i>orf107</i>	(6,20,34,46,48)
<i>SbRf5</i>	Chr5	Estimated position : 2433620...2573735	Unknown	A ₁ 、 A ₂	Unknown	(17,21)
<i>SbRf6</i>	Chr4	354966... 357858 Forward	SORBI_ 3004G004100	A ₁ 、 A ₂	Unknown	(33)

四、化學藥劑處理型(chemical emasculation)

除了基因型調控的育種手法外，另有化學藥劑誘導雄不稔的選擇，來進行高粱去雄以利後續雜交程序，這類藥劑被稱為化學雜交劑(chemical-hybridizing agents)或去雄配子劑(male gametocide)。整體操作流程為在開花前利用施灑人工合成藥劑，以選擇性破壞雄配子發育，最終抑制功能性^(14,54)。合適的化學雜交劑應包含五大條件：能完全破壞雄蕊稔性、不影響雌蕊稔性功能、不影響母株植株生長、種子發育數量不受影響、不影響子代生育功能⁽¹⁴⁾。化學藥劑處理的核心要點在特定高粱穗發育時間點，施用特定劑量的化學雜交劑，以選擇性完全破壞雄配子的功能^(14,35,54)。

目前已有數篇研究應用化學雜交劑於高粱誘導雄不稔性，去雄效果較佳的包含 trifluoromethanesulfonamide (TFMSA)、ethrel、ethyl 4-fluorooxanilate (E₄FO)，在特定生育時間點施灑特定藥劑量，以促進雄不稔性^(1,4,14,30,54)。根據 Hodnett 和 Rooney(2018)試驗結果顯示，TFMSA 在葉面總施用量至 40 mg 劑量未抑制雌蕊稔性的前提下，成功抑制雄配子稔性⁽¹⁴⁾。特定施用在劍葉出現前幾天為時間上須抓取的要點；劍葉出現之時，正為高粱穗中小孢子母細胞減數分裂的發育階段，也因此劍葉的出現，可作為小孢子母細胞進入減數分裂期重要的外觀指標^(4,9,19)。TFMSA 可能透過減少花藥中的脯胺酸(proline)含量，進而阻斷花粉發育，造成花粉失去功能性能誘導高粱與玉米的雄不稔性^(14,28)。且 TFMSA 是個常用於農用殺蟲劑與藥品的化學藥劑，對於傷害環境上也較無汙染疑慮⁽⁴⁾。如以小劑量的 TFMSA 在劍葉出現前 2 到 6 天施用，便能成功誘導高粱品種‘BTx623’

雄不稔，測試結果更顯示‘BTx623’(2 mg)可以較另一品種‘BTxArg-1’(30 mg)少劑量，便能達到雄不稔的誘導效果⁽¹⁴⁾，因此也推斷所需施用劑量多寡因基因型不同而有所差異。但採用低劑量需搭配精準施用時間點，相反的，高劑量的施用時間點有較寬鬆的要求⁽¹⁴⁾。另一團隊針對已應用在小麥及稻米等作物誘導雄不稔的 Ethrel 與 E4FO 測試^(1,54)，此研究團隊則是在始穗期(穗一半部分已突出劍葉)時施灑約 10 ml 藥劑於穗上，個別藥劑所需濃度為：Ethrel 需約 3 ml/L，E4FO 則須 2 mg/L，但此兩藥劑試驗中發現易有傷及雌蕊稔性之現象^(1,30,54)。同樣的藥劑進行處理仍會因品種與環境差異，未必有誘導出完全雄不稔的效果，研究推斷以不同品種間的穗長與穗型的差異，易影響阻斷雄稔性的效果^(4,14)。因此施用藥劑最低劑量須依不同基因型條件進行調整，才能確保完全雄不稔的誘導效果。根據 Hodnett 和 Rooney(2018)試驗結果顯示，如在劍葉出現前 30 天進行一次過量施用至 30 mg 以抑制雄配子發育，對於精準施用時間點的門檻會降低^(14,28)。

討 論

本文討論高粱常用去雄手法，包含手工操作去雄、細胞核質共同調控雄不稔系統及化學藥劑處理型。高粱穗自穗頂往下陸續開花之生長特性，因而能依據最後開花之小穗，判斷未來兩日即將開花之範圍⁽³⁷⁾，以利後續手工操作去雄的操作。常異交型高粱的多數品種(系)開花時具柱頭外露特性，使高粱極容易產生自然雜交現象，同時也利於人工授粉雜交。然而，兩性花的特性使其去雄工作較玉米困難，人工去雄操作為利用人力操作尖嘴器，則需高度倚賴操作人員之經驗，才能在不傷害雌蕊、不殘留花粉與自其他小穗汙染花粉的前提下完整去雄^(15,37)。塑膠袋去雄法利用雄蕊花藥需經乾燥，才能正常開裂釋放花粉的特性，以塑膠袋的密封環境，創造出抑制花藥開裂的高濕度人工微氣候；溫湯法則利用特定溫度溫水，不影響雌蕊下破壞花粉功能。塑膠袋去雄法及溫湯法操作較人工去雄簡易，而能較快速大量進行雜交工作，但去雄的穩定性低，皆無法確保完全抑制花粉散播，對於母本與一代雜交種性狀分別不明確或無任何分子標記可協助的雜交工作，則較不建議採用⁽³⁷⁾。

高粱雖多可自留種子，但為了達到最佳產量效益，多國育種工作專注於一代雜交種開發，利用雜交優勢以獲得最佳單位面積產值，且大量利用細胞核質共同調控雄不稔系統進行育種與雜交工作。全球高粱產業面上，利用 A₁ CMS 型最多，雖尚未有相關研究了解粒線體中參與雄不稔性之開放閱讀框(open reading frame)，但已有針對雄稔性恢復基因進行相關數量基因座定位(QTL mapping)，了解到 *SbRf1*、*SbRf2*、*SbRf5* 及 *SbRf6* 參與其中^(16,17,21,22,29,33)，也另有研究指出可能有另一個在第 3 對染色體上之微效(minor)稔性恢復基因⁽²¹⁾，部分稔性的性狀可能僅在特定環境下才有所呈現，造成在培育的數世代中皆不被發現而不受注重^(16,21)。然而，稔性若無法完全恢復，種子生產上可能無法達到最大生產效率⁽²¹⁾。也因此未來雄不稔系統的開發上，持續研究其他微效雄稔性恢復基因仍具重要性。*SbRf1*、*SbRf2*、*SbRf5* 及 *SbRf6* 目前被視為 A₁ CMS 型的主效雄稔性恢復基因，對於未來雄不稔親本與其維持親本的改良工作將是重要之育種調控目標⁽²⁵⁾。

目前全世界大量使用 A₁ CMS 型進行高粱商業雜交種子生產工作⁽²⁴⁾，有基因型單一化之疑慮。

以玉米為例，1950年代作為第一支用於大量生產雜交種子的 CMS-T (Texas)系統，免除人工去除上方雄穗，可更有效率地提升生產而被大量利用，但到1970年代在美國因大面積使用 CMS-T 系統的玉米一代雜交種，造成南方葉燒病(southern corn leaf blight)快速蔓延^(6,24,36)，凸顯出因大面積種植少數特定基因型或血緣相近品種，所造成的遺傳脆弱性(genetic vulnerability)。為了避免遺傳脆弱性的發生，仍應持續針對高粱不同 CMS 型進行研究，以期增進 A₁ CMS 型以外的可利用性並投入育種。

有關化學藥劑處理，已評估出 trifluoromethanesulfonamide (TFMSA)、ethrel 及 ethyl 4-fluorooxanilate (E4FO)操作之可行性，藥劑處理有效性會因品種與環境差異，而可能產生未完全誘導雄不稔的現象^(4,14)，施用藥劑量須依不同條件進行調整，才能確保完全雄不稔的誘導效果。如不以最低劑量為操作概念性，以 TFMSA 為例，藥劑處理時機點應在劍葉出現前 30 天進行一次施用 30 mg，以抑制雄配子發育過程的脯胺酸(proline)含量，進而阻斷花粉發育過程^(14,28)。

小規模雜交種製種生產上可採用手工操作去雄與化學藥劑處理，手工操作去雄仰賴大量具經驗的操作者，化學藥劑處理雖可概括性採用高劑量抑制雄配子發育，相對卻需耗費較高經費。因此即便開發細胞核質共同調控雄不稔系統時程較長，大規模雜交種製種生產仍相對有效率，僅需倚賴操作人員去尾去雜，等待自然田間授粉便能取得大量的一代雜交種種子。

結 論

如能有效運用去雄與後續雜交工作，便能利用雜交優勢(heterosis)來提升生產量與逆境耐受性，有文獻也指出雜交種能比其自交系可提升 15-50%的產量^(6,49)，利用雜交種可對全球糧食與飼料供給提供大量貢獻⁽²⁰⁾。綜觀各項去雄手法之操作困難度與有效性，小規模雜交種製種生產上可採用手工操作去雄與化學藥劑處理，手工操作去雄仰賴大量具經驗的操作者，化學藥劑處理雖可概括性採用高劑量抑制雄配子發育，相對卻需耗費較高經費。因此即便開發細胞核質共同調控雄不稔系統時程較長，大規模雜交種製種生產仍相對有效且經濟⁽⁴⁶⁾，僅需倚賴操作人員去尾去雜，等待自然田間授粉便能取得大量的一代雜交種種子。總體而論，可依據高粱雜交種製種的規模性決定採用何種去雄方法，以達最大效益。

參考文獻

1. Amelework, A., M. Laing and H. Shimelis. 2016. Evaluation of effective gametocides for selective induction of male sterility in sorghum. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 52(4): 163-170.
2. Assefa, Y., S. A. Staggenborg and V. P. V. Prasad. 2010. Grain sorghum water requirement and responses to drought stress: a review. *Crop Manag.* 9(1): 1-11.
3. AuBuchon-Elder, T., V. Coneva, D. M. Goad, L. M. Jenkins, Y. Yu, D. K. Allen and E. A. Kellogga. 2020. Sterile spikelets contribute to yield in sorghum and related grasses. *Plant Cell* 32(11): 3500-3518.

4. Boerman, N. A., K. B. Hlavinka, W. Zhu, A. R. Dabney, G. L. Hodnett and W. L. Rooney. 2019. Efficacy of the chemical trifluoromethanesulfonamide as a male gametocide in field-grown sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Euphytica* 215: 96.
5. Cardoso, L. D. M., S. S. Pinheiro, H. S. D. Martino and H. M. Pinheiro-Sant'Ana. 2017. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57(2): 372-390.
6. Chen, L. and Y. G. Liu. 2014. Male sterility and fertility restoration in crops. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65: 579-606.
7. 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.
8. Dampanaboina, L., Y. Jiao, J. Chen, N. Gladman, R. Chopra, G. Burow, C. Hayes, S. A Christensen, J. Burke, D. Ware and Z. Xin. 2014. Characterization of a multiseeded (*msd1*) mutant of sorghum for increasing grain yield. *Crop Sci.* 54: 2030-2037.
9. Dhaka, N. K. Krishnan, M. Kandpal, I. Vashisht, M. Pal, M. K. Sharma and R. Sharma. 2020. Transcriptional trajectories of anther development provide candidates for engineering male fertility in sorghum. *Sci. Rep.* 10(1): 1-16.
10. Gerik, T., B. Bean and R. Vanderlip. 2003. Sorghum Growth and Development. Agricultural Communications, The Texas A&M university system. p.1-7.
11. Grains research & development corporation. 2017. Section 4-plant growth and physiology. p.1-4. In: Sorghum Northern Region - GrowNotesTM.
12. Green, T. R., H. Kipka, O. David and G. S. McMaster. 2018. Where is the USA Corn Belt, and how is it changing? *Sci. Total Environ.* 618: 1613-1618.
13. Hao, H., Z. Li, C. Leng, C. Lu, H. Luo, Y. Liu, X. Wu, Z. Liu, L. Shang and H. Jing. 2021. Sorghum breeding in the genomic era: opportunities and challenges. *Theor. Appl. Genet.* 134(7): 1899-1924.
14. Hodnett, G. L. and W. L. Rooney. 2018. Male sterility induction of sorghum using chemical hybridizing agent TFMSA, trifluoromethanesulfonamide. *Can. J. Plant Sci.* 98: 1102-1108.
15. House, L. R. 1985. Emasculation by hand. p.96-102. A Guide to Sorghum Breeding-2nd edition. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. India.
16. 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.
17. Jordan, D. R., R. R. Klein, K. G. Sakreowski, 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.

18. Kante, M., H. F. W Rattunde, B. Nébié, E. Weltzien, B. I G Haussmann and W. L Leiser. 2018. QTL mapping and validation of fertility restoration in West African sorghum A₁ cytoplasm and identification of a potential causative mutation for *Rf*₂. *Theor. Appl. Genet.* 131(11): 2397-2412.
19. Kern, J. J. and R. E. Atkins. 1972. Free amino acid content of the anthers of male-sterile and fertile lines of grain sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Crop Sci.* 12(6): 835-839.
20. Kim, Y. J. and D. Zhang. 2018. Molecular control of male fertility for crop hybrid breeding. *Trends Plant Sci.* 23(1): 53-65.
21. Kiyosawa, A., J. Yonemaru, J. Kawahigashi and K. Goto. 2020. Analysis of quantitative trait loci for fertility restoration in seven F₂ populations derived from sorghum F₁ hybrids bred in Japan. *Breed. Sci.* 70(3): 379-386.
22. Klein, R. R., P. E. Klein, J. E. Mullet, P. Minx, W. L. Rooney and K. F. Schertz. 2005. Fertility restorer locus *Rf*₁ 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.
23. Kumar, A. A., B. V. S. Reddy, H. C. Sharma, C. T. Hash, P. S. Rao, B. Ramaiah and P. S. Reddy. 2011. Recent advances in sorghum genetic enhancement research at ICRISAT. *Am. J. Plant Sci.* 2: 589-600.
24. Kumar, A. A., B. VS Reddy and SL Kaul. 2008. Alternative cytoplasmic male sterility systems in sorghum and their utilization. p.132-144. In: *Sorghum improvement in the new millennium*. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).
25. Kumar, A. A., B. VS Reddy, P. S. Reddy and B. Ramaiah. 2008. Development of male-sterile lines in sorghum. p.72-78. In: *Sorghum improvement in the new millennium*. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).
26. Kyanam, A. N., G. L. Hodnett and W. L. Rooney. 2021. Analysis of effects of trifluoromethanesulfonamide in sorghum inbred lines and their derived hybrids. *Crop Sci.* 61(5): 1-9.
27. Li, X., M. Sun, S. Liu, Q. Teng, S. Li and Y. Jiang. 2021. Functions of PPR Proteins in Plant Growth and Development. *Int. J. Mol. Sci.* 22(20): 11274.
28. Loussaert, D. 2004. Trihalogenated methylsulfonamides as specific male gametocides. *Sex. Plant Reprod.* 16(6): 299-307.
29. Madugula, P., A. G. Uttam, V. A. Tonapi and M. Ragimasalawada. 2018. Fine mapping of *Rf*₂, 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.
30. Mangena, P., H. Shimelis and M. Laing. 2018. Preliminary investigation of the effect of ethyl 4'fluorooxanilate as a male gametocide of sweet stem sorghum. *Acta Agric. Scand. - B Soil Plant Sci.* 69(3): 268-274.

31. Miglani, G. S., M. Kaur and P. Manchanda. 2021. Pentatricopeptide repeat proteins: I. Involvement in RNA editing in plants. *J. Crop Improv.* 35(5): 605-653.
32. Pedersen, J. F., J. J. Toy and B. Johnson. 1998. Natural outcrossing of sorghum and sudangrass in the central great plains. *Crop Sci.* 38(4): 937-939.
33. Praveen, M., A. U. G, S. N, U. Av, J. V. Patil and M. R. 2015. Inheritance and molecular mapping of *Rf₆* locus with pollen fertility restoration ability on A₁ and A₂ cytoplasm in sorghum. *Plant Sci.* 238(2015): 73-80.
34. Pring, D. R., H. V. Tang, W. Howad and F. Kempken. 1999. A unique two-gene gametophytic male sterility system in sorghum involving a possible role of RNA editing in fertility restoration. *J. Hered.* 90(3): 386-393.
35. Razzaq, M. K., S. Rauf and N. Akhtar. 2015. Effect of various chemical hybridizing agents on sunflower (*Helianthus annuus*) seed production. *Seed Prod.* 37(1): 23-31.
36. Reddy, B. V. S., S. Ramesh and Rodomiro O. 2010. Genetic and cytoplasmic-nuclear male sterility in sorghum. *Plant Breed. Rev.* 25: 139-172.
37. Rooney, W. L. 2004. Sorghum improvement—integrating traditional and new technology to produce improved genotypes. *Adv. Agron.* 83: 37-109.
38. Sane, A. P., P. Nath and P. V. Sane. 1996. Cytoplasmic male sterility in sorghum: organization and expression of mitochondrial genes in Indian CMS cytoplasm. *J. Genet.* 75: 151-159.
39. Schertz, K. F. and L. E. Clark. 1967. Controlling dehiscence with plastic bags for hand crosses in sorghum. *Crop Sci.* 7: 540-542.
40. Schmitz-Linneweber, C. and I. Small. 2008. Pentatricopeptide repeat proteins: a socket set for organelle gene expression. *Trends Plant Sci.* 13(12): 663-670.
41. Small, I. D. and N. Peeters. 2000. The PPR motif – a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends Biochem. Sci.* 25(2): 45-47.
42. Staggenborg, S. A., K. C. Dhuyvetter and W. B. Gordon. 2008. Grain sorghum and corn comparisons: yield, economic, and environmental responses. *Agron. J.* 100(6): 1600-1604.
43. Stephens, J. C. and J. R. Quinby. 1933. Bulk emasculation of sorghum flowers. *Agron. J.* 25: 233-234.
44. Stephens, J. C. and J. R. Quinby. 1934. Anthesis, pollination, and fertilization in sorghum. *Jour. Agric. Res.* 49(2): 123-136.
45. Takanashi, H., M. Shichijo, L. Sakamoto, H. Kajiya-Kanegae, H. Iwata, W. Sakamoto and N. Tsutsumi. 2021. Genetic dissection of QTLs associated with spikelet-related traits and grain size in sorghum. *Sci. Reports* 11(1):9398.
46. 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.
47. 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: 53-59.
 48. Tang, H.V., R. Chang and D. R. Pring. 1998. Cosegregation of single genes associated with fertility restoration and transcript processing of sorghum mitochondrial *orf107* and *urf209*. *Genetics* 150(1): 383-391.
 49. Tester, M. and P. Langridge. 2010. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science* 327(5967): 818-822.
 50. Vanderlip, R. L. 1993. How a Sorghum Plant Develops. 1993. p.1-20. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service.
 51. Xiong, Y., P. Zhang, R. D. Warner and Z. Fang. 2019. 3-Deoxyanthocyanidin colorant: nature, health, synthesis, and food applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 18(5): 1533-1549.
 52. Xiong, Y., P. Zhang, R. D. Warner and Z. Fang. 2019. Sorghum grain: from genotype, nutrition, and phenolic profile to its health benefits and food applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 18(6): 2025-2046.
 53. Yagi, Y., M. Tachikawa, H. Noguchi, S. Satoh, J. Obokata and T. Nakamura. 2013. Pentatricopeptide repeat proteins involved in plant organellar RNA editing. *RNA Biol.* 10(9): 1419-1425.
 54. Yahaya, M. A., H. Shimelis, M. Laing, M. S. Mohammed and I. Mathew. 2020. Methodologies for hybridization in predominantly self-pollinating crops: a review. *J. Crop Improv.* 34: 268-289.

Introduction to Emasculation Methods of Sorghum¹

Yu-An Shih²

ABSTRACT

As a hermaphrodite plant, *Sorghum bicolor* mainly self-fertilizes. Therefore, the reliable emasculation procedure is essential for the precise hybridization. Overall, there are three types of emasculation methods, including mechanical emasculation, genetic male sterility system, and chemical emasculation. The mechanical method includes hand emasculation removing anthers in physical manner, plastic bag emasculation inhibiting the release of pollen with artificial humid microclimate, and hot water treatment killing pollen grains by heat. For the genetic method, cytoplasmic genic male sterility system (CMS) has been highly applied in the sorghum hybridization. The available CMS types are A₁, A₂, A₃, A₄ and 9E, and the A₁ type plays the major role in commercial hybrid seed production. Notably, chemical emasculation is a novel method interfering the anther development to induce male sterility. For sorghum, there are three effective chemicals including trifluoromethanesulfonamide (TFMSA), ethrel and ethyl 4-fluorooxanilate (E4FO). Until now, limited papers reviewed the technique of sorghum male sterility. Those mainly focus on the method of mechanical emasculation and classical methods to identify different types of CMS. In this review, the characterization of fertility restorer genes (*Rf* genes) in molecular level, and the effective chemicals to induce male sterility for sorghum are both summarized.

Key words: *Sorghum bicolor*, emasculation, cytoplasmic genic male sterility system (CMS), chemical emasculation

¹ Contribution No.1038 from Taichung DARES, COA.

² Associate Technician, Taichung DARES, COA.